



Lipiec 2022 r.

Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej zestawu *ipsogen*[®] JAK2 RGQ PCR Kit



Wersja 2



Do diagnostyki in vitro

Do użytku z aparatem Rotor-Gene[®] Q MDx 5plex HRM

Do użytku z zestawem *ipsogen*[®] JAK2 RGQ PCR Kit



0197



674623



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, NIEMCY



1124396PL

Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej

Identyfikacja wyrobu i informacje ogólne	
Nazwa lub nazwa handlowa, w tym numer modelu lub wersja	<i>ipsogen</i> [®] JAK2 RGQ PCR Kit
Producent (nazwa i adres)	QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 Hilden 40724 Niemcy
Podstawowy unikatowy identyfikator wyrobu (UDI-DI)	4053228RJAK2RGQ00000001RJ
Niepowtarzalny numer rejestracyjny (Single Registration Number, SRN) producenta, jeśli jest dostępny	DE-MF-000004949
Nomenklatura wyrobów medycznych	W01060299 — testy pod kątem nabytych zmian w genie lub chromosomie

Klasa wyrobu	Klasa C
Rok wprowadzenia wyrobu na rynek UE po raz pierwszy	Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (numer katalogowy 673623, wersja 1), spełniający wymagania dyrektywy UE 98/79/WE w sprawie wyrobów medycznych używanych do diagnozy in vitro oraz decyzji komisji 2010/227/UE, został wprowadzony na rynek UE po raz pierwszy w roku 2014.
Upoważniony przedstawiciel, jeśli dotyczy	Nie dotyczy
Jednostka notyfikowana i numer identyfikacyjny (Single Identification Number, SIN)	TUV Rheinland; numer jednostki notyfikowanej: 0197
Przeznaczenie wyrobu	
Przeznaczenie	Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit to ilościowe oznaczenie in vitro wykorzystujące reakcję PCR przeznaczone do wykrywania i ilościowego oznaczania mutacji JAK2 V617F/G1849T w genomowym DNA wyizolowanym z ludzkiej obwodowej krwi pełnej antykoagulowanej 2K-EDTA. Wyniki otrzymane przy użyciu zestawu <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit są przeznaczone do stosowania w przypadku pacjentów z nowotworem mieloproliferacyjnym (Myeloproliferative Neoplasm, MPN) jako dane uzupełniające do oceny przypadków, co do których istnieje podejrzenie występowania postaci MPN ujemnej względem chromosomu Filadelfia (Philadelphia, Ph) oraz do monitorowania choroby molekularnej. Wszelkie wyniki diagnostyczne należy interpretować w połączeniu z innymi obserwacjami z zakresu patologii klinicznej.

<p>Wskazania i populacje docelowe</p>	<p>Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit jest przeznaczony do oceny stanu pacjentów z nowotworem mieloproliferacyjnym (Myeloproliferative Neoplasm, MPN), co do których istnieje podejrzenie występowania postaci MPN ujemnej względem chromosomu Filadelfia (Philadelphia, Ph) oraz do monitorowania choroby molekularnej.</p>
<p>Przeciwwskazania i/lub ograniczenia</p>	<p>Ten zestaw jest przeznaczony do użytku profesjonalnego.</p> <p>Produkt może być używany wyłącznie przez profesjonalnych użytkowników odpowiednio przeszkolonych w zakresie technik biologii molekularnej i zaznajomionych z technologią wykorzystywaną w wyrobie. Procedurę użycia wyrobu należy wykonywać w laboratoriach biologii molekularnej.</p> <p>Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit jest przeznaczony do użytku wyłącznie z aparatem QIAGEN Rotor-Gene® Q MDx 5plex HRM oraz innymi zwalidowanymi komponentami używanymi podczas wykonywania procedury i wskazanymi w odpowiednich instrukcjach użycia. Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit nie jest wyrobem umożliwiającym wykonanie w pełni zautomatyzowanego oznaczenia. Analiza wykonywana przy jego użyciu jest jednak wspomagana przez dedykowane oprogramowanie do wykonania zautomatyzowanego oznaczenia ilościowego mutacji.</p> <p>Zestawu <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit należy używać zgodnie z instrukcjami zawartymi w dołączonej Instrukcji użycia.</p>

Należy zwracać uwagę na daty ważności wydrukowane na etykiecie opakowania i etykietach probówek. Nie używać przeterminowanych elementów.

Wszystkie odczynniki dostarczone w zestawie *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit są przeznaczone do stosowania wyłącznie z odczynnikiem z tego samego zestawu. Nieprzestrzeganie tej wytycznej może wpłynąć na skuteczność zestawu.

Zestaw *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit został zwalidowany wyłącznie pod kątem użycia z próbkami ludzkiej obwodowej krwi pełnej antykoagulowanej 2K-EDTA, pobranej od pacjentów z podejrzeniem lub rozpoznaniem nowotworu MPN.

Zestaw *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit został zwalidowany wyłącznie do stosowania z zestawem QIASymphony DNA DSP Mini Kit (nr kat. 937236) lub QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (nr kat. 61104).

Zestaw *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit został zwalidowany wyłącznie do stosowania z aparatami Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (do reakcji PCR) i QIASymphony SP (do przygotowania próbek).

Użycie tego produktu niezgodnie z przeznaczeniem i/lub wprowadzenie zmian w jego składnikach spowoduje zniesienie odpowiedzialności firmy QIAGEN.

Wszelkie wyniki diagnostyczne należy interpretować w połączeniu z innymi obserwacjami z zakresu patologii klinicznej. Brak mutacji JAK2 V617F/G1849T nie wyklucza obecności innych mutacji genu JAK2. W przypadku obecności dodatkowych mutacji zlokalizowanych w nukleotydach od 88504 do 88622 test może zgłaszać wyniki fałszywie negatywne.

	<p>Użytkownik jest odpowiedzialny za walidację skuteczności systemu pod kątem wszelkich procedur stosowanych w danym laboratorium, które nie są objęte badaniami skuteczności wykonanymi przez firmę QIAGEN.</p>
<p>Opis wyrobu</p>	
<p>Opis wyrobu</p>	<p>a) Ogólny opis wyrobu, w tym przeznaczenie wyrobu i jego docelowi użytkownicy;</p> <p>Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit to ilościowe oznaczenie in vitro wykorzystujące reakcję PCR przeznaczone do wykrywania i ilościowego oznaczania mutacji JAK2 V617F/G1849T w genomowym DNA wyizolowanym z ludzkiej obwodowej krwi pełnej antykoagulowanej 2K-EDTA.</p> <p>Wyniki otrzymane przy użyciu zestawu <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit są przeznaczone do stosowania w przypadku pacjentów z nowotworem mieloproliferacyjnym (Myeloproliferative Neoplasm, MPN) jako dane uzupełniające do oceny przypadków, co do których istnieje podejrzenie występowania postaci MPN ujemnej względem chromosomu Filadelfia (Philadelphia, Ph) oraz do monitorowania choroby molekularnej. Wszelkie wyniki diagnostyczne należy interpretować w połączeniu z innymi obserwacjami z zakresu patologii klinicznej.</p> <p>Ten zestaw jest przeznaczony do użytku profesjonalnego.</p> <p>Produkt może być używany wyłącznie przez profesjonalnych użytkowników odpowiednio przeszkolonych w zakresie technik biologii molekularnej i zaznajomionych z technologią wykorzystywaną w wyrobie. Procedurę użycia wyrobu należy wykonywać w laboratoriach biologii molekularnej.</p>

b) Opis zasady działania metody wykorzystywanej w oznaczeniu lub zasady działania aparatu;

W zestawie *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit wykorzystywana jest technologia qPCR oparta na hydrolizie oligonukleotydów w połączeniu z techniką wykrywania mutacji w układzie opornym na amplifikację (Amplification Refractory Mutation System, ARMS), która stanowi prostą metodę wykrywania dowolnej mutacji związanej ze zmianą pojedynczej zasady (nazywaną również polimorfizmem pojedynczego nukleotydu (Single Nucleotide Polymorphism, SNP)). Pierwotnie w łańcuchowej reakcji polimerazy wykorzystywane są startery „forward” i „reverse”, które hybrydują do swoistej sekwencji DNA lub sekwencji docelowej w celu jej zamplifikowania. Technika ARMS jest oparta na wykorzystaniu swoistych względem sekwencji starterów do reakcji PCR, które umożliwiają amplifikację badanego DNA, tylko wtedy gdy w próbce znajduje się docelowy allel. Zasada działania hydrolizy oligonukleotydów do reakcji qPCR opiera się na zawartości oligonukleotydów związanych z barwnikiem (nazywanych również sondami) w mieszaninie do reakcji qPCR. Sonda w postaci oligonukleotydu wyznakowanego barwnikiem reporterowym na końcu 5' i wygaszczem niezwiązanym z barwnikiem na końcu 3' (downstream) hybryduje do sekwencji docelowej w obrębie produktu reakcji PCR. W analizie qPCR z sondami hydrolitycznymi wykorzystywana jest aktywność egzonukleazy 5'→3' polimerazy DNA z bakterii *Thermus aquaticus* (polimeraza *Taq*). Jeśli sonda jest nienaruszona, bliskość barwnika reporterowego i wygaszcza powoduje wytlumienie fluorescencji barwnika reporterowego głównie poprzez przeniesienie energii typu Förstera. Podczas reakcji PCR, jeśli sekwencja docelowa jest obecna, startery „forward” i „reverse” swoiście hybrydują do sekwencji i otaczają sondę z dwóch stron. Polimeraza DNA, dzięki aktywności egzonukleazy 5'→3', rozcina sondę między barwnikiem reporterowym i wygaszczem, doprowadzając do emisji

fluorescencji barwnika reporterowego. Ten proces zachodzi podczas każdego cyklu i nie zakłóca gromadzenia produktu w sposób wykładniczy. Wzrost fluorescencji jest więc wprost proporcjonalny do amplifikacji sekwencji docelowej podczas reakcji PCR. W przypadku reakcji qPCR liczba cykli PCR wymaganych do wykrycia sygnału powyżej wartości progowej jest nazywana punktem przecięcia (Crossing Point, Cp) lub cyklem progowym (Cycle Threshold, Ct) i jest wprost proporcjonalna do ilości sekwencji docelowej obecnej na początku reakcji.

c) Uzasadnienie do zakwalifikowania produktu jako wyrobu oraz klasa ryzyka wyrobu (fragment dokumentu ze strategią regulacyjną);

Wyrób *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit to zestaw odczynników przeznaczonych do użycia z aparatem umożliwiającym wykonanie reakcji real-time PCR (aparat Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM firmy QIAGEN) do badania próbek pochodzenia ludzkiego w celu zapewnienia informacji dotyczących procesów lub stanów patologicznych (danych uzupełniających do oceny stanu pacjentów z MPN PH(-) oraz monitorowania odpowiedzi molekularnej wśród tych pacjentów). W związku z tym produkt jest zgodny z definicją wyrobu IVDMD podaną w rozporządzeniu IVDR. Mutacja JAK2 V617F jest częścią algorytmu diagnostycznego i może być również stosowana jako kontrolny biomarker nowotworów mieloproliferacyjnych (Myeloproliferative Neoplasms, MPN), takich jak czerwienica prawdziwa (Polycythemia Vera, PV), pierwotne zwłóknienie szpiku (Primary Myelofibrosis, PMF) oraz nadpłytkowość samoistna (Essential Thrombocythemia, ET). Z tego względu zgodnie z rozporządzeniem IVDR klasa ryzyka produktu to klasa C.

d) Opis komponentów wyrobu.

Zestaw *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit składa się z następujących komponentów:

Numer materiału	Nazwa/opis komponentu	Ilość na zestaw podana w liczbie próbek (objętość)
1073859	Mieszanka reakcyjna do allelu MT genu JAK2 Oligonukleotydy do detekcji allelu MT (zmutowanego) oraz kontrola wewnętrzna, bufor do reakcji PCR, MgCl ₂ , deoksynukleotydy (dNTP) <i>Wewnętrzna kontrola amplifikacji zawarta w mieszaninach reakcyjnych służy do monitorowania inhibicji reakcji qPCR i, w przypadku uzyskania wyniku negatywnego, wykluczenia niepowodzenia związanego z przebiegiem reakcji PCR jako jego przyczyny.</i>	1 (1010 µl)
1073856	Mieszanka reakcyjna do allelu WT genu JAK2 Oligonukleotydy do detekcji allelu WT (typu dzikiego) oraz kontrola wewnętrzna, bufor do reakcji PCR, MgCl ₂ , deoksynukleotydy (dNTP) <i>Wewnętrzna kontrola amplifikacji zawarta w mieszaninach reakcyjnych służy do monitorowania inhibicji reakcji qPCR i, w przypadku uzyskania wyniku negatywnego, wykluczenia niepowodzenia związanego z przebiegiem reakcji PCR jako jego przyczyny.</i>	1 (1010 µl)
1073892	<i>Polimeraza DNA Taq (HotStarTaq® 5 jednostek/µl)</i>	1 (85 µl)
1073865	Kontrola allelu WT genu JAK2 (allel typu dzikiego — 100%) (DNA uzyskany z linii komórkowej o obciążeniu allelem typu dzikiego na poziomie 100%, kontrola amplifikacji)	1 (33 µl)
1073862	Kontrola zmutowanego genu JAK2 (allel V617F — 100%) (DNA uzyskany z linii komórkowej o obciążeniu allelem V617F na poziomie 100%, kontrola amplifikacji)	1 (33 µl)

Ciąg dalszy tabeli na następnej stronie

Ciąg dalszy tabeli z poprzedniej strony

Numer materiału	Nazwa/opis komponentu	Ilość na zestaw podana w liczbie próbek (objętość)
Od 1095204.1 do .4 (zestaw wzorców ilościowych JAK2 WT: od QS1 do QS4)	1. wzorzec ilościowy allelu WT genu JAK2 (5 x 10 ¹ kopii allelu typu dzikiego/5 µl)	1 (20 µl)
	2. wzorzec ilościowy allelu WT genu JAK2 (5 x 10 ² kopii allelu typu dzikiego/5 µl)	1 (20 µl)
	3. wzorzec ilościowy allelu WT genu JAK2 (5 x 10 ³ kopii allelu typu dzikiego/5 µl)	1 (20 µl)
	4. wzorzec ilościowy allelu WT genu JAK2 (5 x 10 ⁴ kopii allelu typu dzikiego/5 µl)	1 (20 µl)
Od 1095205.1 do .4 (zestaw wzorców ilościowych JAK2 MT: od QS1 do QS4)	1. wzorzec ilościowy allelu MT genu JAK2 (5 x 10 ¹ kopii allelu V617F/5 µl)	1 (20 µl)
	2. wzorzec ilościowy allelu MT genu JAK2 (5 x 10 ² kopii allelu V617F/5 µl)	1 (20 µl)
	3. wzorzec ilościowy allelu MT genu JAK2 (5 x 10 ³ kopii allelu V617F/5 µl)	1 (20 µl)
	4. wzorzec ilościowy allelu MT genu JAK2 (5 x 10 ⁴ kopii allelu V617F/5 µl)	1 (20 µl)
1067627	Woda do stosowania jako kontrola bez matrycy (No Template Control, NTC) (woda wolna od nukleaz)	1 (1,9 ml)
1073894	Bufor TE (Tris EDTA) do rozcieńczania próbek	1 (1,9 ml)

Wzorce ilościowe allelu MT genu JAK2 (od QS1 do QS4) to seryjne rozcieńczenia plazmidów niosących sekwencję allelu V617F.

Wzorce ilościowe allelu WT genu JAK2 (od QS1 do QS4) to seryjne rozcieńczenia plazmidów niosących sekwencję allelu WT.

e) Opis materiałów do pobierania i transportowania próbek dostarczonych z wyrobem;

Z niniejszym wyrobem nie są dostarczane żadne materiały do pobierania i transportowania próbek.

f) W przypadku aparatów do oznaczeń zautomatyzowanych: opis odpowiednich parametrów oznaczenia lub dedykowanych oznaczeń;

Zestaw *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit nie jest wyrobem umożliwiającym wykonanie w pełni zautomatyzowanego oznaczenia. Analiza wykonywana przy użyciu zestawu jest jednak wspomagana przez dedykowany pakiet oprogramowania.

g) W przypadku oznaczeń zautomatyzowanych: opis odpowiednich parametrów aparatu lub dedykowanych aparatów;

Zestaw *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit nie jest wyrobem umożliwiającym wykonanie w pełni zautomatyzowanego oznaczenia. Analiza wykonywana przy użyciu zestawu jest jednak wspomagana przez dedykowany pakiet oprogramowania.

h) Opis jakiegokolwiek oprogramowania używanego z wyrobem;

Zestaw *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit jest przeznaczony do użytku wyłącznie z aparatem QIAGEN Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM oraz innymi zwalidowanymi komponentami używanymi podczas wykonywania procedury i wskazanymi w odpowiednich instrukcjach użycia. Zestaw *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit nie jest wyrobem umożliwiającym wykonanie w pełni zautomatyzowanego oznaczenia. Analiza wykonywana przy użyciu zestawu jest jednak wspomagana przez dedykowane oprogramowanie: oprogramowanie Rotor-Gene AssayManager® w wersji 2.1.x ($x \geq 0$) z narzędziem Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in w wersji 1.0.x ($x \geq 0$) oraz profilem oznaczenia *ipsogen*_JAK2_blood_CE_IVDR (AP_ *ipsogen*_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_0_x.iap ($x \geq 1$)).

i) Opis lub pełna lista różnych konfiguracji bądź wariantów wyrobu, które mają zostać wprowadzone na rynek;

Obecnie nie jest planowane wprowadzenie na rynek Unii Europejskiej żadnego wariantu zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (674623).

j) Opis akcesoriów przeznaczonych dla wyrobu, innych wyrobów i innych produktów, które nie stanowią wyrobów, ale są przeznaczone do użytku z niniejszym wyrobem.

Obecnie nie są dostępne żadne akcesoria przeznaczone dla zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. Produkt ten jest gotowym do użytku zestawem odczynników.

W celu przeprowadzenia pełnej procedury użytkownicy zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit muszą zapewnić następujący sprzęt i materiały wymagane, ale niedostarczane z zestawem:

- Odczynniki i materiały eksploatacyjne do ręcznej izolacji DNA
 - QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit (nr kat. 61104)
 - Etanol (96–100%)
Uwaga: Nie używać alkoholu denaturowanego, ponieważ zawiera on inne substancje, takie jak metanol lub keton metylo-etylowy.
- Odczynniki i materiały eksploatacyjne do zautomatyzowanej izolacji DNA
 - Zestaw QIASymphony DSP DNA Mini Kit (nr kat. 937236)
 - Sample Prep Cartridges, 8-well (nr kat. 997002)

	<ul style="list-style-type: none"> ○ 8-Rod Covers (nr kat. 997004) ○ Filter-Tips, 1500 µl (nr kat. 997024) ○ Filter-Tips, 200 µl (nr kat. 990332) ○ Elution Microtubes CL (nr kat. 19588) ○ Tip disposal bags (nr kat. 9013395) ○ Micro tubes 2.0 ml Type H (Sarstedt®, nr kat. 72.694, www.sarstedt.com) <ul style="list-style-type: none"> ● Odczynniki i materiały eksploatacyjne do reakcji PCR <ul style="list-style-type: none"> ○ Sterylne końcówki do pipet do przygotowywania reakcji PCR, wolne od nukleaz, odporne na aerozole, z filtrami hydrofobowymi ○ Probówki do PCR o pojemności 1,5 ml lub 2,0 ml, wolne od nukleaz ○ Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, dla aparatu Rotor-Gene Q (nr kat. 981103 lub 981106) ○ Lód ● Wyposażenie <ul style="list-style-type: none"> ○ Pipety z regulacją* przeznaczone do przygotowywania reakcji PCR (1–10 µl; 10–100 µl; 100–1000 µl) ○ Rękawiczki jednorazowe ○ Wytrząsarka ○ Blok grzewczy do lizy próbek w temperaturze 56°C ○ Wirówka laboratoryjna* z rotorem dla próbek reakcyjnych o pojemności 0,5/1,5/2,0 ml (umożliwiająca wirowanie przy 13 000–14 000 rpm) ○ Spektrofotometr*
--	--

* Przed użyciem upewnić się, że aparaty zostały sprawdzone i skalibrowane zgodnie z zaleceniami producenta.

	<ul style="list-style-type: none"> ● Wyposażenie do przygotowywania próbek <ul style="list-style-type: none"> ○ Aparat QIASymphony SP* (nr kat. 9001297), oprogramowanie w wersji 4.0 lub nowszej, dostarczone akcesoria i protokół Blood_200_V7_DSP (lub nowsza wersja) ○ Tube Insert 3B (Insert, 2.0 ml v2, sample carrier (samplecarr.) (24), Qsym, nr kat. 9242083) ● Wyposażenie potrzebne do przeprowadzenia reakcji real-time PCR <ul style="list-style-type: none"> ○ Aparat do przeprowadzania reakcji real-time PCR*: Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform (nr kat. 9002032) lub Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System (nr kat. 9002033) i dostarczone akcesoria ○ Zainstalowane oprogramowanie Rotor-Gene AssayManager® w wersji 2.1.x (x≥0) ○ Zainstalowane narzędzie Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in w wersji 1.0.x (x≥0) ○ Zaimportowany profil oznaczenia ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR (AP_ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_2_x.iap (x≥1))
<p>Informacje na temat poprzednich wersji lub wariantów wyrobu (w stosownych przypadkach) oraz opis różnic</p>	<p>Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (numer katalogowy 673623, wersja 1), spełniający wymagania dyrektywy UE 98/79/WE w sprawie wyrobów medycznych używanych do diagnozy in vitro oraz decyzji komisji 2010/227/UE, został wprowadzony na rynek UE po raz pierwszy w roku 2014.</p>

* Przed użyciem upewnić się, że aparaty zostały sprawdzone i skalibrowane zgodnie z zaleceniami producenta.

Zestaw *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (numer katalogowy 674623) jest wersją 2, która została zmodyfikowana w celu zapewnienia zgodności z rozporządzeniem UE/2017/746 w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro.

Składniki obu zestawów (673623 i 674623) są takie same, a ponadto wykonywanie analizy wspomaganej przez oprogramowanie do automatycznego oznaczania ilościowego mutacji przebiega tak samo pod względem technicznym w przypadku obu zestawów. Profil oznaczenia przeznaczony dla zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (numer katalogowy 674623) został wygenerowany na podstawie istniejącej wersji przeznaczonej dla zestawu *ipsogen*[®] JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (numer katalogowy 673623).

W porównaniu z instrukcją użycia zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (numer katalogowy 673623) w instrukcji użycia zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (numer katalogowy 674623) wprowadzono poniższe zmiany mające na celu zapewnienie zgodności z rozporządzeniem IVDR:

- Doprecyzowano informacje na temat przeznaczenia wyrobu i jego docelowych użytkowników
- Protokoły zostały zmodyfikowane i uzupełnione o dodatkowe instrukcje oraz ilustracje w celu łatwiejszego zrozumienia
- Zaktualizowano informacje dotyczące stabilności i stabilności w trakcie użytkowania genomowego DNA
- Parametry skuteczności zostały zaktualizowane i uzupełnione o dodatkowe dane (analityczne i kliniczne)

	<ul style="list-style-type: none"> ● Dodano odniesienie do materiału źródłowego zawierającego podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej <p>Symbole zostały zaktualizowane i uzupełnione o dodatkowe oznaczenia.</p>
<p>Opis akcesoriów przeznaczonych do użytku wraz z wyrobem (jeśli dotyczy)</p>	<p>Nie dotyczy.</p>
<p>Opis innych wyrobów i produktów przeznaczonych do użytku wraz z wyrobem (jeśli dotyczy)</p>	<p>Obecnie nie są dostępne żadne akcesoria przeznaczone dla zestawu <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit. Produkt ten jest gotowym do użytku zestawem odczynników.</p> <p>W celu przeprowadzenia pełnej procedury użytkownicy zestawu <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit muszą zapewnić następujący sprzęt i materiały wymagane, ale niedostarczane z zestawem:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Odczynniki i materiały eksploatacyjne do ręcznej izolacji DNA <ul style="list-style-type: none"> ○ Zestaw QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (nr kat. 61104) ○ Etanol (96–100%) <p>Uwaga: Nie używać alkoholu denaturowanego, ponieważ zawiera on inne substancje, takie jak metanol lub keton metyloowo-etylowy.</p> ● Odczynniki i materiały eksploatacyjne do zautomatyzowanej izolacji DNA

	<ul style="list-style-type: none"> ○ Zestaw QIASymphony DSP DNA Mini Kit (nr kat. 937236) ○ Sample Prep Cartridges, 8-well (nr kat. 997002) ○ 8-Rod Covers (nr kat. 997004) ○ Filter-Tips, 1500 µl (nr kat. 997024) ○ Filter-Tips, 200 µl (nr kat. 990332) ○ Elution Microtubes CL (nr kat. 19588) ○ Tip disposal bags (nr kat. 9013395) ○ Micro tubes 2.0 ml Type H (Sarstedt, nr kat. 72.694, www.sarstedt.com) <ul style="list-style-type: none"> ● Odczynniki i materiały eksploatacyjne do reakcji PCR <ul style="list-style-type: none"> ○ Sterylne końcówki do pipet do przygotowywania reakcji PCR, wolne od nukleaz, odporne na aerozole, z filtrami hydrofobowymi ○ Probówki do PCR o pojemności 1,5 ml lub 2,0 ml, wolne od nukleaz ○ Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, dla aparatu Rotor-Gene Q (nr kat. 981103 lub 981106) ○ Lód ● Wyposażenie <ul style="list-style-type: none"> ○ Pipety z regulacją* przeznaczone do przygotowywania reakcji PCR (1–10 µl; 10–100 µl; 100–1000 µl) ○ Rękawiczki jednorazowe ○ Wytrząsarka ○ Blok grzewczy do lizy próbek w temperaturze 56°C
--	--

* Przed użyciem upewnić się, że aparaty zostały sprawdzone i skalibrowane zgodnie z zaleceniami producenta.

	<ul style="list-style-type: none"> ○ Wirówka laboratoryjna* z rotorem dla probówek reakcyjnych o pojemności 0,5/1,5/2,0 ml (umożliwiająca wirowanie przy 13 000–14 000 rpm) ○ Spektrofotometr* ● Wyposażenie do przygotowywania próbek <ul style="list-style-type: none"> ○ Aparat QIAAsymphony SP* (nr kat. 9001297), oprogramowanie w wersji 4.0 lub nowszej, dostarczone akcesoria i protokół Blood_200_V7_DSP (lub nowsza wersja) ○ Tube Insert 3B (Insert, 2.0 ml v2, sample carrier (samplecarr.) (24), Qsym, nr kat. 9242083) ● Wyposażenie potrzebne do przeprowadzenia reakcji real-time PCR <ul style="list-style-type: none"> ○ Aparat do przeprowadzania reakcji real-time PCR*: Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform (nr kat. 9002032) lub Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System (nr kat. 9002033) i dostarczone akcesoria ○ Zainstalowane oprogramowanie Rotor-Gene AssayManager w wersji 2.1.x (x≥0) ○ Zainstalowane narzędzie Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in w wersji 1.0.x (x≥0) ○ Zaimportowany profil oznaczenia ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR (AP_ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_2_x.iap (x≥1))
--	---

* Przed użyciem upewnić się, że aparaty zostały sprawdzone i skalibrowane zgodnie z zaleceniami producenta.

Odniesienia do norm

Mające zastosowanie normy zharmonizowane i wspólne specyfikacje

Rozporządzenie IVDR nie obejmuje norm zharmonizowanych. Poniższa tabela zawiera wykaz norm, których wymagania zostały spełnione na etapie opracowywania zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit.

Nazwa normy	Tytuł normy
EN ISO 13485:2016	Wyroby medyczne — Systemy zarządzania jakością — Wymagania do celów przepisów prawnych (ISO 13485:2016)
EN ISO 14971:2019	Wyroby medyczne — Zastosowanie zarządzania ryzykiem do wyrobów medycznych
EN ISO 15223-1:2016	Wyroby medyczne — Symbole do stosowania na etykietach wyrobów medycznych, w ich oznakowaniu i w dostarczanych z nimi informacjach — Część 1: Wymagania ogólne
EN ISO 18113-1:2011	Wyroby medyczne do diagnostyki in vitro — Informacje dostarczane przez wytwórcę (oznakowanie) — Część 1: Terminy, definicje i wymagania ogólne
EN ISO 18113-2:2011	Wyroby medyczne do diagnostyki in vitro — Informacje dostarczane przez wytwórcę (oznakowanie) — Część 2: Odczynniki do diagnostyki in vitro do profesjonalnego stosowania
EN ISO 23640:2015	Wyroby medyczne do diagnostyki in vitro — Badanie stabilności odczynników do diagnostyki in vitro (ISO 23640:2011)
EN 62304:2006	Oprogramowanie wyrobów medycznych — Procesy cyklu życia oprogramowania (IEC 62304:2006)
EN 62366:2008	Urządzenia medyczne — Zastosowanie inżynierii użyteczności do urządzeń medycznych (IEC 62366:2007)

Podsumowanie oceny działania i obserwacji działania po wprowadzeniu do obrotu

Podsumowanie oceny działania i obserwacji działania po wprowadzeniu do obrotu

Ocena działania służy do weryfikacji znaczenia naukowego, skuteczności analitycznej i, w stosownych przypadkach, skuteczności klinicznej zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit w celu umożliwienia ustrukturyzowanego i przejrzystego procesu pozwalającego na wygenerowanie wiarygodnych danych oraz solidnych badań.

Ocenę znaczenia naukowego oparto na systematycznym przeglądzie literatury, ocenie dostępnych/uzyskanych/nowych danych istotnych względem zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit oraz jego przeznaczenia i wspólnych opinii/stanowisk ekspertów na podstawie międzynarodowych wytycznych. Przedstawione tutaj dane wykazują, że znaczenie naukowe zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit jest zgodne z jego przeznaczeniem.

Skuteczność analityczna została oceniona na podstawie badań, w których wyznaczono następujące żądane wskaźniki skuteczności: granica próby ślepej (Limit of Blank, LoB), granica wykrywalności (Limit of Detection, LoD) i granica oznaczalności (Limit of Quantitation, LoQ), precyzja (powtarzalność i odtwarzalność), liniowość, substancje zakłócające, zanieczyszczenie krzyżowe, dokładność reakcji PCR i badanie z wykorzystaniem panelu WHO JAK2 16/120 (zgodność, poprawność i dokładność), zakres pomiarowy, stabilność próbki / postępowanie z próbką, kryteria akceptacji oznaczania ilościowego DNA, porównanie ręcznej i automatycznej izolacji, weryfikacja użyteczności, stosowanie próbek utworzonych sztucznie oraz weryfikacja profilu oznaczenia. Ocena tych źródeł wykazała, że skuteczność analityczna zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit jest właściwa względem przeznaczenia, a jego użytkowanie jest bezpieczne pod warunkiem stosowania zgodnie z przeznaczeniem przez użytkownika docelowego w określonej populacji pacjentów.

Skuteczność kliniczna została oceniona na podstawie systematycznego przeglądu literatury oraz badań skuteczności klinicznej, w których wyznaczono wskaźniki skuteczności w zakresie dokładności/zgodności: PPV, NPV, czułość diagnostyczna, swoistość, iloraz prawdopodobieństwa (na podstawie danych z badania skuteczności klinicznej) oraz PPA i NPA na podstawie danych z badania skuteczności klinicznej i badania dokładności analitycznej. Ponadto w ocenie uwzględniono doświadczenie uzyskane w rutynowych badaniach diagnostycznych. Ocena tych źródeł wykazała, że skuteczność kliniczna zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit jest właściwa względem przeznaczenia, a jego użytkowanie jest bezpieczne pod warunkiem stosowania zgodnie z przeznaczeniem przez użytkownika docelowego w określonej populacji pacjentów.

System oceny po wprowadzeniu do obrotu ma na celu potwierdzenie bezpieczeństwa, działania i znaczenia naukowego zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit w trakcie oczekiwanego okresu jego używania, zapewnienie stałego utrzymywania stosunku korzyści do ryzyka na akceptowalnym poziomie oraz wykrywanie pojawiającego się ryzyka na podstawie udokumentowanych informacji, a także określenie, zastosowanie i poddanie ocenie wszelkich działań zapobiegawczych oraz korygujących.

Obserwacja działania po wprowadzeniu do obrotu ma na celu potwierdzenie bezpieczeństwa, działania i znaczenia naukowego zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit w trakcie oczekiwanego okresu używania wyrobu, zapewnienie stałego utrzymywania stosunku korzyści do ryzyka na akceptowalnym poziomie oraz wykrywanie pojawiającego się ryzyka na podstawie udokumentowanych informacji.

Celem jest weryfikacja bezpieczeństwa i działania wyrobu w całym jego oczekiwanym okresie używania, identyfikacja uprzednio nieznanymi czynnikami ryzyka lub ograniczeń działania oraz przeciwwskazań, identyfikacja i analiza pojawiającego się ryzyka na podstawie udokumentowanych informacji, zapewnienie stałego utrzymywania dowodów klinicznych oraz stosunku korzyści do ryzyka na akceptowalnym poziomie oraz identyfikacja potencjalnego systematycznego nieprawidłowego używania. Zebrane zostaną następujące dane z obserwacji działania po wprowadzeniu do obrotu.

Dane z doświadczenia klinicznego w zakresie tendencji zostaną uzyskane na podstawie danych wygenerowanych w badaniach przeprowadzonych po wprowadzeniu do obrotu (sponsorowanych przez firmę lub inicjowanych przez jednostkę badawczą) oraz danych i dowodów pochodzących z rejestrów pacjentów prowadzonych w warunkach rzeczywistej praktyki klinicznej (Real World Data, RWD; Real World Evidence, RWE) (w stosownych przypadkach).

Informacje zwrotne pochodzące z ankiet uzyskanych od użytkowników (pracowników ochrony zdrowia, klinicznych kluczowych liderów opinii oraz pracowników laboratoriów) oraz dystrybutorów i importerów, z opublikowanych danych otrzymanych przez użytkowników oraz ze sprzedaży i szkoleń.

Ocena literatury naukowej na podstawie źródeł dotyczących wyrobu oraz podobnych i równoważnych wyrobów, a także nowych wytycznych technicznych lub medycznych.

	<p>Informacje pochodzące z technicznych lub specjalistycznych rekordów, rejestrów, opisów przypadków poddanych analizie i ocenie przez firmę QIAGEN.</p> <p>Badania epidemiologiczne prowadzone w ramach badań obserwacyjnych po wprowadzeniu do obrotu w celu zebrania informacji na temat działania wyrobu.</p> <p>Obserwacje działania po wprowadzeniu do obrotu będą aktualizowane co rok w celu uwzględnienia nowych danych i wyników, badań przeprowadzonych po wprowadzeniu do obrotu, odniesień do właściwych wspólnych specyfikacji uwzględnionych w mających zastosowanie normach zharmonizowanych oraz wytycznych w zakresie obserwacji działania po wprowadzeniu do obrotu.</p> <p>Określone wyniki mogą prowadzić do przeprowadzenia dodatkowych zadań i działań. Czynniki, które mogą prowadzić do przeprowadzenia działań w zakresie obserwacji działania po wprowadzeniu do obrotu, zostały ustalone na podstawie ich wpływu na parametry produktu oraz stosunku korzyści do ryzyka i mogą obejmować skargi klientów, pojawienie się danych w publikacjach, zewnętrzne programy oceny jakości i inne rejestry.</p>
--	--

Podsumowanie skuteczności analitycznej

Granica próby ślepej

Granice próby ślepej (Limit of Blank, LOB) określono zgodnie z normą EP17-A2 instytutu CLSI/NCCLS przy użyciu próbek krwi pełnej pobranych od 30 zdrowych dawców z allelem typu dzikiego (Wild-type, WT) genu JAK2, używając w tym celu trzech serii odczynnika (120 pomiarów / serię).

Podsumowanie wyników LOB

	Zmierzona LOB	Końcowa granica próby ślepej
Seria 1	0%	
Seria 2	0%	0%
Seria 3	0%	

Wyniki odpowiadają oczekiwanej wartości uzyskanej dla populacji prawidłowej przebadanej przy użyciu zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit.

Granica wykrywalności

Granice wykrywalności (Limit of Detection, LOD; czułość analityczna) określono na podstawie „Metody probitowej” opisanej w normie EP17-A2 instytutu CLSI/NCCLS. W tym badaniu przeanalizowano 6 niskich poziomów mutacji dla 3 niezależnych próbek (DNA wyizolowane z krwi pełnej pacjentów z nowotworem MPN dodane do DNA wyizolowanego z krwi pełnej zawierającej allel typu dzikiego (Wild-type, WT)), przy użyciu 3 serii, wykonując po 60 pomiarów na próbkę i na mutację. Uzyskane wyniki wskazywały, że czułość analityczna wynosiła 0,042% mutacji JAK2 V617F.

Podsumowanie wyników granicy LOD

	Zmierzona granica LOD	Końcowa granica wykrywalności
Seria 1	0,041%	
Seria 2	0,029%	0,042%
Seria 3	0,042%	

Granica oznaczalności

Granica oznaczalności (Limit of Quantitation, LOQ) została zdefiniowana i określona na podstawie wytycznych zawartych w dokumencie EP17-A2 instytutu CLSI/NCCLS. Granica LoQ została zdefiniowana jako najniższa wartość procentowa mutacji JAK2 V617F, która wyraźnie różni się od wartości granicy LoD zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit przy 95-procentowym przedziale ufności (ryzyko błędu $\alpha = 0,05$). Do obliczenia granicy LoQ zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit użyto danych uzyskanych podczas badania powtarzalności jednośrodkowej. Uzyskane wyniki wskazują, że granica LoQ mutacji JAK2 V617F wynosiła 0,233%.

W kontekście monitorowania choroby molekularnej oznacza to, że jeśli zmierzona wartość procentowa mutacji JAK2 V617F wynosi poniżej 0,233% w danym punkcie czasu, wiarygodne ilościowe oznaczenie obniżenia obciążenia allelem JAK2 V617F nie jest możliwe do wykonania w następnym punkcie czasu.

Liniowość

Liniowość ilościowego oznaczenia mutacji genu JAK2 u pacjentów z nowotworem MPN oceniono zgodnie z normą CLSI/NCCLS EP06AE, używając jednej serii zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit i wykonując testy 11 poziomów mutacji dla pięciu różnych wejściowych DNA. Ilościowe oznaczanie obciążenia mutacją genu JAK2 w próbkach nowotworu MPN jest liniowe, tj. zestaw *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit umożliwia oznaczenie ilościowe w próbkach od wartości granicy LOD do odsetka mutacji równego 100%, co odpowiada oczekiwany wartościom uzyskiwanym w populacji dotkniętej mutacją, o ile stężenie w próbce oznaczanej ilościowo jest bliskie 10 ng/μl (od 5 do 20 ng/μl).

Powtarzalność i odtwarzalność

Jednoośrodkowe badanie precyzji zostało zaprojektowane zgodnie z wymogami normy EP5-A3 instytutu CLSI/NCCLS. Badanie przeprowadzono przy użyciu próbek z 11 poziomami odsetka mutacji — od 0,07% do 72,67%. W badaniu wykorzystano serię rozcieńczeń próbki klinicznej pobranej od pacjenta z nowotworem MPN. Dla każdego poziomu mutacji uzyskano po 108 pomiarów wykonanych przez trzech operatorów w ciągu 27 dni (dwa powtórzenia na reakcję oraz dwie reakcje dziennie) przy użyciu trzech serii zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit oraz trzech aparatów Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. Precyzję dla poziomu o wartości 100% wyrażono poprzez porównanie z wartością precyzji określoną dla poziomu o wartości 72,67%, na podstawie analiz trendów popartych dodatkowymi danymi uzyskanymi dla próbki z mutacją JAK2 V617F na poziomie 100% zawierającej DNA z linii komórkowej MUTZ-8 (38 pomiarów).

Wyniki dotyczące precyzji: powtarzalność (badanie jednośrodkowe)

Próbka	Średni odsetek mutacji genu JAK2	SD_{R+}	SD_{RUN++}	SD_{TOTAL+++}	CV_{TOTAL}
S0	100	NO	NO	≤5,45	≤7,50%
S1	72,67	1,99	2,99	5,45	7,50%
S2	53,96	2,48	3,16	6,52	12,09%
S3	23,13	1,59	1,95	4,51	19,52%
S4	11,97	1,10	1,17	2,79	23,27%
S5	6,01	0,71	0,63	1,57	26,17%
S6	2,39	0,31	0,36	0,70	29,23%
S7	1,23	0,17	0,16	0,34	27,38%
S8	0,63	0,13	0,12	0,24	37,88%
S9	0,13	0,05	0,03	0,07	52,31%
S10	0,07	0,03	0,02	0,04	65,01%

SD: odchylenie standardowe

R+: powtarzalność.

RUN++: precyzja między reakcjami.

TOTAL+++: precyzja całkowita (w tym między aparatami, między operatorami i między seriami).

CV_{TOTAL}: współczynnik zmienności dla precyzji całkowitej wyrażony jako wartość procentowa.

NO: nie określono

Badanie precyzji międzylaboratoryjnej zostało zaprojektowane zgodnie z wymogami normy EP5-A3 instytutu CLSI/NCCLS. W badaniu uczestniczyły cztery ośrodki (na terenie Francji i Niemiec oraz dwa ośrodki na terenie USA). Badanie wykonano przy użyciu siedmiu poziomów odsetka mutacji — od 1,21% do 67,64%, używając w tym celu rozcieńczeń materiału linii komórkowej MUTZ-8 dodanego do próbek krwi pełnej pobranych od zdrowego dawcy (próbki utworzone sztucznie). W każdym ośrodku wykonano po trzy cykle izolacji DNA przy użyciu aparatu

QIASymphony SP oraz odrębnych partii zestawu QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Każda próbka wyizolowanego DNA została przetestowana w ośmiu reakcjach qPCR (dwie reakcje na dzień i na ośrodek wykonywane w ciągu czterech nienastępujących bezpośrednio po sobie dni) przy użyciu odrębnych partii zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, w wyniku czego uzyskano 96 oczekiwanych pomiarów ze wszystkich ośrodków przypadających na próbkę.

Dla próbki L2 uzyskano wynik nieważny podczas jednego cyklu izolacji, co spowodowało, że łącznie zamiast 96 reakcji qPCR wykonano 88 reakcji. Dodatkowo jedna reakcja qPCR była nieważna, co doprowadziło do uzyskania trzech nieważnych testów dla wszystkich próbek (oprócz próbki L2, tj. 2 wyniki nieważne). Ponadto dla próbki L7 uzyskano nieważny wynik w jednej reakcji qPCR, a dla próbki L4 uzyskano nieważny wynik w dwóch reakcjach qPCR, co dało dwa dodatkowe nieważne testy.

Precyzję dla poziomu o wartości 100% wyrażono poprzez porównanie z wartością precyzji określoną dla poziomu o wartości 67,64%, na podstawie analiz trendów popartych dodatkowymi danymi uzyskanymi dla próbki z mutacją JAK2 V617F na poziomie 100% zawierającej DNA z linii komórkowej MUTZ-8 (38 pomiarów).

Wyniki dotyczące precyzji: odtwarzalność (badanie międzylaboratoryjne)

Próbka	Łączna liczba testów	Łączna liczba nieważnych testów	Średnia wartość JAK2% MT	W ramach reakcji, SD, %CV	Między reakcjami w ramach dnia, SD, %CV	Między dniami, SD, %CV	Między ośrodkami, SD, %CV	Łącznie, SD, %CV
L0	ND.	ND.	100	ND.	ND.	ND.	ND.	≤4,074, ≤6,02
L1	96	3	67,64	2,616, 3,87	2,060, 3,05	1,999, 2,96	1,530, 2,26	4,074, 6,02
L2	88	2	40,03	3,482, 8,70	1,011, 2,53	2,389, 5,97	0,986, 2,46	4,387, 10,96
L3	96	3	22,26	3,318, 14,90	1,256, 5,64	1,257, 5,64	0,803, 3,61	3,807, 17,10
L4	96	5	8,02	1,770, 22,06	0,516, 6,44	0,000, 0,00	0,000, 0,00	1,841, 22,95
L5	96	3	4,35	0,706, 6,23	0,547, 12,57	0,000, 0,00	0,197, 4,53	0,906, 20,82
L6	96	3	2,03	0,246, 12,15	0,365, 18,00	0,063, 3,11	0,000, 0,00	0,441, 21,76
L7	96	4	1,21	0,104, 8,62	0,057, 4,72	0,211, 17,43	0,000, 0,00	0,189, 15,64

JAK2%MT: odsetek mutacji genu JAK2; **SD:** odchylenie standardowe; **CV:** współczynnik zmienności wyrażony w procentach; **ND.:** nie dotyczy.

Dodatkowe badanie międzylaboratoryjne zostało przeprowadzone w trzech ośrodkach badawczych (jeden na terenie Europy i dwa na terenie USA). W badaniu wykorzystano cztery próbki krwi pełnej pobrane od pacjentów z nowotworem MPN (tj. próbki kliniczne). W każdym ośrodku wykonano trzy cykle izolacji DNA. Każda próbka wyizolowanego DNA została przetestowana w 12 reakcjach qPCR (jedno powtórzenie na reakcję na próbkę, dwie reakcje na dzień na operatora w każdym ośrodku — dwóch operatorów wykonujących reakcje na ośrodek — w ciągu trzech nienastępujących bezpośrednio po sobie dni) wykonywanych w jednym aparacie Rotor-Gene Q MDx przy użyciu jednej serii zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. Dla każdej próbki uzyskano 36 pomiarów.

Wyniki dodatkowego badania międzylaboratoryjnego

Próbka	N	Średnia wartość JAK2%MT	W ramach reakcji, SD, %CV	Między reakcjami w ramach dnia, SD, %CV	Między dniami, SD, %CV	Między ośrodkami, SD, %CV	Łącznie, SD, %CV
Próbka 1	36	95,19	0,995, 1,04	0,000, 0,00	0,541, 0,57	0,000, 0,00	1,130, 1,19
Próbka 2	36	22,83	3,988, 17,47	0,000, 0,00	1,707, 7,48	1,552, 6,80	4,501, 19,72
Próbka 3	36	14,44	2,257, 15,63	1,398, 9,68	0,000, 0,00	1,422, 9,84	2,890, 20,01
Próbka 4	36	4,03	0,186, 4,63	0,835, 20,74	0,000, 0,00	0,608, 15,09	0,922, 22,91

Średnia wartość JAK2% MT: odsetek mutacji genu JAK2; N: liczba pomiarów, SD: odchylenie standardowe; CV: współczynnik zmienności wyrażony w procentach.

Substancje zakłócające

Badanie zostało zaprojektowane zgodnie z wymogami normy EP7-A3 pt. „Interference Testing in clinical Chemistry” instytutu NCCLS. Wybrano łącznie 19 substancji potencjalnie obecnych w próbkach krwi ze względu na ich możliwy wpływ na reakcję PCR (busulfan, bromowodorek cytalopramu, paroksetyna chlorowodoru półwodnego, chlorowodorek sertraliny, chlorowodorek fluoksetyny, acetaminofen [paracetamol], bilirubina niezwiązana, sól potasowa 2K EDTA i 3K EDTA, sól sodowa EDTA, Hgb [ludzka], trójglicerydy, lizynopryl dwuwodny, hydroksymocznik, kwas acetylosalicylowy, kwas salicylowy, tiotepa, anagrelid, interferon alfa 2b).

Oceniono również substancje pochodzące z procesu izolacji DNA (QSL1, QSB1, QSW1, QSW2 i PK pochodzące z zestawu QIASymphony DSP DNA Blood Mini Kit oraz QIAGEN Protease, etanol, AW1 i AW2 pochodzące z zestawu QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit).

Uzyskane wyniki wskazują, że substancje te nie powodują efektu zakłócającego.

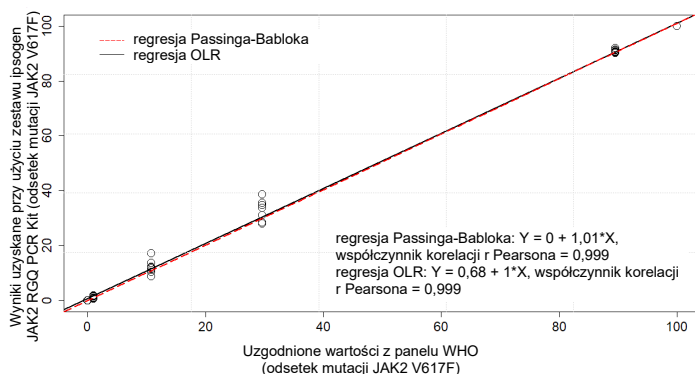
Substancje zakłócające

Badana substancja	Badane stężenie
Bilirubina niezwiązana	150,3 µg/ml
Hemoglobina [ludzka]	2000 µg/ml
Trójglicerydy	30 000 µg/ml
Busulfan	38,4 µg/ml
Bromowodrek cytalopramu	0,75 µg/ml
Paroksetyna chlorowodoru półwodnego	1,14 µg/ml
Chlorowodrek sertraliny	0,67 µg/ml
Chlorowodrek fluoksetyny	3,87 µg/ml
Acetaminofen [paracetamol]	200,7 µg/ml
Lizynopryl dwuwodny	0,33 µg/ml
Hydroksymocznik	28,2 µg/ml
Kwas acetylosalicylowy	651,6 µg/ml

Badana substancja	Badane stężenie
Kwas salicylowy	0,6 µg/ml
Tiotepa	48 µg/ml
Anagrelid	6 µg/ml
Interferon alfa 2b*	1,8 MU/l
Sól potasowa EDTA (2K-EDTA)	2X (3600 µg/ml)
Sól potasowa EDTA (3K-EDTA) **	1X (1800 µg/ml), 3X (5400 µg/ml)
Sól sodowa EDTA (2Na-EDTA) **	1X (3000 µg/ml), 3X (9000 µg/ml)
QSL1	2% całkowitej objętości próbki
QSB1	2% całkowitej objętości próbki
QSW1	2% całkowitej objętości próbki
QSW2	2% całkowitej objętości próbki
Proteinaza K (PK) †	2% całkowitej objętości próbki

Proteinaza K (PK) [†]	2x oczekiwana wartość objętości pozostała po izolacji 3x oczekiwana wartość objętości pozostała po izolacji
QIAGEN Protease	1,29E–05% całkowitej objętości próbki
Etanol (EtOH)	1,29E–03% całkowitej objętości próbki
Buffer AW1	1,00E–01% całkowitej objętości próbki
Buffer AW2	1,00% całkowitej objętości próbki
<p>* Zalecana dawka w przypadku pacjentów z PV wynosi 3 MU, która przy założeniu, że zostanie rozprowadzona w 5 l krwi (pacjent o wadze 80 kg), daje stężenie 0,6 MU/l. Zgodnie z zaleceniami zawartymi w normie EP7-A2 instytutu NCCLS zbadano trzykrotność tego stężenia, tj. 1,8 MU/l.</p> <p>** Stężenie 1X wg dostawcy</p> <p>† PK badana w stężeniu 2% całkowitej objętości próbki (niskie prawdopodobieństwo wystąpienia) powoduje efekt zakłócający; dalsze badania potwierdzają usunięcie PK podczas procesu izolacji: nie oczekuje się wystąpienia zakłóceń, jeśli materiał jest używany w normalnych warunkach.</p>	
<p>Badanie międzynarodowego panelu referencyjnego WHO dla genomowego materiału JAK2 V617F (NIBSC, kod panelu 16/120)</p> <p>1. międzynarodowy panel referencyjny WHO dla genomowego materiału JAK2 V617F opracowany przez instytut National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC, kod panelu 16/120) został zbadany przy użyciu trzech serii zestawu ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit (trzy powtórzenia na jeden poziom zawarty w panelu referencyjnym oraz na serię odczynnika). Eksperymenty były wykonywane przez jednego operatora, przy użyciu jednego aparatu Rotor-Gene Q 5plex HRM w ciągu trzech dni. Zgodność wyników uzyskanych za pomocą zestawu ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit z uzgodnionymi wartościami opublikowanymi w instrukcji użycia panelu referencyjnego została oceniona przy użyciu regresji liniowej zwykłej (nachylenie: 1,003; 95-procentowy CI [0,997; 1,010] — punkt przecięcia: 0,677; 95-procentowy CI [0,212; 1,289]) oraz regresji Passinga-Babloka (nachylenie: 1,01; 95-procentowy CI [1,00; 1,021] — punkt</p>	

przecięcia: 0,00, 95-procentowy CI [-0,02; 0,010]). Potwierdzono zgodność, wykazując w ten sposób przydatność zestawu podczas dostarczania danych dotyczących mutacji JAK2 V617F, które są zgodne z danymi uzyskiwanymi przy użyciu pozostałych, powszechnie używanych technik diagnostycznych.



Zgodność wyników uzyskanych przy użyciu zestawu ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit z uzgodnionymi wartościami z międzynarodowego panelu referencyjnego WHO dla genomowego materiału JAK2 V617F (NIBSC, kod panelu 16/120).

Zgodność oceniono przy użyciu regresji liniowej zwykłej (Ordinary Linear Regression, OLR) oraz regresji Passinga-Babloka.

Panel zawiera siedem poziomów mutacji JAK2 V617F: 100%; 89,5%; 29,6%; 10,8%; 1,00%; 0,03% i 0%. Uzgodnione wartości wzorca WHO zostały określone przy użyciu wielu technik powszechnie używanych w ramach międzynarodowych badań opartych na współpracy; wartości referencyjne przypisane poszczególnym poziomom odsetka mutacji JAK2 V617F są wartościami medianowymi (więcej informacji można znaleźć na stronie <https://www.nibsc.org>).

Poprawność i dokładność

Poprawność pomiaru jest odwrotnie proporcjonalna do błędu systematycznego pomiaru (Systematic Error, SE). Błąd systematyczny został obliczony na podstawie wytycznych zawartych w dokumencie EP09c instytutu NCCLS. Błąd systematyczny został obliczony dla każdego poziomu odsetka mutacji JAK2 V617F zawartego w panelu referencyjnym, dla każdej serii odczynnikowej oraz dla wszystkich serii odczynników ogółem. Do obliczeń użyto danych uzyskanych w badaniu opisanym powyżej. Najwyższe wartości błędu systematycznego uzyskano podczas wykonywania oznaczenia przy użyciu 2. serii zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit.

Dokładność to stopień zgodności między wartością będącą wynikiem testu a dopuszczalną wartością referencyjną (w tym przypadku wartościami przypisanymi do poszczególnych poziomów odsetka mutacji JAK2 V617F będących częścią panelu WHO). Dokładność obejmuje poprawność i precyzję oraz jest odwrotnie proporcjonalna do błędu całkowitego, obliczanego w sposób przedstawiony w poniższej tabeli.

Błąd systematyczny i błąd pomiaru				
Panel WHO	Seria zestawu	Błąd systematyczny (SE)	Błąd systematyczny (SE)	Błąd całkowity (dokładność)
<i>Kod ampulki</i> Wartość referencyjna	<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit	Na serię <i>[95-procentowy CI]</i>	Ogółem <i>[95-procentowy CI]</i>	
15/172 0%	1	0,000 [Nd.]	0,001 [-0,001; 0,004]	0,010
	2	0,003 [-0,011; 0,018]		
	3	0,000 [Nd.]		
15/170 0,03%	1	-0,010 [-0,053; 0,033]	0,003 [-0,021; 0,028]	0,024
	2	0,020 [-0,094; 0,134]		
	3	0,000 [-0,075; 0,075]		
15/168 1,00%	1	-0,310 [-0,621; 0,001]	0,066 [-0,276; 0,407]	0,363
	2	0,617 [0,016; 1,217]		
	3	-0,110 [-0,261; 0,041]		
15/166 10,8%	1	-0,183 [-4,523; 4,156]	1,207 [-0,630; 3,043]	2,521
	2	3,600 [-2,670; 9,870]		
	3	0,203 [-1,387; 1,793]		
15/244 29,6%	1	0,970 [-8,238; 10,178]	2,874 [0,016; 5,733]	5,589
	2	6,347 [0,141; 12,552]		

	3	1,307 [-5,767; 8,381]		
15/246 89,5%	1	1,000 [-0,295; 2,295]	1,381 [0,889; 1,873]	≤5,622
	2	1,783 [-0,316; 3,883]		
	3	1,360 [0,270; 2,450]		
15/164 100%	1	-0,017 [-0,031; -0,002]	-0,017 [-0,021; -0,013]	
	2	-0,020 [Nd.]		≤5,450
	3	-0,013 [-0,028; 0,001]		

SE: błąd systematyczny to różnica pomiędzy średnią wartością wyników poszczególnych pomiarów uzyskanych przy użyciu zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit ($\bar{V}_{\text{JAK2 Kit}}$) a uzgodnioną wartością z wyników z panelu referencyjnego WHO (V_{Ref}).

$$SE (\%) = \frac{\bar{V}_{\text{JAK2 Kit}} - V_{\text{Ref}}}{V_{\text{Ref}}} \times 100$$

Błąd całkowity (Total Error, TE) jest obliczany ze wzoru $TE = \sqrt{s^2 + SE^2}$, gdzie „s” oznacza odchylenie standardowe (błąd przypadkowy).

95-procentowy CI: 95-procentowy przedział ufności

Nd. = nie dotyczy

Dokładność analityczna

Celem tego badania było potwierdzenie dokładności analitycznej zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit używanego w normalnych warunkach do badania próbek klinicznych pobranych od pacjentów z podejrzeniem nowotworu mieloproliferacyjnego. Badanie wykonano na próbkach gDNA wyizolowanego łącznie z 473 próbek materiału pobranego od następujących pacjentów: 276 z podejrzeniem PV, 98 z ET i 99 z PMF. Status mutacji JAK2 V617F w próbkach pacjentów uzyskany przy użyciu zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit został porównany ze statusem mutacji JAK2 V617F uzyskanym przy użyciu metody referencyjnej przeznaczonej do określania statusu genu JAK2, tj. niezależnie zwalidowanej metody

sekwencjonowania dwukierunkowego (Bi-directional Sequencing, BDS). Granica LoD zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit używanego do wykrycia mutacji JAK2 V617F wynosi 0,042%, dlatego status mutacji JAK2 V617F w próbkach pacjentów badanych przy użyciu zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit jest określany jako dodatni, jeśli dla próbki zgłoszono wynik na poziomie lub powyżej granicy, albo ujemny, jeśli dla próbki zgłoszono wynik poniżej tej granicy. Spośród 473 próbek 22 próbki zostały określone jako dodatnie względem genu JAK2 przy użyciu zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit i jako ujemne względem tego genu przy użyciu metody BDS.

Zgodność ogólna wyniosła 95,35% (451/473 próbki; 95-procentowy CI: 93,04%, 97,06%). Zgodność wyników dodatnich wyniosła 100% (165/165 próbek; 95-procentowy CI: 97,79%, 100%), a zgodność wyników ujemnych wyniosła 92,86% (286/308 próbek; 95-procentowy CI: 89,39%; 95,47%). Wyniki przedstawiono poniżej.

Zgodność wyników uzyskanych przy użyciu zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit oraz metody sekwencjonowania dwukierunkowego Sangera w populacji pacjentów z nowotworem MPN (połączone populacje pacjentów z ET, PMF i PV).

	Sekwencjonowanie dwukierunkowe Sangera			
	JAK2 V617F — dodatni	JAK2 V617F — ujemny	Łącznie	
Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit	JAK2 V617F — dodatni	165	22	187
	JAK2 V617F — ujemny	0	286	286
	Łącznie	165	308	473

Ocena wyników badania dokładności analitycznej w przypadku kohorty pacjentów z nowotworem MPN

Zgodność wyników dotyczących statusu mutacji JAK2 V617F uzyskanych przy użyciu zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit z wynikami uzyskanymi przy użyciu metody sekwencjonowania dwukierunkowego Sangera (BDS) wśród pacjentów z ET, PMF i PV przedstawiono oddzielnie:

- W przypadku ET zgodność ogólna wyniosła 89,8% (88/98 próbek; 95-procentowy CI: 82,03–95,0%), zgodność wyników dodatnich wyniosła 100% (43/43 próbki; 95-procentowy CI: 91,78–100%), a zgodność wyników ujemnych wyniosła 81,82% (45/55 próbek; 95-procentowy CI: 69,1–90,92%).
- W przypadku PMF zgodność ogólna wyniosła 93,94% (93/99 próbek; 95-procentowy CI: 87,27–97,74%), zgodność wyników dodatnich wyniosła 100% (51/51 próbek; 95-procentowy CI: 93,02–100%), a zgodność wyników ujemnych wyniosła 87,5% (42/48 próbek; 95-procentowy CI: 74,75–95,27%).
- W przypadku PV zgodność ogólna wyniosła 97,83% (270/276 próbek; 95-procentowy CI: 95,33–99,2%), zgodność wyników dodatnich wyniosła 100% (71/71 próbek; 95-procentowy CI: 94,94–100%), a zgodność wyników ujemnych wyniosła 97,07% (199/205 próbek; 95-procentowy CI: 93,74–98,92%).

W przypadku próbek dających niezgodne wyniki okazało się, że zawierały mutację na poziomie poniżej wartości możliwej do wykrycia metodą BDS (ok. 10%). Sekwencjonowanie Sangera charakteryzuje się niższą czułością niż zestaw *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, za

pomocą którego można wykryć mutację JAK2 V617F nawet na tak niskim poziomie jak 0,042% (jest to wartość granicy LoD), dlatego w celu wykrycia allelu JAK2 V617F w 15 spośród 22 niezgodnych próbek (dziewięć próbek z ET, pięć próbek z PMF i jedna próbka z PV) oraz w losowo wybranych 22 zgodnych próbkach dodatnich i ujemnych względem mutacji JAK2 V617F przeprowadzono oddzielne badanie przy użyciu zwalidowanej metody sekwencjonowania następnej generacji (Next-generation Sequencing, NGS). Status mutacji JAK2 V617F w próbkach pacjentów określono przy użyciu metody NGS w oparciu o granicę czułości analitycznej tej metody (od 1% do 2% mutacji JAK2 V617F). Jeśli mutacja JAK2 V617F została wykryta w próbce pacjenta przy użyciu metody NGS, status mutacji JAK2 V617F był określany jako dodatni, natomiast jeśli nie doszło do wykrycia mutacji JAK2 V617F w próbce, status mutacji JAK2 V617F był określany jako ujemny.

Dla wszystkich 15 niezgodnych próbek zbadanych metodą NGS uzyskano wynik pozytywny, co były zgodne z wynikami uzyskanymi przy użyciu zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. Wszystkie badane próbki zgodne dały takie same wyniki przy użyciu metody NGS, będące zgodne z wynikami uzyskanymi przy użyciu zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit and BDS. Pozostałe 7 próbek uznano za niezgodne, ponieważ nie udało się uzyskać dla nich danych przy użyciu metody NGS. Wnioski z badania dokładności analitycznej.

Dokładność wykrywania allelu JAK2 V617F w próbkach pochodzących od pacjentów z mutacjami JAK2 V617F na poziomie $\geq 0,042\%$ (wartość granicy LoD) przy użyciu zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit wyniosła 98,3%.

<p>Podsumowanie skuteczności klinicznej</p>	<p>Czułość wyniosła 94,64% (95-procentowy CI: 85,13%; 98,88%), co wskazuje, że zgodnie z oczekiwaniami wyniki uzyskane za pomocą zestawu <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit w ramach kryteriów diagnostycznych WHO umożliwiają wykrycie PV u zdecydowanej większości pacjentów dotkniętych tą chorobą.</p> <p>Swoistość rozpoznawania PV za pomocą wyników uzyskanych przy użyciu zestawu <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit w ramach kryteriów diagnostycznych WHO wyniosła 95,62% (95-procentowy CI: 91,19%; 98,22%), co wskazuje na oczekiwaną możliwość wykluczenia występowania PV u zdecydowanej większości pacjentów, u których nie występuje PV.</p> <p>Wartości PPV oraz NPV wyników uzyskanych przy użyciu zestawu <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit w ramach kryteriów diagnostycznych WHO wyniosły odpowiednio 88,33% (95-procentowy CI: 77,27%; 93,57%)* i 98,08% (95-procentowy CI: 94,8%; 99,4%).</p> <p>Iloraz prawdopodobieństwa wystąpienia negatywnego wyniku przy użyciu zestawu <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit w przypadku rozpoznania PV w ramach kryteriów diagnostycznych WHO wyniósł 21,61 (95-procentowy CI: 10,44; 44,71), co wskazuje, że prawdopodobieństwo uzyskania pozytywnego wyniku względem mutacji JAK2 V617F jest wyższe wśród pacjentów z PV w porównaniu do pacjentów, u których nie występuje PV.</p>
--	--

* Wartość PPV jest zależna od częstości występowania. Częstość występowania w badanej populacji była niska, dlatego parametrami o wyższej istotności są czułość i swoistość, ponieważ nie są zależne od częstości występowania.

	<p>Iloraz prawdopodobieństwa wystąpienia pozytywnego wyniku przy użyciu zestawu <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit w przypadku rozpoznania PV w ramach kryteriów diagnostycznych WHO wyniósł 0,06 (95-procentowy CI: 0,02; 0,18), co wskazuje, że prawdopodobieństwo uzyskania negatywnego wyniku względem mutacji JAK2 V617F jest dużo niższe wśród pacjentów z PV w porównaniu do pacjentów, u których nie występuje PV.</p>
<p>Spójność pomiarowa</p>	
<p>Spójność pomiarowa przypisanych wartości</p>	<p>Spójność pomiarowa wartości przypisanych kalibratorom i materiałom kontrolnym, w tym oznaczenie zastosowanych materiałów referencyjnych lub referencyjnych procedur pomiarowych wyższego rzędu oraz informacje dotyczące maksymalnych (samodzielnie dopuszczonych) różnic pomiędzy partiami podawane z odpowiednimi danymi i jednostkami miar.</p> <p>1. międzynarodowy panel referencyjny WHO dla genomowego materiału JAK2 V617F (kod panelu wg NIBSC: 16/120) został opracowany w 2016 roku przez komitet Expert Committee on Biological Standardization Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) (patrz dokument organizacji WHO WHO/BS/2016.2293).</p> <p>Panel zawiera siedem liofilizowanych materiałów ludzkiego genomowego DNA utworzonych poprzez połączenie genomowego DNA uzyskanego z próbek zawierających allel typu dzikiego genu JAK2 i linii komórkowych z mutacją JAK2 V617F, co pozwoliło na otrzymanie wzorców zawierających istotne kliniczne poziomy mutacji JAK2 V617F wyrażone jako odsetek całkowitej liczby kopii genu JAK2, od 0% do 100%. Patrz www.nibsc.org/science_and_research/advancedtherapies/genomic_reference_materials/jak_2_v617f_(who).aspx</p>

	<p>i Sanzone AP et al. (2016) <i>Collaborative study to evaluate the proposed WHO 1st International Reference Panel for Genomic JAK2 V617F</i>.</p> <p>Zestaw <i>ipsogen</i>[®] JAK2 RGQ PCR Kit nie zawiera tego panelu ani kalibratorów z przypisanymi wartościami (otrzymanymi na podstawie tego materiału wzorcowego). Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit zawiera materiały kontrolne, ale nie otrzymano ich na podstawie materiału referencyjnego organizacji WHO. Dlatego raport dotyczący spójności pomiarowej nie jest dostępny.</p> <p>Mimo to zgodność wyników uzyskanych za pomocą zestawu <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit z uzgodnionymi wartościami z panelu została oceniona i potwierdzona:</p> <p>To badanie zostało opisane w dokumencie <i>ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit — Instrukcja użycia (Instrukcja obsługi)</i>.</p>
<p>Sugerowany profil i szkolenie użytkowników</p>	
<p>Profil użytkownika</p>	<p>Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit jest przeznaczony do użytku profesjonalnego. Produkt może być używany wyłącznie przez profesjonalnych użytkowników odpowiednio przeszkolonych w zakresie technik biologii molekularnej i zaznajomionych z technologią wykorzystywaną w wyrobie. Procedurę użycia wyrobu należy wykonywać w laboratoriach biologii molekularnej.</p>

<p>Szkolenie użytkownika</p>	<p>Produkt może być używany wyłącznie przez profesjonalnych użytkowników odpowiednio przeszkolonych w zakresie technik biologii molekularnej i zaznajomionych z technologią wykorzystywaną w wyrobie. Procedurę użycia wyrobu należy wykonywać w laboratoriach biologii molekularnej.</p>
<p>Ryzyka i ostrzeżenia</p>	
<p>Ryzyka resztkowe i niepożądane efekty</p>	<p>Istotne ryzyka resztkowe zostały zidentyfikowane i przedstawione użytkownikowi w postaci ostrzeżeń i środków ostrożności w części dokumentu <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit — Instrukcja użycia:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Ryzyko skażenia <p>Informacje znajdują się w sekcjach „Reakcja qPCR w aparacie Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM z rotorem na 72 probówek” oraz „Środki ostrożności” Instrukcji użycia.</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Zachować szczególną ostrożność, aby zapobiec zanieczyszczeniu spowodowanemu przeniesieniem DNA lub produktów reakcji PCR, które mogą spowodować otrzymanie fałszywie pozytywnego sygnału. ○ Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego próbek i odczynników, w każdym kroku pipetowania używać świeżych, odpornych na aerozole końcówek do pipet. ○ Należy zwrócić uwagę na to, aby zmieniać końcówki pomiędzy poszczególnymi probówkami, aby uniknąć zanieczyszczenia nieswoistą matrycą lub mieszaniną reakcyjną, a co za tym idzie, fałszywie pozytywnych wyników. Najpierw należy dodawać badane próbki, a następnie wzorce i kontrole.

	<ul style="list-style-type: none"> ○ Należy zachować szczególną ostrożność, aby zapobiec zanieczyszczeniu mieszanin materiałami syntetycznymi, które znajdują się we wzorcach ilościowych allelu MT genu JAK2 i allelu WT genu JAK2 oraz kontrolach zmutowanego genu JAK2 i allelu WT genu JAK2. ● Ryzyko degradacji odczynników zawartych w zestawie prowadzącej do niepowodzenia reakcji qPCR Informacje znajdują się w sekcji „Reakcja qPCR w aparacie Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM z rotorem na 72 probówek” > „Procedura” > „Konfiguracja eksperymentu z wykorzystaniem reakcji qPCR” Instrukcji użycia. Ważne: Aby uniknąć rozkładu materiału, krok rozmrażania nie powinien trwać dłużej niż 30 minut. ● Ryzyko nieprawidłowego ustawienia probówki w rotorze prowadzącego do zafalszowania wyników Informacje znajdują się w sekcji „Przetwarzanie próbek w aparacie Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM z rotorem na 72 probówki” Instrukcji użycia. Ważne: Probówki należy włożyć do rotora w sposób przedstawiony na Ryc. 6 w dokumencie <i>ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit — Instrukcja użycia</i>, ponieważ zautomatyzowana analiza skonfigurowana w profilu oznaczenia jest oparta na tym układzie. W przypadku zastosowania innego układu zostaną uzyskane wyniki odbiegające od normy.
<p>Ostrzeżenia i środki ostrożności</p>	<p>Należy pamiętać, że może być wymagane zapoznanie się z lokalnymi przepisami dotyczącymi zgłaszania poważnych incydentów, które wystąpiły w związku z wyrobem, producentowi i/lub jego upoważnionemu przedstawicielowi oraz właściwemu organowi państwa, którego rezydentem jest użytkownik i/lub pacjent.</p>

Informacje dotyczące bezpieczeństwa

Podczas pracy z substancjami chemicznymi zawsze należy nosić odpowiedni fartuch laboratoryjny, rękawiczki jednorazowe i okulary ochronne. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z odpowiednimi kartami charakterystyki (Safety Data Sheets, SDS). Są one dostępne online w wygodnym i kompaktowym formacie PDF pod adresem www.qiagen.com/safety. Na tej stronie można wyszukiwać, wyświetlać i drukować karty charakterystyki dla wszystkich zestawów i składników zestawów firmy QIAGEN.

- Próbki są potencjalnie zakaźne. Pozostałości próbek i odczynników używanych do oznaczenia należy utylizować zgodnie z lokalnymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa.

PRZESTROG



NIE dolewać wybielacza ani roztworów kwasowych bezpośrednio do odpadów próbek lub odpadów powstałych po przygotowaniu próbek.

Informacje dotyczące nagłych przypadków

- CHEMTREC
Poza Stanami Zjednoczonymi i Kanadą: +1 703-527-3887

Środki ostrożności

- Podczas wykonywania testów z wykorzystaniem reakcji qPCR wymagane jest przestrzeganie dobrych praktyk laboratoryjnych, w tym dotyczących konserwacji sprzętu, właściwych dla zastosowań biologii molekularnej i zgodnych z obowiązującymi przepisami i właściwymi normami.

- Ten zestaw jest przeznaczony do diagnostyki in vitro. Odczynniki i instrukcje dostarczone w tym zestawie zostały zwalidowane w celu zapewnienia optymalnej skuteczności.
- Test jest przeznaczony do stosowania z próbkami krwi pełnej antykoagulowanymi solą potasową EDTA (K₂-EDTA) i przechowywanymi przed izolacją DNA w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 96 godzin.
- Wszystkie środki chemiczne i materiały biologiczne są potencjalnie niebezpieczne. Próbki są potencjalnie zakaźne i należy je traktować jako materiały stwarzające zagrożenie biologiczne.
- Pozostałości próbek i odczynników używanych do oznaczenia należy utylizować zgodnie z lokalnymi procedurami dotyczącymi bezpieczeństwa.
- Odczynniki zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit są optymalnie rozcieńczone. Nie należy bardziej rozcieńczać odczynników, ponieważ może to doprowadzić do utraty ich skuteczności.
- Nie stosować objętości reakcyjnych (mieszanina reakcyjna i próbka łącznie) mniejszych niż 25 µl.
- Wszystkie odczynniki dostarczone w zestawie *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit są przeznaczone do stosowania wyłącznie z odczynnikami z tego samego zestawu. Nie należy zastępować żadnego odczynnika z jednego zestawu tym samym odczynnikiem z innego zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, nawet jeśli są one z tej samej partii, gdyż może to wpłynąć na działanie zestawu.
- Aby uzyskać dodatkowe informacje na temat ostrzeżeń, środków ostrożności oraz procedur, należy zapoznać się z dokumentami *Podręcznik użytkownika aparatu Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*, *Podręcznik użytkownika aplikacji*

podstawowej oprogramowania Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application, Podręcznik użytkownika narzędzia Gamma Plug-In oraz podręcznikiem użytkownika aparatu QIA Symphony SP.

- Zmiana czasów i temperatur inkubacji może spowodować otrzymanie błędnych lub sprzecznych danych.
- Nie należy używać składników, których termin ważności minął lub które były przechowywane w nieprawidłowy sposób.
- Właściwości mieszanin reakcyjnych mogą ulec zmianie pod wpływem światła.
- Należy zachować szczególną ostrożność, aby zapobiec zanieczyszczeniu mieszanin materiałami syntetycznymi, które znajdują się we wzorcach ilościowych allelu MT genu JAK2 i allelu WT genu JAK2 oraz kontrolach zmutowanego genu JAK2 i allelu WT genu JAK2.
- Zachować szczególną ostrożność, aby zapobiec zanieczyszczeniu spowodowanemu przeniesieniem DNA lub produktów reakcji PCR, które mogą spowodować otrzymanie fałszywie pozytywnego sygnału.
- Zachować szczególną ostrożność, aby zapobiec przenoszeniu zanieczyszczenia w postaci DNaz, które mogą spowodować rozkład matrycy DNA.
- Do przygotowania mieszanin reakcyjnych i dodawania matrycy należy używać osobnych pipet przeznaczonych wyłącznie do tych czynności.
- Nie otwierać aparatu Rotor-Gene Q MDx przed zakończeniem reakcji.
- Nie otwierać próbek Rotor-Gene Q po zakończeniu reakcji.

- Zachować ostrożność, aby zapewnić prawidłowe przebadanie próbek, dbając w szczególności o to, by nie dopuścić do nieprawidłowego umieszczenia próbek, błędów podczas ładowania i błędów pipetowania.
- Upewnić się, że próbki są przetwarzane w systematyczny sposób, aby zapewnić prawidłową identyfikację próbek w każdym momencie (zachować identyfikowalność).

W związku z tym zalecane jest przestrzeganie poniższych instrukcji:

- Podczas wykonywania oznaczenia używać sprzętu laboratoryjnego (np. pipet, końcówek do pipet, fiolek reakcyjnych) wolnych od nukleaz i nosić rękawiczki.
- Aby uniknąć zanieczyszczenia krzyżowego próbek i odczynników, w każdym kroku pipetowania używać świeżych, odpornych na aerozole końcówek do pipet.
- Mieszaninę Master Mix do użycia przed reakcją PCR przygotować przy użyciu odpowiednich materiałów (pipet, końcówek itp.) w przeznaczonym do tego celu obszarze, do którego nie są wprowadzane żadne matryce DNA (DNA, plazmid lub produkty reakcji PCR). Matrycę dodawać w oddzielnej strefie (najlepiej w innym pomieszczeniu), używając przeznaczonych do tego celu materiałów (pipet, końcówek itp.).
- Informacje dotyczące rozwiązywania problemów i bezpieczeństwa odnoszące się do zestawów do izolacji QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (nr kat. 61104) i QIAAsymphony DNA DSP Mini Kit (nr kat. 937236) zawierają odpowiednie instrukcje użycia.

- Informacje na temat rozwiązywania problemów związanych z oprogramowaniem Rotor-Gene AssayManager v2.1 zawiera dokument *Podręcznik użytkownika aplikacji podstawowej oprogramowania Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application*.

Ponadto w dokumencie *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit — Instrukcja użycia* znajdują się następujące informacje:

- Sekcja „Przechowywanie i sposób postępowania z odczynnikami”:
„Należy unikać wielokrotnego rozmrażania i zamrażania. Nie przekraczać maksymalnej liczby pięciu cykli zamrażania-rozmrażania”.
- Sekcja „Zautomatyzowana izolacja genomowego DNA za pomocą zestawu QIASymphony DSP DNA Mini Kit”:
„Jeśli kasetę z odczynnikami jest zużyta tylko częściowo, należy zamknąć ją za pomocą dostarczonych pasków Reuse Seal Strip i zamknąć probówki zawierające proteinazę K niezwłocznie po zakończeniu wykonywania protokołu, aby nie dopuścić do parowania”.
- „Ograniczenia”
 - Ten zestaw jest przeznaczony do użytku profesjonalnego.
 - Produkt może być używany wyłącznie przez profesjonalnych użytkowników odpowiednio przeszkolonych w zakresie technik biologii molekularnej i zaznajomionych z technologią wykorzystywaną w wyrobie. Procedurę użycia wyrobu należy wykonywać w laboratoriach biologii molekularnej.

	<ul style="list-style-type: none">○ Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit nie jest wyrobem umożliwiającym wykonanie w pełni zautomatyzowanego oznaczenia, lecz analiza wykonywana przy użyciu zestawu jest wspomagana przez dedykowane oprogramowanie do wykonania zautomatyzowanego oznaczenia ilościowego mutacji.○ Z niniejszego zestawu należy korzystać zgodnie z informacjami zawartymi w dokumencie <i>ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit — Instrukcja użycia</i> w połączeniu ze zwalidowanym aparatem wymienionym w sekcji „Materiały wymagane, ale niedostarczane”.○ Należy zwracać uwagę na daty ważności wydrukowane na etykiecie opakowania i etykietach próbek. Nie używać przeterminowanych elementów.○ Wszystkie odczynniki dostarczone w zestawie <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit są przeznaczone do stosowania wyłącznie z odczynniki z tego samego zestawu. Nieprzestrzeżenie tej wytycznej może wpłynąć na skuteczność zestawu.○ Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit został zwalidowany wyłącznie pod kątem użycia z próbkami ludzkiej obwodowej krwi pełnej antykoagulowanej 2K-EDTA, pobranej od pacjentów z podejrzeniem lub rozpoznaniem nowotworu MPN.○ Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit został zwalidowany wyłącznie do stosowania z zestawem QIAasymphony DNA DSP Mini Kit (nr kat. 937236) lub QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (nr kat. 61104).
--	--

	<ul style="list-style-type: none"> ○ Zestaw <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit został zwalidowany wyłącznie do stosowania z aparatami Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (do reakcji PCR) i QIAAsymphony SP (do przygotowania próbek). ○ Użycie tego produktu niezgodnie z przeznaczeniem i/lub wprowadzenie zmian w jego składnikach spowoduje zniesienie odpowiedzialności firmy QIAGEN. ○ Wszelkie wyniki diagnostyczne należy interpretować w połączeniu z innymi obserwacjami z zakresu patologii klinicznej. Brak mutacji JAK2 V617F/G1849T nie wyklucza obecności innych mutacji genu JAK2. W przypadku obecności dodatkowych mutacji zlokalizowanych w nukleotydach od 88504 do 88622 test może zgłaszać wyniki fałszywie negatywne. ○ Użytkownik jest odpowiedzialny za walidację skuteczności systemu pod kątem wszelkich procedur stosowanych w danym laboratorium, które nie są objęte badaniami skuteczności wykonanymi przez firmę QIAGEN. <ul style="list-style-type: none"> ● „Parametry skuteczności”, „Substancje zakłócające” <ul style="list-style-type: none"> ○ Badanie zostało zaprojektowane zgodnie z wymogami normy EP7-A3 pt. „Interference Testing in clinical Chemistry” instytutu NCCLS. Wybrano łącznie 19 substancji potencjalnie obecnych w próbkach krwi ze względu na ich możliwy wpływ na reakcję PCR (busulfan, bromowodorek cytalopramu, paroksetyna chlorowodoru półwodnego, chlorowodorek sertraliny, chlorowodorek fluoksetyny, acetaminofen [paracetamol], bilirubina niezwiązana, sól potasowa 2K EDTA i 3K EDTA, sól sodowa EDTA, Hgb [ludzka], trójglicerydy, lizynopryl
--	---

dwuwodny, hydroksymocznik, kwas acetylosalicylowy, kwas salicylowy, tiotepa, anagrelid, interferon alfa 2b).

- Oceniono również substancje pochodzące z procesu izolacji DNA (QSL1, QSB1, QSW1, QSW2 i PK pochodzące z zestawu QIASymphony DSP DNA Blood Mini Kit oraz QIAGEN Protease, etanol, AW1 i AW2 pochodzące z zestawu QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit).
- Uzyskane wyniki wskazują, że substancje te nie powodują efektu zakłócającego.

- „Rozwiązywanie problemów”

Sekcja dotycząca rozwiązywania problemów może pomóc w rozwiązaniu problemów związanych z następującymi elementami procedury:

- Przetwarzanie próbek i niepowodzenie
- Błąd w stężeniu DNA
- Nieważna próbka z powodu niskiego stężenia
- Błąd użytkownika zestawu *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit
- Brak sygnału w próbce i kontrolach lub niska jakość sygnału
- Błędy w działaniu aparatu RGQ

W celu uzyskania pomocy technicznej lub szczegółowych informacji należy odwiedzić witrynę naszego Centrum pomocy technicznej pod adresem www.qiagen.com/Support (w celu uzyskania danych kontaktowych należy odwiedzić stronę www.qiagen.com).