

Resumo de segurança e desempenho do *ipsogen*[®] JAK2 RGQ PCR Kit



Versão 2



Para utilização em diagnóstico in vitro

Para utilização com o instrumento Rotor-Gene[®] Q MDx 5plex HRM

Para utilização com o *ipsogen*[®] JAK2 RGQ PCR Kit



0197



674623



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
ALEMANHA



1124396PT

Resumo de segurança e desempenho

Informações gerais e identificação do dispositivo	
Nome ou denominação comercial, incluindo qualquer número de modelo ou versão	<i>ipsogen</i> ® JAK2 RGQ PCR Kit
Fabricante (nome e endereço)	QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 Hilden 40724 Alemanha
Identificação única básica do dispositivo (Unique Device Identification – Device Identifier, UDI-DI)	4053228RJAK2RGQ00000001RJ
Número único de registo (Single Registration Number, SRN) do fabricante, se disponível	DE-MF-000004949

Nomenclatura do dispositivo médico	W01060299 Testes de genes adquiridos ou alteração de cromossomas
Classe do dispositivo	Classe C
Ano em que o dispositivo foi colocado pela primeira vez no mercado da UE	O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (número de catálogo 673623, versão 1), válido sob a diretiva IVD da UE 98/79/CE e a decisão da Comissão 2010/227/UE (IVDD), foi colocado pela primeira vez no mercado da UE em 2014.
Representante autorizado, se aplicável	Não aplicável
Organismo notificado e número único de identificação (Single Identification Number, SIN)	TUV Rheinland; Número do organismo notificado 0197
Finalidade prevista do dispositivo	
Finalidade prevista	O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit é um ensaio de PCR quantitativo in vitro que se destina à deteção e quantificação da mutação JAK2 V617F/G1849T em ADN genómico extraído de sangue total periférico humano anticoagulado com EDTA 2K. Os resultados obtidos com o <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit destinam-se a ser utilizados como um auxiliar na avaliação de suspeita de neoplasma mieloproliferativo (NMP) cromossoma Filadélfia (Ph) negativo e na monitorização de doenças moleculares em pacientes com NMP. Todos os resultados de diagnóstico gerados têm de ser interpretados em conjunto com outros resultados clínico-patológicos.

<p>Indicações e populações alvo</p>	<p>O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit destina-se a ser utilizado no exame de pacientes com suspeita de neoplasma mieloproliferativo (NMP) cromossoma Filadélfia (Ph) negativo e na monitorização de doenças moleculares em pacientes com NMP.</p>
<p>Contraindicações e/ou limitações</p>	<p>O kit destina-se a utilização profissional.</p> <p>O produto deve ser utilizado apenas por profissionais com formação específica, especializados em técnicas de biologia molecular e familiarizados com a tecnologia do dispositivo. O procedimento do dispositivo destina-se a ser implementado num ambiente laboratorial de biologia molecular.</p> <p>O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit destina-se a ser utilizado apenas com o instrumento QIAGEN Rotor-Gene® Q MDx 5plex HRM e outros componentes de fluxo de trabalho validados, conforme descrito nas instruções de utilização. O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit não é um dispositivo automatizado. No entanto, a análise é assistida por um software dedicado para a quantificação automática de mutações.</p> <p>O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit deve ser utilizado segundo as instruções fornecidas nas Instruções de utilização.</p> <p>Deve prestar-se atenção às datas de validade impressas no rótulo da caixa e nos rótulos dos tubos. Não utilizar componentes fora do prazo de validade.</p> <p>Todos os reagentes fornecidos no <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit devem ser utilizados apenas com outros reagentes fornecidos no mesmo kit. O incumprimento desta diretriz poderá afetar o desempenho.</p> <p>O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit está apenas validado para sangue total periférico humano anticoagulado com EDTA 2K colhido de pacientes com NMP suspeito ou detetado.</p>

	<p>O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit está apenas validado para ser utilizado com o QIA Symphony DNA DSP Mini Kit (n.º de cat. 937236) ou o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (n.º de cat. 61104).</p> <p>O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit está apenas validado para utilização com o Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (para PCR) e o QIA Symphony SP (para preparação da amostra).</p> <p>Qualquer outra utilização não indicada deste produto e/ou modificação dos componentes anulará qualquer responsabilidade da QIAGEN.</p> <p>Todos os resultados de diagnóstico gerados têm de ser interpretados em conjunto com outros resultados clínico-patológicos. A ausência da mutação JAK2 V617F/G1849T não exclui a presença de outras mutações de JAK2. O teste pode indicar resultados falso-negativos em caso de mutações adicionais localizadas nos nucleótidos 88504 a 88622.</p> <p>O utilizador é responsável por validar o desempenho do sistema quanto a quaisquer procedimentos utilizados no seu laboratório que não estejam abrangidos pelos estudos de desempenho da QIAGEN.</p>
<p>Descrição do dispositivo</p>	
<p>Descrição do dispositivo</p>	<p>a) Descrição geral do dispositivo, incluindo a sua finalidade prevista e utilizadores previstos</p> <p>O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit é um ensaio de PCR quantitativo in vitro que se destina à deteção e quantificação da mutação JAK2 V617F/G1849T em ADN genómico extraído de sangue total periférico humano anticoagulado com EDTA 2K.</p>

Os resultados obtidos com o *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit destinam-se a ser utilizados como um auxiliar na avaliação de suspeita de neoplasma mieloproliferativo (NMP) cromossoma Filadélfia (Ph) negativo e na monitorização de doenças moleculares em pacientes com NMP. Todos os resultados de diagnóstico gerados têm de ser interpretados em conjunto com outros resultados clínico-patológicos.

○ kit destina-se a utilização profissional.

○ produto deve ser utilizado apenas por profissionais com formação específica, especializados em técnicas de biologia molecular e familiarizados com a tecnologia do dispositivo. O procedimento do dispositivo destina-se a ser implementado num ambiente laboratorial de biologia molecular.

b) Descrição do princípio do método de ensaio ou princípios de operação do instrumento;

○ *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit explora o princípio de hidrólise de oligonucleotídeos qPCR associado a uma técnica de Sistema de amplificação refratário de mutações (Amplification Refractory Mutation System, ARMS), que é um método simples para detetar qualquer mutação que envolva uma única mudança de base (também chamado de Polimorfismo de nucleótido único [Single Nucleotide Polymorphism, SNP]). A reação em cadeia da polimerase utiliza originalmente primers diretos e reversos que se hibridizam numa sequência específica de ADN ou sequência alvo para a amplificar. A técnica de ARMS baseia-se na utilização de primers de PCR de sequência específica que permitem a amplificação do ADN de teste apenas quando o alelo alvo está contido dentro da amostra. O princípio de hidrólise de oligonucleotídeos da qPCR é baseado num oligonucleótido ligado ao corante (também chamado de sonda) que está contido na mistura qPCR. Esta sonda, que consiste num oligonucleótido marcado com um corante repórter 5' e um supressor sem corante 3' a jusante, hibridiza-se numa sequência alvo dentro do produto da PCR. A análise de qPCR com sondas de hidrólise explora a atividade exonuclease 5'→3' da polimerase de ADN de *Thermus aquaticus* (*Taq*).

Quanto a sonda está intacta, a proximidade do corante repórter ao supressor resulta na supressão da fluorescência do corante repórter, principalmente por transferência de energia por ressonância de Förster. Durante a PCR, se o alvo de interesse estiver presente, os primers direto e reverso hibridizam e flanqueiam especificamente a sonda. A atividade de exonuclease 5'→3' da polimerase de ADN faz a clivagem da sonda entre o supressor e corante repórter, levando à emissão de fluorescência do repórter. Este processo ocorre em cada ciclo e não interfere com a acumulação exponencial de produto. Assim, o aumento da fluorescência é diretamente proporcional à amplificação do alvo durante a PCR. Na qPCR, o número de ciclos de PCR necessários para detetar um sinal acima do limiar é designado ponto de passagem (Crossing point, Cp) ou limiar de ciclo (Cycle threshold, Ct) e é diretamente proporcional à quantidade de alvo presente no início da reação.

c) Fundamentação para qualificar o produto como um dispositivo e classe de risco do dispositivo (excerto do documento de estratégia regulamentar);

O *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* é um kit de reagentes destinado a ser utilizado em conjunto com um instrumento de real-time PCR (instrumento QIAGEN Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM) para o exame de espécimes derivados do corpo humano com o objetivo de fornecer informações sobre um processo ou estado patológico (auxiliar na avaliação e monitorização da resposta molecular do PH(-) NMP). Assim, o produto está em conformidade com a definição de um dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*, tal como consta no RDIV. A mutação JAK2 V617F faz parte do algoritmo de diagnóstico e pode também ser um biomarcador de seguimento de Neoplasmas Mieloproliferativos (NMP) que são a Policitemia Vera (PV), a Mielofibrose Primária (MFP) e a Trombocitêmia Essencial (TE). Logo, a classe de risco do produto é C, de acordo com o RDIV.

d) Descrição dos componentes do dispositivo.

O *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit contém os seguintes componentes:

Número do material	Nome/descrição do componente	Quantidade por kit em número de tubos (volume)
1073859	Mistura de reação de mutante de JAK2 Oligonucleotídeos para a deteção do alelo mutante (mutant, MT) e do controlo interno, tampão de PCR, MgCl ₂ , dNTP <i>O controlo de amplificação interno incluído nas misturas de reação é utilizado para monitorizar a inibição da qPCR e para excluir a falha da reação de PCR em caso de resultados negativos.</i>	1 (1010 µl)
1073856	Mistura de reação de tipo selvagem de JAK2 Oligonucleotídeos para a deteção do alelo de tipo selvagem (wild-type, WT) e do controlo interno, tampão de PCR, MgCl ₂ , dNTP <i>O controlo de amplificação interno incluído nas misturas de reação é utilizado para monitorizar a inibição da qPCR e para excluir a falha da reação de PCR em caso de resultados negativos.</i>	1 (1010 µl)
1073892	Polimerase Taq de ADN (HotStarTaq® 5 unidades/µl)	1 (85 µl)
1073865	Controlo de tipo selvagem de JAK2 (100% alelo de tipo selvagem) (ADN de linha celular com 100% de alelo do tipo selvagem, controlo de amplificação)	1 (33 µl)
1073862	Controlo de mutante de JAK2 (100% alelo V617F) (ADN de linha celular com 100% de alelo V617F, controlo de amplificação)	1 (33 µl)

Continuação da tabela na página seguinte

Continuação da tabela da página anterior

Número do material	Nome/descrição do componente	Quantidade por kit em número de tubos (volume)
1095204.1 a .4 (Conjunto de padrões de quantificação de tipo selvagem de JAK2: QS1 a QS4)	Padrão quant. 1 de tipo selvagem de JAK2 (5×10^1 cópias de tipo selvagem/5 μ l)	1 (20 μ l)
	Padrão quant. 2 de tipo selvagem de JAK2 (5×10^2 cópias de tipo selvagem/5 μ l)	1 (20 μ l)
	Padrão quant. 3 de tipo selvagem de JAK2 (5×10^3 cópias de tipo selvagem/5 μ l)	1 (20 μ l)
	Padrão quant. 4 de tipo selvagem de JAK2 (5×10^4 cópias de tipo selvagem/5 μ l)	1 (20 μ l)
1095205.1 a .4 (Conjunto de padrões de quantificação de mutante de JAK2: QS1 a QS4)	Padrão quant. 1 de mutante de JAK2 (5×10^1 cópias de V617F/5 μ l)	1 (20 μ l)
	Padrão quant. 2 de mutante de JAK2 (5×10^2 cópias de V617F/5 μ l)	1 (20 μ l)
	Padrão quant. 3 de mutante de JAK2 (5×10^3 cópias de V617F/5 μ l)	1 (20 μ l)
	Padrão quant. 4 de mutante de JAK2 (5×10^4 cópias de V617F/5 μ l)	1 (20 μ l)
1067627	Água para controlo sem modelo (No Template Control, NTC) (água isenta de nuclease)	1 (1,9 ml)
1073894	Tampão TE (Tris EDTA) para diluição de amostras	1 (1,9 ml)

Os padrões de quantificação de mutante de JAK2 (QS1 a QS4) são diluições em série de plasmídeos portadores da sequência de alelos V617F.

Os padrões de quantificação de tipo selvagem de JAK2 (QS1 a QS4) são diluições em série de plasmídeos portadores da sequência de alelos de tipo selvagem (Wild-type, WT).

e) **Descrição do espécime recolhido e do material de transporte fornecido com o dispositivo;**

Não são fornecidos materiais de recolha nem de transporte de espécimes com o dispositivo.

f) Para instrumentos de ensaios automatizados: descrição das características de ensaio adequadas ou ensaios dedicados;

O *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit não é um ensaio automatizado. No entanto, a análise é assistida por um conjunto de software dedicado.

g) Para ensaios automatizados: descrição das características de instrumentação apropriadas ou instrumentação dedicada;

O *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit não é um ensaio automatizado. No entanto, a análise é assistida por um conjunto de software dedicado.

h) Descrição de qualquer software a ser utilizado com o dispositivo;

O *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit destina-se a ser utilizado apenas com o instrumento QIAGEN Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM e outros componentes de fluxo de trabalho validados, conforme descrito nas instruções de utilização.

O *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit não é um dispositivo automatizado. Contudo, a análise é assistida por um software dedicado: o software Rotor-Gene AssayManager®, versão 2.1.x ($x \geq 0$), com o Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in, versão 1.0.x ($x \geq 0$) e o perfil de ensaio *ipsogen* _JAK2_blood_CE_IVDR (AP_*ipsogen*_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_0_x.iap [$x \geq 1$]).

i) Descrição ou lista completa das várias configurações ou versões do dispositivo que se destinam a ser disponibilizadas no mercado;

Não existe atualmente qualquer versão do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (674623) que esteja planeada para ser comercializada na União Europeia.

j) Descrição dos acessórios para o dispositivo, outros dispositivos e outros produtos que não são dispositivos, que se destinam a ser utilizados em conjunto com o dispositivo.

Não existe atualmente qualquer acessório concebido para o *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. Este kit é um conjunto de reagentes pronto a utilizar.

Os utilizadores do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit irão precisar do seguinte equipamento e materiais necessários, mas não fornecidos com o Kit, de forma a realizar todo o fluxo de trabalho:

- Consumíveis e reagentes para extracção manual de ADN
 - QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit (n.º de cat. 61104)
 - Etanol (96–100%)
Nota: Não utilize álcool desnaturado, pois este contém outras substâncias como metanol ou butanona.
- Consumíveis e reagentes para extração automatizada de ADN
 - QIASymphony DSP DNA Mini Kit (n.º de cat. 937236)
 - Sample Prep Cartridges, 8-well (n.º de cat. 997002)
 - 8-Rod Covers (n.º de cat. 997004)
 - Filter-Tips, 1500 µl (n.º de cat. 997024)
 - Filter-Tips, 200 µl (n.º de cat. 990332)
 - Elution Microtubes CL (n.º de cat. 19588)
 - Tip disposal bags (n.º de cat. 9013395)
 - Micro tubes 2.0 ml Type H (Sarstedt®, n.º de cat. 72.694, www.sarstedt.com)
- Consumíveis e reagentes para PCR
 - Pontas de pipeta de PCR, estéreis, sem nuclease e resistentes a aerossóis com filtros hidrofóbicos
 - Tubos de PCR de 1,5 ml ou 2,0 ml isentos de nuclease
 - Strip Tubes and Caps, 0.1 ml para Rotor-Gene Q (n.º de cat. 981103 ou 981106)
 - Gelo
- Equipamento

	<ul style="list-style-type: none"> ○ Pipetas ajustáveis* dedicadas para PCR (1–10 µl; 10–100 µl; 100–1000 µl) ○ Luvas descartáveis ○ Agitador de vórtex ○ Bloco de aquecimento para lise de amostras a 56 °C ○ Centrífuga de bancada* com rotor de tubos de reação de 0,5/1,5/2,0 ml (capaz de atingir 13 000–14 000 rpm) ○ Espectrofotômetro* <ul style="list-style-type: none"> ● Equipamento para preparação da amostra <ul style="list-style-type: none"> ○ Instrumento QIASymphony SP* (n.º de cat. 9001297), versão de software 4.0 ou posterior, acessórios fornecidos e protocolo Blood_200_V7_DSP (ou versão posterior) ○ Tube Insert 3B (transportador de amostra (samplecarr.) de 2,0 ml v2, com inserto) (24), Qsym, n.º de cat. 9242083) ● Equipamento para real-time PCR <ul style="list-style-type: none"> ○ Instrumento de real-time PCR*: Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform (n.º de cat. 9002032) ou Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System (n.º de cat. 9002033) e acessórios fornecidos ○ Rotor-Gene AssayManager®, versão de software 2.1.x (x≥0) instalado ○ Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in, versão 1.0.x (x≥0) instalado ○ Perfil de ensaio ipsogen _JAK2_blood_CE_IVDR importado (AP_ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_2_x.iap [x≥1])
--	--

* Antes de utilizar, certifique-se de que os instrumentos foram verificados e calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

Referência às gerações ou versões anteriores do dispositivo (se aplicável) e uma descrição das diferenças

O *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (número de catálogo 673623, versão 1), válido sob a diretiva IVD da UE 98/79/CE e a decisão da Comissão 2010/227/UE (IVDD), foi colocado pela primeira vez no mercado da UE em 2014.

O *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (número de catálogo 674623) é uma Versão 2 que foi submetida a um programa para assegurar a conformidade com o Regulamento para dispositivos de diagnóstico in vitro UE/2017/746 (RDIV).

Em ambos os kits 673623 e 674623, os componentes são idênticos e ambos os kits são tecnicamente semelhantes com uma análise assistida por um software para quantificação automática das mutações. Foi gerado um perfil de ensaio dedicado ao *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, número de catálogo 674623, com base na versão atual dedicada ao *ipsogen*[®] JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE, número de catálogo 673623.

Em comparação com as instruções de utilização do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (número de catálogo 673623), as instruções de utilização do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (número de catálogo 674623) possuem as melhorias listadas abaixo para cumprir com os requisitos do RDIV:

- Declaração de Utilização prevista e Utilizador previsto detalhada e especificada
- Os protocolos foram reorganizados e complementados com instruções e ilustrações adicionais para melhorar a compreensão
- As alegações de estabilidade do ADN genómico e de estabilidade na utilização foram atualizadas
- As características de desempenho foram atualizadas e complementadas com dados adicionais (analíticos e clínicos)
- Foi adicionada uma referência ao documento de resumo de segurança e desempenho

Os símbolos foram atualizados e complementados com rótulos adicionais.

<p>Descrição dos acessórios destinados a ser utilizados em conjunto com o dispositivo (se aplicável)</p>	<p>Não aplicável.</p>
<p>Descrição de outros dispositivos e produtos destinados a ser utilizados em conjunto com o dispositivo (se aplicável)</p>	<p>Não existe atualmente qualquer acessório concebido para o <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit. Este kit é um conjunto de reagentes pronto a utilizar.</p> <p>Os utilizadores do <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit irão precisar do seguinte equipamento e materiais necessários, mas não fornecidos com o Kit, de forma a realizar todo o fluxo de trabalho:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Consumíveis e reagentes para extracção manual de ADN <ul style="list-style-type: none"> ○ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (n.º de cat. 61104) ○ Etanol (96–100%) <p>Nota: Não utilize álcool desnaturado, pois este contém outras substâncias como metanol ou butanona.</p> ● Consumíveis e reagentes para extração automatizada de ADN <ul style="list-style-type: none"> ○ QIASymphony DSP DNA Mini Kit (n.º de cat. 937236) ○ Sample Prep Cartridges, 8-well (n.º de cat. 997002) ○ 8-Rod Covers (n.º de cat. 997004) ○ Filter-Tips, 1500 µl (n.º de cat. 997024) ○ Filter-Tips, 200 µl (n.º de cat. 990332) ○ Elution Microtubes CL (n.º de cat. 19588) ○ Tip disposal bags (n.º de cat. 9013395)

	<ul style="list-style-type: none"> ○ Micro tubes 2.0 ml Type H (Sarstedt, n.º de cat. 72.694, www.sarstedt.com) ● Consumíveis e reagentes para PCR <ul style="list-style-type: none"> ○ Pontas de pipeta de PCR, estéreis, sem nuclease e resistentes a aerossóis com filtros hidrofóbicos ○ Tubos de PCR de 1,5 ml ou 2,0 ml isentos de nuclease ○ Strip Tubes and Caps, 0.1 ml para Rotor-Gene Q (n.º de cat. 981103 ou 981106) ○ Gelo ● Equipamento <ul style="list-style-type: none"> ○ Pipetas ajustáveis* dedicadas para PCR (1–10 µl; 10–100 µl; 100–1000 µl) ○ Luvas descartáveis ○ Agitador de vórtex ○ Bloco de aquecimento para lise de amostras a 56 °C ○ Centrífuga de bancada* com rotor de tubos de reação de 0,5/1,5/2,0 ml (capaz de atingir 13 000–14 000 rpm) ○ Espectrofotómetro* ● Equipamento para preparação da amostra <ul style="list-style-type: none"> ○ Instrumento QIASymphony SP* (n.º de cat. 9001297), versão de software 4.0 ou posterior, acessórios fornecidos e protocolo Blood_200_V7_DSP (ou versão posterior) ○ Tube Insert 3B (transportador de amostra (samplecarr.) de 2,0 ml v2, com inserto) (24), Qsym, n.º de cat. 9242083)
--	--

* Antes de utilizar, certifique-se de que os instrumentos foram verificados e calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

- Equipamento para real-time PCR
 - Instrumento de real-time PCR*: Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform (n.º de cat. 9002032) ou Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System (n.º de cat. 9002033) e acessórios fornecidos
 - Rotor-Gene AssayManager, versão de software 2.1.x (x≥0) instalado
 - Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in, versão 1.0.x (x≥0) instalado
 - Perfil de ensaio ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR importado (AP_ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_2_x.iap [x≥1])

Referência de normas

Normas harmonizadas e Especificações comuns (Common Specifications, CS) aplicadas

Não existem normas harmonizadas no âmbito do RDIV. A tabela abaixo mostra as normas utilizadas para o desenvolvimento do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit.

Nome da norma	Título da norma
EN ISO 13485:2016	Dispositivos médicos – Sistemas de gestão da qualidade – Requisitos para fins regulatórios (ISO 13485:2016)
EN ISO 14971:2019	Dispositivos médicos – Gestão de risco em dispositivos médicos
EN ISO 15223-1:2016	Dispositivos médicos – Símbolos a utilizar com rótulos de dispositivos médicos, rotulagem e informação a fornecer – Parte 1: Requisitos gerais
EN ISO 18113-1:2011	Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro – Informações fornecidas pelo fabricante (rotulagem) – Parte 1: Termos, definições e requisitos gerais
EN ISO 18113-2:2011	Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro – Informações fornecidas pelo fabricante (rotulagem) – Parte 2: Reagentes de diagnóstico in vitro para utilização profissional
EN ISO 23640:2015	Dispositivos médicos de diagnóstico in vitro – Avaliação da estabilidade dos reagentes de diagnóstico in vitro (ISO 23640:2011)
EN 62304:2006	Software de dispositivos médicos – Processos do ciclo de vida do software (IEC 62304:2006)
EN 62366:2008	Dispositivos médicos – Aplicação da engenharia de usabilidade a dispositivos médicos (IEC 62366:2007)

Resumo da avaliação do desempenho e acompanhamento do desempenho pós-comercialização

Resumo da avaliação do desempenho e acompanhamento do desempenho pós-comercialização

A avaliação do desempenho verifica a validade científica, o desempenho analítico e, onde apropriado, o desempenho clínico do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit para permitir um processo estruturado e transparente que gera dados fiáveis e estudos robustos.

A avaliação da validade científica baseou-se numa revisão sistemática da literatura, na avaliação de dados disponíveis/obtidos/novos relevantes para o *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, na sua finalidade prevista e em opiniões/posições consensuais de especialistas a partir de diretrizes internacionais. Os dados aqui apresentados demonstram a validade científica do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit para a sua utilização prevista.

O desempenho analítico foi demonstrado com base nas investigações que alcançaram os indicadores de desempenho solicitados: Limite de branco (Limit of Blank, LoB), Limite de deteção (Limit of Detection, LoD) e Limite de Quantificação (Limit of Quantitation, LoQ), precisão (repetibilidade e reprodutibilidade), linearidade, substâncias interferentes, contaminação cruzada, exatidão e testagem PCR do JAK2 pelo painel 16/120 da OMS (concordância, veracidade e exatidão) intervalo de medição, estabilidade/manuseamento de espécimes, critérios de aceitação para a quantificação de ADN, comparação de extração manual e automática, verificação da usabilidade, uso de amostras artificiais e verificação do perfil de ensaio. A avaliação destas fontes mostrou que o desempenho analítico do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit é adequado à sua utilização prevista e garante uma utilização segura para o fim, utilizador e grupo de pacientes previstos.

O desempenho clínico foi demonstrado com base numa revisão sistemática da literatura e em estudos de desempenho clínico, demonstrando indicadores de desempenho clínico para exatidão/concordância: VPP, VPN, sensibilidade diagnóstica, especificidade, razão de probabilidade utilizando os dados do estudo de desempenho clínico e PPA e NPA utilizando os dados do estudo de exatidão analítica e do estudo de desempenho clínico. Foi também avaliada a experiência adquirida através de testes diagnósticos de rotina. A avaliação destas fontes mostrou que o desempenho clínico do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit é adequado à sua utilização prevista e garante uma utilização segura para o fim, utilizador e grupo de pacientes previstos.

○ sistema de avaliação pós-comercialização visa confirmar a segurança, desempenho e validade científica do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit ao longo da sua vida útil esperada, para assegurar a aceitabilidade contínua da relação benefício/risco, para detetar riscos emergentes com base em provas factuais, e determinar, aplicar, e avaliar qualquer ação preventiva e corretiva.

○ acompanhamento do desempenho pós-comercialização visa confirmar a segurança, desempenho e validade científica do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit durante a vida útil esperada do dispositivo, para assegurar a aceitabilidade contínua da relação benefício/risco e para detetar riscos emergentes com base em provas factuais.

○ objetivo é verificar a segurança e o desempenho clínico ao longo da vida útil esperada, identificar riscos anteriormente desconhecidos ou limites ao desempenho e contra-indicações, identificar e analisar riscos emergentes com base em provas factuais, assegurar a aceitabilidade contínua da evidência clínica e a relação benefício/risco, e identificar uma possível má utilização sistemática. Serão recolhidos os seguintes dados de acompanhamento do desempenho pós-comercialização.

A experiência clínica adquirida relacionada com as tendências será recolhida com base em dados gerados a partir de estudos pós-comercialização (promovidos pela empresa ou iniciados por investigadores), e de registos de pacientes com dados e provas do mundo real (Real World Data and Evidence, RWD/RWE), quando aplicável.

Parecer dos utilizadores (profissionais de saúde, líderes de opinião clínicos, e profissionais de laboratório), distribuidores e importadores a partir de inquéritos, dados publicados sobre as perspetivas dos utilizadores, e vendas e formação.

	<p>Avaliação da literatura científica após uma pesquisa bibliográfica sobre o dispositivo e dispositivos semelhantes e equivalentes, novas diretrizes técnicas ou médicas.</p> <p>Informação sobre registros, históricos e relatórios de casos técnicos ou especializados revistos e avaliados pela QIAGEN.</p> <p>Estudos epidemiológicos na qualidade de estudos observacionais pós-comercialização para recolher informações sobre o desempenho do dispositivo.</p> <p>O acompanhamento do desempenho pós-comercialização será atualizado anualmente para integrar novos dados e resultados, estudos pós-comercialização, referências a normas harmonizadas de Especificações comuns relevantes consultadas e orientações relevantes do acompanhamento do desempenho pós-comercialização.</p> <p>Resultados pré-especificados podem desencadear tarefas e atividades adicionais. Os estímulos pré-especificados para atividades de acompanhamento do desempenho pós-comercialização baseiam-se no seu impacto nas alegações de produtos e no risco de benefício e podem incluir reclamações de clientes, emergência de dados de publicações, programas externos de avaliação da qualidade e outros registros.</p>
<p>Resumo do desempenho analítico</p>	<p>Limite de branco</p> <p>O limite de branco (Limit of Blank, LoB) foi determinado mediante o seguimento da norma CLSI/NCCLS EP17-A2, em 30 amostras de sangue total de doadores saudáveis com um estado de JAK2 de tipo selvagem (Wild-type, WT), utilizando três lotes de reagentes (120 medições/lote).</p>

Resumo dos resultados do LoB

	LoB medido	Limite de branco final
Lote 1	0%	
Lote 2	0%	0%
Lote 3	0%	

Isto corresponde ao valor esperado numa população normal utilizando o *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit.

Limite de deteção

O limite de deteção (Limit of Detection, LoD), ou sensibilidade analítica, foi determinado com base na "abordagem Probit" descrita na norma CLSI/NCCLS EP17-A2. Neste estudo, foram analisados 6 níveis baixos de mutação de 3 amostras independentes (ADN de sangue total de NMP fortificado com ADN de sangue total de tipo selvagem [wild-type, WT]), com 3 lotes e 60 medições por amostra e por mutação. Os resultados obtidos indicaram que a sensibilidade analítica é de 0,042% para mutação JAK2 V617F.

Resumo dos resultados do LoD

	LoD medido	Limite de deteção final
Lote 1	0,041%	
Lote 2	0,029%	0,042%
Lote 3	0,042%	

Limite de quantificação

A definição e a determinação do limite de quantificação (Limit of Quantitation, LoQ) foram baseadas na diretriz CLSI/NCCLS EP17-A2. O LoQ foi definido como o nível de percentagem de mutação JAK2 V617F

mais baixo que pode ser distinguido com exatidão a partir do LoD do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit com um intervalo de confiança de 95% (risco de $\alpha = 0,05$). Os dados do estudo de repetibilidade num único centro foram utilizados para calcular o LoQ do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. Os resultados obtidos indicam que o limite de quantificação (Limit of Quantitation, LoQ) é de 0,233% da mutação JAK2 V617F.

No contexto da monitorização de doenças moleculares, isto implica que se a percentagem da mutação JAK2 V617F medida for inferior a 0,233% num dado momento, uma redução da carga do alelo JAK2 V617F não pode ser quantificada de forma fiável no momento seguinte.

Linearidade

A linearidade da quantificação da mutação de JAK2 em pacientes com NMP foi avaliada de acordo com a norma CLSI/NCCLS EP06AE, com um lote do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit e com testes em 11 níveis de mutação para cinco entradas de ADN diferentes. A quantificação da carga de mutação de JAK2 em amostras de NMP é linear; ou seja, o *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit quantifica amostras desde o valor do LoD até 100% de mutação, o que corresponde aos valores esperados na população afetada, desde que a concentração da amostra quantificada esteja perto de 10 ng/ μ l (entre 5 e 20 ng/ μ l).

Repetibilidade e reprodutibilidade

A estrutura do estudo de precisão num único centro cumpre os requisitos da norma CLSI/NCCLS EP5-A3. Foram realizados testes em 11 níveis de mutação, de 0,07% a 72,67%, utilizando diluições em série de uma amostra clínica de um paciente com NMP. Para cada nível de mutação, foram obtidas 108 medições por três operadores durante 27 dias (duas

réplicas por execução e duas execuções por dia), utilizando três lotes de *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit e três instrumentos Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. A precisão para o nível de 100% é expressa por comparação com a precisão determinada para o nível de 72,67%, com base em análises de tendência apoiadas por dados adicionais obtidos numa amostra de 100% de JAK2 V617F constituída por ADN da linha celular MUTZ-8 (38 medições).

Resultados de precisão: repetibilidade (estudo num único centro)

Amostra	Percentagem média de mutação de JAK2	DP _{R+}	DP _{EXECUÇÃO++}	DP _{TOTAL+++}	CV _{TOTAL}
S0	100	N/D	N/D	≤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%

DP: Desvio padrão

R+: Repetibilidade.

EXECUÇÃO++: Precisão entre execuções.

TOTAL+++ : Precisão total (incluindo entre instrumentos, operadores e lotes).

CV_{TOTAL}: Coeficiente de variação da precisão total em percentagem.

N/D: não determinado

A estrutura do estudo de precisão entre laboratórios cumpre os requisitos da norma CLSI/NCCLS EP5-A3. O estudo envolveu quatro centros (França, Alemanha e dois centros nos EUA). Os testes foram realizados em sete níveis de mutação, de 1,21% a 67,64%, utilizando diluições da linha celular MUTZ-8 em sangue total de doadores saudáveis (ou seja, amostras artificiais). Cada centro realizou três execuções de extração de ADN utilizando o instrumento QIASymphony SP e um lote único do QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Cada extrato de ADN foi testado em oito execuções de qPCR (duas execuções por dia e por centro durante quatro dias não consecutivos) utilizando um lote único de *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, dando origem a 96 medições esperadas por amostra de todos os centros.

A amostra L2 foi inválida numa execução de extração, dando origem a um total de 88 testes de qPCR em vez de 96. Além disso, uma execução de qPCR foi inválida, dando origem a três testes inválidos para todas as amostras (exceto L2, ou seja, 2 resultados inválidos). Adicionalmente, as amostras L7 foram inválidas numa execução de qPCR e a L4 foi inválida em duas execuções de qPCR, originando dois testes inválidos adicionais.

A precisão para o nível de 100% é expressa por comparação com a precisão determinada para o nível de 67,64%, com base em análises de tendência apoiadas por dados adicionais obtidos numa amostra de 100% de JAK2 V617F constituída por ADN da linha celular MUTZ-8 (38 medições).

Resultados de precisão: reprodutibilidade (estudo entre laboratórios)

Amostra	Total de testes	Total de testes inválidos	Média de JAK2%MT	Intra-execuções, DP, %CV	Inter-execuções, intradiária, DP, %CV	Entre dias DP, %CV	Intercentros, DP, %CV	Total, DP, %CV
L0	N/A	N/A	100	N/A	N/A	N/A	N/A	≤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: Percentagem de mutação de JAK2; **DP:** Desvio padrão; **CV:** Coeficiente de variação em percentagem; **N/A:** Não aplicável.

Foi realizado um estudo entre laboratórios adicional em três centros de testes (um na Europa e dois nos EUA), em quatro amostras de sangue total de pacientes com NMP (ou seja, amostras clínicas). Cada centro realizou três execuções de extração de ADN. Cada extrato de ADN foi testado em 12 execuções de qPCR (uma réplica por execução por amostra, duas execuções por dia por operador em cada centro – estiveram envolvidos dois operadores por centro – durante três dias não consecutivos) num instrumento Rotor-Gene Q MDx utilizando um único lote de *ipsogen* JAK2 RQG PCR Kit. Para cada amostra, foram obtidas 36 medições.

Resultados do estudo adicional entre laboratórios

Amostr a	N	Média de JAK2%M T	Intra- execuções, DP, %CV	Inter- execuções, intradiaária, DP, %CV	Intradiaária, DP, %CV	Intercentros, DP, %CV	Total, DP, %CV
Amostr a 1	3 6	95,19	0,995, 1,04	0,000, 0,00	0,541, 0,57	0,000, 0,00	1,130, 1,19
Amostr a 2	3 6	22,83	3,988, 17,47	0,000, 0,00	1,707, 7,48	1,552, 6,80	4,501, 19,72
Amostr a 3	3 6	14,44	2,257, 15,63	1,398, 9,68	0,000, 0,00	1,422, 9,84	2,890, 20,01
Amostr a 4	3 6	4,03	0,186, 4,63	0,835, 20,74	0,000, 0,00	0,608, 15,09	0,922, 22,91

Média de JAK2%MT: Percentagem de mutação de JAK2; **N:** Número de medições, **DP:** Desvio padrão; **CV:** Coeficiente de variação em percentagem.

Substâncias interferentes

A estrutura do estudo cumpre os requisitos da norma EP7-A3 "Interference Testing in Clinical Chemistry" (Testes de interferência em química clínica) do NCCLS. No total, foram escolhidas 19 substâncias possivelmente presentes em amostras de sangue devido ao seu possível efeito na PCR (bussulfano, bromidrato de citalopram, cloridrato de paroxetina hemi-hidratado, cloridrato de sertralina, cloridrato de fluoxetina, acetaminofeno [paracetamol], bilirrubina não conjugada, EDTA 2K e EDTA 3K de potássio, EDTA de sódio, Hgb [humana], triglicéridos, lisinopril di-hidratado, hidroxireia, ácido acetilsalicílico, ácido salicílico, tiotepa, anagrelida e interferon alfa 2b).

Foram também avaliadas substâncias do processo de extração de ADN (QSL1, QSB1, QSW1, QSW2 e PK do QIAAsymphony DSP DNA Blood Mini Kit; QIAGEN Protease, etanol, AW1 e AW2 do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit).

Os resultados obtidos não mostraram efeitos interferentes para estas substâncias.

Substâncias interferentes

Substância testada	Concentração testada
Bilirrubina não conjugada	150,3 µg/mL
Hemoglobina [humana]	2000 µg/mL
Triglicéridos	30 000 µg/mL
Bussulfano	38,4 µg/mL
Bromidrato de citalopram	0,75 µg/mL
Cloridrato de paroxetina hemi-hidratado	1,14 µg/mL
Cloridrato de sertralina	0,67 µg/mL
Cloridrato de fluoxetina	3,87 µg/mL
Acetaminofeno [paracetamol]	200,7 µg/mL
Lisinopril di-hidratado	0,33 µg/mL
Hidroxiureia	28,2 µg/mL
Ácido acetilsalicílico	651,6 µg/mL

Substância testada	Concentração testada
Ácido salicílico	0,6 µg/mL
Tiotepa	48 µg/mL
Anagrelida	6 µg/mL
Interferão alfa 2b*	1,8 MU/L
EDTA de potássio (EDTA 2K)	2X (3600 µg/ml)
EDTA de potássio (EDTA 3K) **	1X (1800 µg/ml), 3X (5400 µg/ml)
EDTA de sódio (EDTA 2Na) **	1X (3000 µg/ml), 3X (9000 µg/ml)
QSL1	2% do volume total da amostra
QSB1	2% do volume total da amostra
QSW1	2% do volume total da amostra

QSW2	2% do volume total da amostra
Proteinase K (PK) †	2% do volume total da amostra
Proteinase K (PK) †	2x o volume restante esperado após o processo de extração 3x o volume restante esperado após o processo de extração
QIAGEN Protease	1,29E-05% do volume total da amostra
Etanol (EtOH)	1,29E-03% do volume total da amostra
Buffer AW1	1,00 E-01% do volume total da amostra
Buffer AW2	1,00% do volume total da amostra

* A dosagem recomendada para pacientes com PV é de 3 MU, que se supõe ser distribuída em 5 L de sangue (indivíduo com 80 kg), resultando numa concentração de 0,6 MU/L. Seguindo as recomendações da norma EP7-A2 do NCCLS, esta concentração foi testada três vezes, ou seja, 1,8 MU/L.

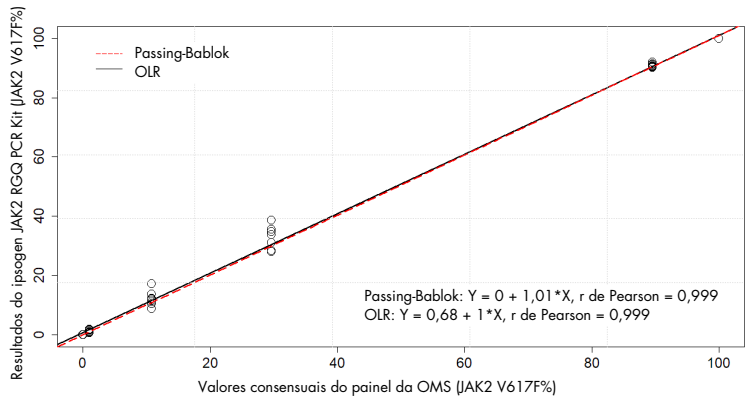
** 1X concentração de acordo com o fornecedor

† A PK causa um efeito interferente quando testada a 2% do volume total da amostra (improvável que ocorra); testes adicionais confirmaram que a PK é removida durante o processo de extração: não se espera qualquer interferência em condições normais de utilização.

Teste do painel de referência internacional da OMS para JAK2 V617F genómica (NIBSC, código do painel 16/120)

O 1.º painel de referência internacional da OMS para JAK2 V617F genómica desenvolvido pelo National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC, código do painel 16/120) foi testado utilizando três lotes do ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit (três réplicas por nível do painel de referência e por lote de reagentes). As experiências foram realizadas durante três dias por um operador, utilizando um instrumento Rotor-Gene Q 5plex HRM. A concordância entre os resultados do ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit e os valores consensuais publicados nas Instruções de utilização do painel de referência foi avaliada utilizando uma regressão linear simples (declive: 1,003, IC de 95% [0,997; 1,010] – interceção: 0,677, IC de 95% [0,212; 1,289]) e uma regressão de Passing-Bablok (declive: 1,01, IC de 95% [1,00; 1,021] – interceção: 0,00, IC de 95% [-0,02; 0,010]). A concordância é confirmada,

demonstrando a adequação do kit em fornecer dados de JAK2 V617F que estão de acordo com outras técnicas de diagnóstico normalmente utilizadas.



Concordância entre os resultados do ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit e os valores consensuais do painel de referência internacional da OMS para JAK2 V617F genômica (NIBSC, código do painel 16/120).

A concordância foi avaliada utilizando uma regressão linear simples (Ordinary Linear Regression, OLR) e uma regressão de Passing-Bablok.

O painel abrange sete níveis de JAK2 V617F: 100%, 89,5%, 29,6%, 10,8%, 1,00%, 0,03% e 0%. Os valores consensuais da OMS foram determinados utilizando uma gama de técnicas normalmente utilizadas como parte de um estudo colaborativo internacional; os valores de referência atribuídos a cada nível de JAK2 V617F% são valores medianos (mais informações em <https://www.nibsc.org>).

Veracidade e exatidão

A veracidade da medição está inversamente relacionada com o erro de medição sistemático ([Systematic Error, SE] ou tendência). A tendência foi calculada com base nas instruções da diretriz EP09c do NCCLS para cada nível de JAK2 V617F% do painel de referência, para cada lote de reagentes, bem como para todos os lotes de reagentes, utilizando os dados do estudo acima descrito. Os valores de tendência mais elevados foram obtidos com o lote 2 do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit.

A exatidão corresponde à proximidade da concordância entre o resultado de um teste e o valor de referência aceite (neste caso, o valor atribuído a cada nível de JAK2 V617F% do painel da OMS). A exatidão tem em conta tanto a veracidade como a precisão, e é inversamente proporcional ao erro total, calculado como indicado na tabela abaixo.

Erro de medição e tendência

Painel da OMS Código de ampola Valor de referência	Lote de <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit	Tendência (SE) Por lote [IC de 95%]	Tendência (SE) Geral [IC de 95%]	Erro total (Exatidão)
15/172 0%	1	0,000 [N/A]	0,001 [-0,001; 0,004]	0,010
	2	0,003 [-0,011; 0,018]		
	3	0,000 [N/A]		
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]	≤5,450
		2	-0,020 [N/A]		
		3	-0,013 [-0,028; 0,001]		

SE: erro sistemático ou tendência, ou seja, a diferença entre a média das medições individuais obtidas com o *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit ($\bar{V}_{\text{JAK2 Kit}}$) e o valor consensual do painel de referência da OMS (V_{Ref}).

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

O erro total (Total Error, TE) é calculado como $TE = \sqrt{s^2 + SE^2}$, em que s corresponde ao desvio padrão (erro aleatório).

IC de 95%: intervalo de confiança de 95%

N/A: não aplicável

Exatidão analítica

O objetivo deste estudo foi validar a exatidão analítica do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit em condições de utilização normais com amostras clínicas de sujeitos suspeitos de terem neoplasma mieloproliferativo. Este estudo foi realizado com amostras de ADN_g extraídas de um total de 473 espécimes: 276 com suspeita de PV, 98 com TE e 99 com MFP. O estado de JAK2 V617F das amostras de pacientes obtidas com o *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit foi comparado com o estado de JAK2 V617F obtido com o método de referência para a determinação do estado de JAK2, ou seja, uma sequenciação bidirecional (Bi-directional Sequencing, BDS) validada independentemente. Como o LoD do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit é de

0,042% de JAK2 V617F, o estado de JAK2 V617F de uma amostra de paciente testada com o ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit é positivo acima ou neste limite e negativo abaixo deste limite. Dos 473 espécimes, 22 espécimes foram positivos para JAK2 com o *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit e negativos com a BDS.

A concordância global é de 95,35% (451/473 indivíduos; IC de 95%: 93,04%, 97,06%). A concordância de positivos foi de 100% (165/165 indivíduos; IC de 95%: 97,79%,100%) e a concordância de negativos foi de 92,86% (286/308 indivíduos; IC de 95%: 89,39%; 95,47%). Os resultados são apresentados abaixo.

Concordância entre o *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit e a sequenciação bidirecional de Sanger em população com NMP (populações combinadas com TE, MFP e PV)

		Sequenciação bidirecional de Sanger		
		Positivo para JAK2 V617F	Negativo para JAK2 V617F	Total
<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR kit	Positivo para JAK2 V617F	165	22	187
	Negativo para JAK2 V617F	0	286	286
	Total	165	308	473

Avaliação dos resultados do estudo de exatidão analítica em coortes de NMP

A concordância entre os resultados obtidos para a mutação JAK2 V617F com o *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit e com a sequenciação bidirecional (Bi-directional Sequencing, BDS) de Sanger em indivíduos com TE, MFP e PV é apresentada separadamente:

- Para ET, a concordância global é de 89,8% (88/98 indivíduos; IC de 95%: 82,03–95,0%), a concordância de positivos é de 100% (43/43 indivíduos; IC de 95%: 91,78–100%) e a concordância de negativos é de 81,82% (45/55 indivíduos; IC de 95%: 69,1–90,92%).
- Para PMF, a concordância global é de 93,94% (93/99 indivíduos; IC de 95%: 87,27–97,74%), a concordância de positivos é de 100% (51/51 indivíduos; IC de 95%: 93,02–100%) e a concordância de negativos é de 87,5% (42/48 indivíduos; IC de 95%: 74,75–95,27%).
- Para PV, a concordância global é de 97,83% (270/276 indivíduos; IC de 95%: 95,33–99,2%), a concordância de positivos é de 100% (71/71 indivíduos; IC de 95%: 94,94–100%) e a concordância de negativos é de 97,07% (199/205 indivíduos; IC de 95%: 93,74–98,92%).

Os espécimes que produziram resultados discordantes pareciam ter níveis de mutação abaixo da capacidade de detecção por sequenciação bidirecional (Bi-directional Sequencing, BDS) (cerca de 10%). Uma vez que a sequenciação de Sanger não é tão sensível como o *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, o qual consegue comunicar valores até 0,042% de JAK2 V617F (ou seja, o valor do LoD), foi realizado um estudo separado utilizando um método validado de sequenciação de última geração (next-generation sequencing, NGS) para detetar o alelo JAK2 V617F nas 15/22 amostras discordantes (nove TE, cinco MFP e uma PV), bem como um conjunto de 22 espécimes concordantes positivos e negativos para JAK2 V617F selecionado aleatoriamente. O estado de JAK2 V617F das amostras de pacientes foi determinado pelo método de sequenciação de última geração (next-generation sequencing, NGS) com base no seu limite de sensibilidade analítica (ou seja, entre 1% e 2% de JAK2 V617F). Posto isto, o estado de JAK2 V617F de uma amostra de paciente era positivo se a mutação JAK2 V617F fosse detetada pelo método de sequenciação de

	<p>última geração (Next-generation Sequencing, NGS) e, reciprocamente, o estado de JAK2 V617F era negativo se a mutação JAK2 V617F não fosse detetada.</p> <p>Todos os 15 espécimes discordantes testaram positivo pelo método de sequenciação de última geração (Next-generation Sequencing, NGS), concordando com o <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit. Todas as amostras concordantes testaram o mesmo com o método de sequenciação de última geração (Next-generation Sequencing, NGS) e em concordância com o <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit e a sequenciação bidirecional (Bi-directional Sequencing, BDS). As outras 7 amostras foram consideradas discordantes, uma vez que os dados do método de sequenciação de última geração (Next-generation Sequencing, NGS) não estão disponíveis para estas amostras. Conclusão do estudo de exatidão analítica.</p> <p>O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit teve uma exatidão de 98,3% na deteção do alelo JAK2 V617F em espécimes de indivíduos com níveis de JAK2 V617F $\geq 0,042\%$ (ou seja, o valor do LoD).</p>
<p>Resumo do desempenho clínico</p>	<p>A sensibilidade foi de 94,64% (IC de 95%; 85,13%, 98,88%), indicando que o <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit, com base nos critérios de diagnóstico da OMS, deverá detetar PV na grande maioria dos indivíduos com a doença.</p> <p>A especificidade do diagnóstico de PV utilizando o <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit, com base nos critérios de diagnóstico da OMS, foi de 95,62% (IC de 95%; 91,19%, 98,22%), indicando que também é expectável a exclusão de PV na grande maioria dos indivíduos sem PV.</p>

	<p>Utilizando o <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit, com base nos critérios de diagnóstico da OMS, o VPP foi de 88,33% (IC de 95%; 77,27%, 93,57%)* e o VPN foi de 98,08% (IC de 95%; 94,8%, 99,4%).</p> <p>O rácio de probabilidade de um teste negativo utilizando o <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit para o diagnóstico de PV, com base nos critérios de diagnóstico da OMS, foi de 21,61 (IC de 95%; 10,44, 44,71), indicando que o resultado positivo para JAK2 V617F é mais provável de ocorrer em indivíduos com PV do que naqueles sem PV.</p> <p>O rácio de probabilidade de um teste positivo utilizando o <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit para o diagnóstico de PV, com base nos critérios de diagnóstico da OMS, foi de 0,06 (IC de 95%; 0,02, 0,18), indicando que o resultado negativo para JAK2 V617F é muito menos provável de ocorrer em indivíduos com PV do que naqueles sem PV.</p>
<p>Rastreabilidade metrológica</p>	
<p>Rastreabilidade metrológica de valores atribuídos</p>	<p>A rastreabilidade metrológica dos valores atribuídos aos calibradores e materiais de controlo, incluindo a identificação dos materiais de referência aplicados, e/ou procedimentos de medição de referência de ordem superior, e informação relativa à variação máxima (autopermittida) entre lotes fornecida com valores e unidades de medida relevantes.</p> <p>O 1.º painel de referência internacional da OMS para JAK2 V617F genómica (código do painel 16/120 do NIBSC) foi estabelecido em 2016 pelo Comité de especialistas em padronização biológica da Organização</p>

* O VPP depende da prevalência. Dado que a prevalência era baixa na população do estudo e a sensibilidade e especificidade são independentes da prevalência, a sensibilidade e especificidade são mais relevantes.

Mundial de Saúde (OMS) (consultar documento da OMS WHO/BS/2016.2293).

O painel abrange sete materiais de ADN genómico humano liofilizado produzidos pela combinação de ADN genómico derivado de linhas de células do tipo selvagem JAK2 e JAK2 V617F, fornecendo padrões a um intervalo de níveis de JAK2 V617F clinicamente relevantes, expressos como percentagem do total de JAK2, de 0% a 100%. Consulte [www.nibsc.org/science_and_research/advanced_therapies/genomic_reference_materials/jak_2_v617f_\(who\).aspx](http://www.nibsc.org/science_and_research/advanced_therapies/genomic_reference_materials/jak_2_v617f_(who).aspx) e Sanzone AP et al. (2016) Collaborative study to evaluate the proposed WHO 1st International Reference Panel for Genomic JAK2 V617F.

Nem este painel nem os calibradores de valor atribuído (derivados deste material padrão) estão incluídos no *ipsogen*® JAK2 RGQ PCR Kit. O *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit contém materiais de controlo, mas estes não são derivados do material de referência da OMS. Por conseguinte, não existe um relatório de rastreabilidade metrológica.

Ainda assim, a concordância dos resultados do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit com os valores consensuais do painel foi avaliada e confirmada:

Este estudo é descrito nas *Instruções de utilização (manual) do ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit*.

Perfil sugerido e formação para os utilizadores	
Perfil de utilizador	<p>O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit destina-se a utilização profissional. O produto deve ser utilizado apenas por profissionais com formação específica, especializados em técnicas de biologia molecular e familiarizados com a tecnologia do dispositivo. O procedimento do dispositivo destina-se a ser implementado num ambiente laboratorial de biologia molecular.</p>
Formação do utilizador	<p>O produto deve ser utilizado apenas por profissionais com formação específica, especializados em técnicas de biologia molecular e familiarizados com a tecnologia do dispositivo. O procedimento do dispositivo destina-se a ser implementado num ambiente laboratorial de biologia molecular.</p>
Riscos e avisos	
Riscos residuais e efeitos indesejáveis	<p>Os riscos residuais relevantes foram identificados e divulgados ao utilizador sob a forma de avisos e precauções nas Instruções de utilização do <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Risco de contaminação <p>Consultar as secções "qPCR no instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM com rotor de 72 tubos" e "Precauções" das Instruções de utilização.</p> ○ Tenha o máximo de cuidado para evitar a contaminação por transferência dos produtos de ADN ou PCR, o que pode resultar num sinal falso-positivo.

	<ul style="list-style-type: none"> ○ Utilizar pontas de pipeta novas e resistentes a aerossóis em todas as fases de pipetagem, para evitar contaminação cruzada das amostras e dos reagentes. ○ É necessário ter o cuidado de trocar de pontas entre cada tubo, para evitar qualquer contaminação não específica de misturas de reação ou modelos e, assim, resultados falso-positivos. Começar por adicionar as amostras de teste e, em seguida, os padrões e os controlos. ○ Tenha o máximo de cuidado para evitar a contaminação das misturas pelos materiais sintéticos contidos nos reagentes de padrões quantitativos de mutante (Mutant, MT) de JAK2 e de tipo selvagem (Wild-type, WT) de JAK2 e pelos reagentes de controlo de mutante (Mutant, MT) de JAK2 e de tipo selvagem (Wild-type, WT) de JAK2. <ul style="list-style-type: none"> ● Risco de deterioração dos reagentes do kit levando à falha da execução de qPCR Consultar a secção "qPCR no instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM com rotor de 72 tubos" > "Procedimento" > "Configurar a experiência de qPCR" das Instruções de utilização. Importante: Não exceder 30 minutos no passo de descongelamento para evitar qualquer degradação do material. ● Risco de posição incorreta do tubo no rotor levando a resultados anormais Consultar a secção "Processamento de amostras no instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM com rotor de 72 tubos" das Instruções de utilização. Importante: Os tubos devem ser inseridos no rotor tal como indicado na Figura 6 das Instruções de utilização do ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit, pois a análise automatizada definida no perfil de ensaio é baseada nesta organização. Se for utilizado um esquema diferente, serão obtidos resultados anómalos.
--	--

Avisos e precauções

Tenha em atenção que poderá ser necessário consultar os regulamentos locais para comunicar incidentes graves, que possam ocorrer em relação ao dispositivo, ao fabricante e/ou ao representante autorizado e à autoridade reguladora do local onde o utilizador e/ou paciente se encontram.

Informações de segurança

Ao trabalhar com substâncias químicas, utilize sempre uma bata de laboratório adequada, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDS) adequadas. Estas estão disponíveis online, em formato PDF compacto e prático em www.qiagen.com/safety, onde pode procurar, visualizar e imprimir as SDS de cada kit QIAGEN e componente do kit.

- Os espécimes e as amostras são potencialmente infecciosos. Elimine os resíduos de amostras e dos ensaios de acordo com os procedimentos de segurança locais.

CUIDADO



NÃO adicione lixívia nem soluções ácidas diretamente aos resíduos de amostras ou de preparação.

Informações para casos de emergência

- CHEMTREC
Fora dos EUA e do Canadá +1 703-527-3887

Precauções

- A utilização de testes de qPCR exige boas práticas laboratoriais, incluindo manutenção do equipamento, que sejam específicas de biologia molecular e que estejam em conformidade com os regulamentos aplicáveis e as normas relevantes.
- Este kit destina-se a ser utilizado em diagnóstico *in vitro*. Os reagentes e as instruções fornecidos neste kit foram validados para um desempenho ideal.
- O teste destina-se a ser utilizado com amostras de sangue total anticoaguladas com EDTA de potássio (EDTA K₂) e armazenadas a uma temperatura de 2–8 °C durante um período máximo de 96 horas até à extração de ADN.
- Todos os produtos químicos e materiais biológicos são potencialmente perigosos. Os espécimes e as amostras são potencialmente infecciosos e devem ser tratados como materiais de risco biológico.
- Elimine os resíduos de amostras e dos ensaios de acordo com os procedimentos de segurança locais.
- Os reagentes do *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* estão diluídos a uma concentração ideal. Não dilua mais os reagentes, pois pode comprometer o respetivo desempenho.
- Não utilize volumes de reação (mistura de reação mais amostra) inferiores a 25 µl.
- Todos os reagentes fornecidos no *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* devem ser utilizados apenas com os outros reagentes fornecidos no mesmo kit. Não substitua um reagente de um kit pelo mesmo reagente de outro *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit*, mesmo que pertença ao mesmo lote, pois isso pode comprometer o desempenho.

- Consulte o *Manual do utilizador do Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*, o *Manual do utilizador do Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application*, o *Manual do utilizador do Gamma Plug-In* e o *Manual do utilizador do instrumento QIA Symphony SP* para obter mais informações sobre avisos, precauções e procedimentos.
- A alteração dos tempos e das temperaturas de incubação pode dar origem a dados erróneos ou discordantes.
- Não utilize componentes fora do prazo de validade ou armazenados de forma incorreta.
- As misturas de reação podem sofrer alterações se forem expostas à luz.
- Tenha o máximo de cuidado para evitar a contaminação das misturas pelos materiais sintéticos contidos nos reagentes de padrões quantitativos de mutante (Mutant, MT) de JAK2 e de tipo selvagem (Wild-type, WT) de JAK2 e pelos reagentes de controlo de mutante (Mutant, MT) de JAK2 e de tipo selvagem (Wild-type, WT) de JAK2.
- Tenha o máximo de cuidado para evitar a contaminação por transferência dos produtos de ADN ou PCR, o que pode resultar num sinal falso-positivo.
- Tenha o máximo de cuidado para evitar a contaminação por DNase, o que pode causar a degradação do modelo de ADN.
- Utilize pipetas individuais, de uso exclusivo, para preparar misturas de reação e adicionar modelos.
- Não abra o instrumento Rotor-Gene Q MDx até que a execução esteja concluída.
- Não abra os tubos do Rotor-Gene Q depois de a execução estar concluída.
- É necessário ter cuidado para garantir testes de amostras corretos, em especial com a introdução de amostras erradas, erros de carregamento e erros de pipetagem.

- Certifique-se de que as amostras são manuseadas de uma forma sistemática para assegurar uma identificação correta a todos os momentos e manter a rastreabilidade.

Por conseguinte, recomendamos o seguinte:

- Utilizar material de laboratório (por ex., pipetas, pontas de pipeta, recipientes para reação) isento de nuclease e usar luvas durante a realização do ensaio.
- Utilizar pontas de pipeta novas e resistentes a aerossóis em todas as fases de pipetagem, para evitar contaminação cruzada das amostras e dos reagentes.
- Preparar a mistura principal pré-PCR com material dedicado (pipetas, pontas, etc.) numa área dedicada onde não sejam introduzidas matrizes de ADN (produtos de PCR, plasmídeo ou ADN). Adicionar o modelo numa zona separada (preferencialmente numa sala em separado) com material específico (pipetas, pontas, etc.).
- Para resolução de problemas e informações de segurança relativamente aos kits de extração QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (n.º de cat. 61104) e QIASymphony DNA DSP Mini Kit (n.º de cat. 937236), consulte as Instruções de utilização correspondentes.
- Para informação de resolução de problemas relativamente ao Rotor-Gene AssayManager v2.1, consulte o *Manual do utilizador do Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application*.

Adicionalmente, consulte as secções das *Instruções de utilização do ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* para:

- Secção "armazenamento e manuseamento de reagentes":

	<p>"O descongelamento e o congelamento repetidos devem ser evitados. Não exceda um máximo de cinco ciclos de congelação/descongelação."</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Secção "Extração automatizada de ADN genómico utilizando o QIA Symphony DSP DNA Mini Kit": <ul style="list-style-type: none"> "Se um cartucho de reagentes estiver apenas parcialmente utilizado, vedar o cartucho com as tiras vedantes reutilizáveis fornecidas e fechar os tubos que contenham proteinase K com tampas de rosca imediatamente após o final da execução do protocolo, para evitar a evaporação." ● "Limitações" <ul style="list-style-type: none"> ○ O kit destina-se a utilização profissional. ○ O produto deve ser utilizado apenas por profissionais com formação específica, especializados em técnicas de biologia molecular e familiarizados com a tecnologia do dispositivo. O procedimento do dispositivo destina-se a ser implementado num ambiente laboratorial de biologia molecular. ○ O <i>ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit</i> não é um dispositivo automatizado; no entanto, a análise é assistida por um software dedicado para a quantificação automática de mutações. ○ Este kit deve ser utilizado segundo as instruções fornecidas nas <i>Instruções de utilização do ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit</i>, em conjunto com um instrumento validado mencionado em "Materiais necessários, mas não fornecidos". ○ Deve prestar-se atenção às datas de validade impressas no rótulo da caixa e nos rótulos dos tubos. Não utilizar componentes fora do prazo de validade. ○ Todos os reagentes fornecidos no <i>ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit</i> devem ser utilizados apenas com os outros reagentes fornecidos no mesmo kit. O incumprimento desta diretriz poderá afetar o desempenho.
--	---

	<ul style="list-style-type: none"> ○ O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit está apenas validado para sangue total periférico humano anticoagulado com EDTA 2K colhido de pacientes com NMP suspeito ou detetado. ○ O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit está apenas validado para ser utilizado com o QIAasymphony DNA DSP Mini Kit (n.º de cat. 937236) ou o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (n.º de cat. 61104). ○ O <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit está apenas validado para utilização com o Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (para PCR) e o QIAasymphony SP (para preparação da amostra). ○ Qualquer outra utilização não indicada deste produto e/ou modificação dos componentes anulará qualquer responsabilidade da QIAGEN. ○ Todos os resultados de diagnóstico gerados têm de ser interpretados em conjunto com outros resultados clínico-patológicos. A ausência da mutação JAK2 V617F/G1849T não exclui a presença de outras mutações de JAK2. O teste pode indicar resultados falso-negativos em caso de mutações adicionais localizadas nos nucleótidos 88504 a 88622. ○ O utilizador é responsável por validar o desempenho do sistema quanto a quaisquer procedimentos utilizados no seu laboratório que não estejam abrangidos pelos estudos de desempenho da QIAGEN <ul style="list-style-type: none"> ● "Características de desempenho, substâncias interferentes" <ul style="list-style-type: none"> ○ A estrutura do estudo cumpre os requisitos da norma EP7-A3 "Interference Testing in Clinical Chemistry" (Testes de interferência em química clínica) do NCCLS. No total, foram escolhidas 19 substâncias possivelmente presentes em amostras de sangue devido ao seu possível efeito na PCR (bussulfano, bromidrato de citalopram,
--	--

cloridrato de paroxetina hemi-hidratado, cloridrato de sertralina, cloridrato de fluoxetina, acetaminofeno [paracetamo], bilirrubina não conjugada, EDTA 2K e EDTA 3K de potássio, EDTA de sódio, Hgb [humana], triglicéridos, lisinopril di-hidratado, hidroxireia, ácido acetilsalicílico, ácido salicílico, tiotepa, anagrelida e interferão alfa 2b).

- Foram também avaliadas substâncias do processo de extração de ADN (QSL1, QSB1, QSW1, QSW2 e PK do QIAAsymphony DSP DNA Blood Mini Kit; QIAGEN Protease, etanol, AW1 e AW2 do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit).
- Os resultados obtidos não mostraram efeitos interferentes para estas substâncias.

- "Guia de resolução de problemas"

O guia de resolução de problemas pode ser útil na resolução de quaisquer problemas que possam surgir para os seguintes componentes do fluxo de trabalho:

- Processamento e falha de amostras
- Erro na concentração de ADN
- A amostra é inválida devido a baixa concentração
- Erro do utilizador do *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit
- Nenhum sinal ou sinal baixo na amostra e nos controlos
- Erros na operação do RGQ

Para obter assistência técnica e mais informações, consulte o nosso Centro de Apoio Técnico em www.qiagen.com/Support (para obter informações de contacto, visite www.qiagen.com).