



Luglio 2022

# Riepilogo di sicurezza e prestazioni di *ipsogen*<sup>®</sup> JAK2 RGQ PCR Kit



Versione 2



Per uso diagnostico in vitro

Per l'uso con lo strumento Rotor-Gene<sup>®</sup> Q MDx 5plex HRM

Per l'uso con *ipsogen*<sup>®</sup> JAK2 RGQ PCR Kit



0197



674623



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,  
GERMANIA



1124396IT

# Riepilogo di sicurezza e prestazioni

Informazioni generali e di identificazione del dispositivo	
<b>Nome o denominazione commerciale, inclusi numero e versione del modello</b>	<i>ipsogen</i> <sup>®</sup> JAK2 RGQ PCR Kit
<b>Produttore (nome e indirizzo)</b>	QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 Hilden 40724 Germania
<b>Identificativo unico del dispositivo (UDI-DI)</b>	4053228RJAK2RGQ00000001RJ
<b>Numero di registrazione unico (single registration number, SRN) del produttore, se disponibile</b>	DE-MF-000004949
<b>Nomenclatura dei dispositivi medici</b>	W01060299 Test per alterazioni genetiche o cromosomiche acquisite
<b>Classe del dispositivo</b>	Classe C

<b>Anno di prima immissione del dispositivo sul mercato UE</b>	L' <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (numero di catalogo 673623, versione 1), valido a norma della Direttiva UE IVD 98/79/CE e della Decisione 2010/227/UE della Commissione (IVDD), è stato immesso per la prima volta sul mercato UE nel 2014.
<b>Rappresentante autorizzato, se applicabile</b>	Non applicabile
<b>Organismo notificato e numero di identificazione (single identification number, SIN)</b>	TUV Rheinland; Organismo notificato numero 0197
<b>Scopo previsto del dispositivo</b>	
<b>Scopo previsto</b>	L' <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit è un esame PCR quantitativo in vitro per il rilevamento e la quantificazione della mutazione JAK2 V617F/G1849T nel DNA genomico estratto da sangue intero periferico umano anticoagulato con 2K-EDTA. I risultati ottenuti con <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit sono un elemento aggiuntivo alla valutazione di sospetta neoplasia mieloproliferativa (Myeloproliferative Neoplasm, MPN) cromosoma Philadelphia (Ph)-negativa e monitoraggio molecolare della malattia in pazienti affetti da MPN. Gli eventuali risultati diagnostici generati dal sistema devono essere interpretati in combinazione con gli esiti di altri esami di patologia clinica.

<p><b>Indicazioni e popolazione target</b></p>	<p>L'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit è destinato all'uso per l'esame di pazienti con sospetta neoplasia mieloproliferativa (Myeloproliferative Neoplasm, MPN) cromosoma Philadelphia (Ph)-negativa e monitoraggio molecolare della malattia in pazienti affetti da MPN.</p>
<p><b>Controindicazioni e/o limitazioni</b></p>	<p>Il kit è destinato all'uso professionale.</p> <p>Il prodotto deve essere utilizzato esclusivamente da professionisti preparati e addestrati in modo specifico all'uso delle tecnologie di biologia molecolare e con competenze specifiche sulla tecnologia di questo dispositivo. La procedura del dispositivo deve essere implementata in un ambiente di laboratorio di biologia molecolare.</p> <p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit è previsto per l'uso esclusivamente con lo strumento Rotor-Gene® Q MDx 5plex HRM QIAGEN e altri componenti del flusso di lavoro come specificato nelle istruzioni per l'uso. <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit non è un dispositivo automatico. Tuttavia, l'analisi è assistita da un software dedicato per la quantificazione automatica della mutazione.</p> <p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit deve essere utilizzato secondo le istruzioni fornite nelle istruzioni per l'uso.</p> <p>Prestare attenzione alle date di scadenza stampate sull'etichetta della confezione e sulle etichette delle provette. Non utilizzare componenti scaduti.</p> <p>Tutti i reagenti forniti con <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit sono destinati esclusivamente all'uso con gli altri reagenti del medesimo kit. Se questa indicazione non viene rispettata, le prestazioni potrebbero risentirne.</p> <p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit è convalidato solo per sangue umano intero periferico con anticoagulante 2K-EDTA raccolto da pazienti con MPN sospetta o diagnosticata.</p>

	<p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit è stato convalidato esclusivamente per l'uso con QIAAsymphony DNA DSP Mini Kit (n. cat. 937236) o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (n. cat. 61104).</p> <p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit è convalidato esclusivamente per l'uso con lo strumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (per la PCR) e con lo strumento QIAAsymphony SP (per la preparazione dei campioni).</p> <p>Qualsiasi impiego non previsto del prodotto e/o alterazione dei componenti esenteranno QIAGEN da qualunque responsabilità.</p> <p>Gli eventuali risultati diagnostici generati dal sistema devono essere interpretati in combinazione con gli esiti di altri esami di patologia clinica. L'assenza della mutazione JAK2 V617F/G1849T non esclude la presenza di altre mutazioni JAK2. Il test può produrre risultati falsi negativi qualora siano presenti ulteriori mutazioni nell'intervallo di nucleotidi 88504–88622.</p> <p>È responsabilità dell'utente convalidare le prestazioni del sistema per qualunque procedura utilizzata in laboratorio che non sia stata già oggetto di uno studio di valutazione delle prestazioni da parte di QIAGEN.</p>
<p><b>Descrizione del dispositivo</b></p>	
<p><b>Descrizione del dispositivo</b></p>	<p>a) <b>Descrizione generale del dispositivo, inclusi lo scopo previsto e gli utenti previsti</b></p> <p>L'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit è un esame PCR quantitativo in vitro per il rilevamento e la quantificazione della mutazione JAK2 V617F/G1849T nel DNA genomico estratto da sangue intero periferico umano anticoagulato con 2K-EDTA.</p> <p>I risultati ottenuti con <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit sono un elemento aggiuntivo alla valutazione di sospetta neoplasia mieloproliferativa</p>

(Myeloproliferative Neoplasm, MPN) cromosoma Philadelphia (Ph)-negativa e monitoraggio molecolare della malattia in pazienti affetti da MPN. Gli eventuali risultati diagnostici generati dal sistema devono essere interpretati in combinazione con gli esiti di altri esami di patologia clinica.

Il kit è destinato all'uso professionale.

Il prodotto deve essere utilizzato esclusivamente da professionisti preparati e addestrati in modo specifico all'uso delle tecnologie di biologia molecolare e con competenze specifiche sulla tecnologia di questo dispositivo. La procedura del dispositivo deve essere implementata in un ambiente di laboratorio di biologia molecolare.

**b) Descrizione del principio del metodo di esame o dei principi del funzionamento dello strumento;**

*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit utilizza la qPCR basata sul principio dell'idrolisi dell'oligonucleotide combinata con la tecnica basata sul sistema di mutazioni refrattarie all'amplificazione (Amplification Refractory Mutation System, ARMS), un semplice metodo per rilevare le mutazioni che comportano l'alterazione di una singola base (anche note come polimorfismo a singolo nucleotide (Single Nucleotide Polymorphism, SNP)). La reazione a catena della polimerasi utilizza primer diretti e inversi che si ibridano con una specifica sequenza DNA o sequenza target per amplificarla. La tecnologia ARMS si basa sull'utilizzo di primer per PCR specifici per la sequenza che permettono l'amplificazione del DNA analizzato solo se l'allele target è presente nel campione. La qPCR basata sul principio dell'idrolisi dell'oligonucleotide sfrutta un oligonucleotide legato a un colorante (anche noto come sonda) che è contenuto nella miscela della qPCR. Questa sonda, costituita da un oligonucleotide le cui

estremità sono marcate da un colorante reporter all'estremità 5' e da un colorante quencher privo di colorante all'estremità 3', si ibrida con la sequenza target nella PCR. L'analisi qPCR con sonde idrolitiche sfrutta l'attività di esonucleasi 5'→3' della *Taq* (*Thermus aquaticus*) DNA polimerasi. Quando la sonda è intatta, la vicinanza tra il colorante reporter e il colorante quencher determina la soppressione della fluorescenza del reporter, principalmente per un trasferimento di energia di tipo Förster. Se durante la PCR il target di interesse è presente, entrambi i primer diretti e inversi (Forward/Reverse) si appaiano in modo specifico e affiancano la sonda. L'attività di esonucleasi 5'→3' della DNA polimerasi scinde la sonda tra il colorante reporter e il colorante quencher determinando l'emissione della fluorescenza del reporter. Questo processo avviene a ogni ciclo e non interferisce con l'accumulo esponenziale del prodotto. L'aumento della fluorescenza è dunque direttamente proporzionale all'amplificazione del target durante la PCR. Nella qPCR, il numero di cicli di PCR necessari alla rilevazione di un segnale oltre la soglia è chiamato Crossing point (Cp) o Cycle threshold (Ct) ed è direttamente proporzionale al numero di target presenti all'inizio della reazione.

**c) Motivazione che qualifica il prodotto come dispositivo e classe di rischio del dispositivo (estratto del documento sulle strategie di regolamentazione);**

*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit è un kit di reagenti destinato all'uso in combinazione con uno strumento per la real-time PCR (strumento QIAGEN Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM) per esaminare campioni provenienti dal corpo umano al fine di fornire informazioni relative ad un processo o stato patologico (in aggiunta alla valutazione e al monitoraggio della risposta molecolare della MPN Ph(-)). Il prodotto è quindi conforme alla definizione di IVDMD contenuta nell'IVDR. La mutazione JAK2 V617F fa parte dell'algoritmo diagnostico e può inoltre essere utilizzata come biomarcatore di follow-up per le neoplasie mieloproliferative

(Myeloproliferative Neoplasm, MPN): la policitemia vera (Polycythemia Vera, PV), la mielofibrosi primaria (Primary Myelofibrosis, PMF) e la trombocitemia essenziale (Essential Thrombocythemia, ET). Secondo l'IVDR il prodotto appartiene alla classe di rischio C.

#### d) Descrizione dei componenti del dispositivo.

ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit contiene i seguenti componenti:

Numero di materiale	Nome/descrizione del componente	Quantità per kit in numero di provette (volume)
1073859	Miscela di reazione JAK2 MT Oligonucleotidi per la rilevazione dell'allele MT (mutante) e controllo interno, tampone PCR, MgCl <sub>2</sub> , dNTP <i>Il controllo interno di amplificazione incluso nelle miscele di reazione viene usato per monitorare l'inibizione della qPCR e per escludere la mancata reazione PCR in caso di risultati negativi.</i>	1 (1010 µL)
1073856	Miscela di reazione JAK2 WT Oligonucleotidi per la rilevazione dell'allele WT (wild-type) e controllo interno, tampone PCR, MgCl <sub>2</sub> , dNTP <i>Il controllo interno di amplificazione incluso nelle miscele di reazione viene usato per monitorare l'inibizione della qPCR e per escludere la mancata reazione PCR in caso di risultati negativi.</i>	1 (1010 µL)
1073892	Taq DNA polimerasi (HotStarTaq® 5 unità/µL)	1 (85 µL)
1073865	Controllo JAK2 WT (100% wild-type allele) (DNA da linea cellulare portatore di 100% allele wild-type, controllo dell'amplificazione)	1 (33 µL)
1073862	Controllo mutante JAK2 (100% allele V617F) (DNA da linea cellulare portatore di 100% allele V617F, controllo dell'amplificazione)	1 (33 µL)

La Tabella continua alla pagina seguente



Continuazione della Tabella dalla pagina precedente

Numero di materiale	Nome/descrizione del componente	Quantità per kit in numero di provette (volume)
1095204.1 -.4 (Set di standard di quantificazione JAK2 WT: SQ1 - SQ4)	Standard di quantificazione 1 JAK2 WT (5 x 10 <sup>1</sup> copie wild-type/5 µl)	1 (20 µl)
	Standard di quantificazione 2 JAK2 WT (5 x 10 <sup>2</sup> copie wild-type/5 µl)	1 (20 µl)
	Standard di quantificazione 3 JAK2 WT (5 x 10 <sup>3</sup> copie wild-type/5 µl)	1 (20 µl)
	Standard di quantificazione 4 JAK2 WT (5 x 10 <sup>4</sup> copie wild-type/5 µl)	1 (20 µl)
1095205.1 -.4 (Set di standard di quantificazione JAK2 MT: SQ1 - SQ4)	Standard di quantificazione 1 JAK2 MT (5 x 10 <sup>1</sup> copie V617F/5 µl)	1 (20 µl)
	Standard di quantificazione 2 JAK2 MT (5 x 10 <sup>2</sup> copie V617F/5 µl)	1 (20 µl)
	Standard di quantificazione 3 JAK2 MT (5 x 10 <sup>3</sup> copie V617F/5 µl)	1 (20 µl)
	Standard di quantificazione 4 JAK2 MT (5 x 10 <sup>4</sup> copie V617F/5 µl)	1 (20 µl)
1067627	Acqua per controllo senza template (No Template Control, NTC) (acqua priva di nucleasi)	1 (1,9 mL)
1073894	Tampone TE (Tris EDTA) per diluizione campioni	1 (1,9 mL)

Gli standard di quantificazione JAK2 MT (SQ1 - SQ4) sono diluizioni seriali di plasmidi portatori di sequenza di allele V617F.

Gli standard di quantificazione JAK2 WT (SQ1 - SQ4) sono diluizioni seriali di plasmidi portatori di sequenza di allele WT.

**e) La descrizione dei materiali di prelievo e trasporto dei campioni forniti con il dispositivo;**

Con il dispositivo non sono forniti materiali per il prelievo e il trasporto dei campioni.

**f) Per gli strumenti con esami automatici: la descrizione delle caratteristiche dell'esame appropriato o degli esami dedicati;**

*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit non è un esame automatico. Tuttavia, l'analisi è assistita da una software suite dedicata.

**g) Per gli esami automatici: la descrizione delle caratteristiche della strumentazione appropriata o dedicata;**

*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit non è un esame automatico. Tuttavia, l'analisi è assistita da una software suite dedicata.

**h) Descrizione dei software da utilizzare con il dispositivo;**

*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit è previsto per l'uso esclusivamente con lo strumento QIAGEN Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM e altri componenti del flusso di lavoro come specificato nelle istruzioni per l'uso. *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit non è un dispositivo automatico. Tuttavia, l'analisi è assistita da un software dedicato: il Rotor-Gene AssayManager®, software versione 2.1.x ( $x \geq 0$ ), con il Rotor-Gene AssayManager® Gamma Plug-in versione 1.0.x ( $x \geq 0$ ) e l'*ipsogen* \_JAK2\_blood\_CE\_IVDR Assay Profile (AP\_ *ipsogen* \_JAK2\_blood\_CE\_IVDR\_V2\_0\_x.iap ( $x \geq 1$ )).

**i) Descrizione o lista completa delle varie configurazioni o varianti del dispositivo che saranno messe a disposizione sul mercato;**

Al momento non esiste alcuna variante di *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (674623) destinata alla commercializzazione nell'Unione Europea.

**j) Descrizione degli accessori per il dispositivo, degli altri dispositivi e di altri prodotti che non sono dispositivi destinati a essere utilizzati in combinazione con il dispositivo.**

Al momento non esiste alcun accessorio progettato per l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. Il kit è un set di reagenti pronto all'uso.

Per eseguire l'intero flusso di lavoro, gli utenti di *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit devono fornire le seguenti attrezzature e materiali necessari ma non in dotazione con il kit:

- Materiali di consumo e reagenti per l'estrazione manuale di DNA
  - QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit (n. cat. 61104)
  - Etanolo (96–100%)  
Nota: non utilizzare alcol denaturato, che contiene altre sostanze come il metanolo o il metiletilchetone.
- Materiali di consumo e reagenti per l'estrazione automatizzata del DNA
  - QIASymphony DSP DNA Mini Kit (n. cat. 937236)
  - Sample Prep Cartridges, 8-well (n. cat. 997002)
  - 8-Rod Covers (n. cat. 997004)
  - Filter-Tips, 1500 µL (n. cat. 997024)
  - Filter-Tips, 200 µL (n. cat. 990332)
  - Elution Microtubes CL (n. cat. 19588)
  - Tip disposal bags (n. cat. 9013395)
  - Micro tubes 2.0 ml Type H (Sarstedt®, n. cat. 72.694, [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com))
- Materiali di consumo e reagenti per PCR
  - Puntali per pipette per PCR sterili, resistenti alla contaminazione da aerosol, privi di nucleasi, con filtri idrofobici

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Provette per PCR prive di nucleasi da 1,5 mL o 2,0 mL</li> <li>○ Strip Tubes and Caps, 0.1 mL per Rotor-Gene Q (n. Cat. 981103 o 981106)</li> <li>○ Ghiaccio</li> <li>● Strumentazione <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Pipette regolabili* dedicate per PCR (1–10 µL; 10–100 µL; 100–1000 µL)</li> <li>○ Guanti monouso</li> <li>○ Miscelatore vortex</li> <li>○ Blocco riscaldante per la lisi dei campioni a 56°C</li> <li>○ Centrifuga da banco* con rotore per provette di reazione da 0,5/1,5/2,0 mL (velocità fino a 13.000–14.000 rpm)</li> <li>○ Spettrofotometro*</li> </ul> </li> <li>● Attrezzatura per la preparazione dei campioni <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Strumento QIAasymphony SP (n. cat. 9001297), versione software 4.0 o successiva, accessori forniti, e protocollo Blood_200_V7_DSP (o versione successiva)</li> <li>○ Tube Insert 3B (inserto, 2,0 mL v2, portacampioni (samplecarr.) (24), Qsym, n. cat. 9242083)</li> </ul> </li> <li>● Apparecchiatura per la real-time PCR <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Strumento per la real-time PCR*: Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform (n. cat. 9002032) o Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System (n. cat. 9002033) e accessori forniti</li> </ul> </li> </ul>
--	---

\* Prima dell'uso, assicurarsi che gli strumenti siano stati revisionati e calibrati secondo le raccomandazioni del produttore.

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Rotor-Gene AssayManager® installato, software versione 2.1.x (<math>x \geq 0</math>)</li> <li>○ Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in installato, versione 1.0.x (<math>x \geq 0</math>)</li> <li>○ ipsogen _JAK2_blood_CE_IVDR Assay Profile importato (AP_ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_2_x.iap (<math>x \geq 1</math>))</li> </ul>
<p><b>Riferimento alla/e generazione/i precedente/i o alle varianti del dispositivo (come applicabile) e descrizione delle differenze</b></p>	<p>L'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (numero di catalogo 673623, versione 1), valido a norma della Direttiva UE IVD 98/79/CE e della Decisione 2010/227/UE della Commissione (IVDD), è stato immesso per la prima volta sul mercato UE nel 2014.</p> <p>L'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (numero di catalogo 674623) è la versione 2 che è stata sottoposta a un programma per garantire la conformità con il Regolamento sui dispositivi diagnostici in vitro UE/2017/746 (In Diagnostic Devices Regulation, IVDR).</p> <p>I componenti di entrambi i kit 673623 e 674623 sono identici, i kit stessi sono tecnicamente identici ed eseguono un'analisi assistita da un software per la quantificazione automatica della mutazione. È stato generato un profilo dell'esame dedicato per <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit, numero di catalogo 674623, basato sulla versione esistente dedicata a <i>ipsogen</i>® JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE, numero di catalogo 673623.</p> <p>Rispetto alle istruzioni per l'uso di <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (numero di catalogo 673623), le istruzioni per l'uso di <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (numero di catalogo 674623) contengono i seguenti miglioramenti per garantire la conformità ai requisiti dell'IVDR:</p>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Aggiunte informazioni dettagliate all'indicazione uso previsto e utente previsto</li> <li>● Riorganizzati i protocolli e aggiunte ulteriori istruzioni e illustrazioni per facilitare la comprensione</li> <li>● Aggiornate le dichiarazioni di stabilità del DNA genomico e di stabilità durante l'uso</li> <li>● Aggiornate le caratteristiche delle prestazioni e aggiunti ulteriori dati (analitici e clinici)</li> <li>● Aggiunto riferimento al riepilogo di sicurezza e prestazioni</li> </ul> <p>Aggiornati i simboli e aggiunte ulteriori etichette.</p>
<p><b>Descrizione degli accessori destinati all'uso in combinazione con il dispositivo (se applicabile)</b></p>	<p>Non applicabile.</p>
<p><b>Descrizione di altri dispositivi e prodotti destinati all'uso in combinazione con il dispositivo (se applicabile)</b></p>	<p>Al momento non esiste alcun accessorio progettato per l'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit. Il kit è un set di reagenti pronto all'uso.</p> <p>Per eseguire l'intero flusso di lavoro, gli utenti di <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit devono fornire le seguenti attrezzature e materiali necessari ma non in dotazione con il kit:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Materiali di consumo e reagenti per l'estrazione manuale di DNA <ul style="list-style-type: none"> <li>○ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (n. cat. 61104)</li> <li>○ Etanolo (96–100%)</li> </ul> <p>Nota: non utilizzare alcol denaturato, che contiene altre sostanze come il metanolo o il metiletilchetone.</p> </li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Materiali di consumo e reagenti per l'estrazione automatizzata del DNA <ul style="list-style-type: none"> <li>○ QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit (n. cat. 937236)</li> <li>○ Sample Prep Cartridges, 8-well (n. cat. 997002)</li> <li>○ 8-Rod Covers (n. cat. 997004)</li> <li>○ Filter-Tips, 1500 µL (n. cat. 997024)</li> <li>○ Filter-Tips, 200 µL (n. cat. 990332)</li> <li>○ Elution Microtubes CL (n. cat. 19588)</li> <li>○ Tip disposal bags (n. cat. 9013395)</li> <li>○ Micro tubes 2.0 ml Type H (Sarstedt, n. cat. 72.694, <a href="http://www.sarstedt.com">www.sarstedt.com</a>)</li> </ul> </li>   <li>● Materiali di consumo e reagenti per PCR <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Puntali per pipette per PCR sterili, resistenti alla contaminazione da aerosol, privi di nucleasi, con filtri idrofobici</li> <li>○ Provette per PCR prive di nucleasi da 1,5 mL o 2,0 mL</li> <li>○ Strip Tubes and Caps, 0.1 mL per Rotor-Gene Q (n. Cat. 981103 o 981106)</li> <li>○ Ghiaccio</li> </ul> </li>   <li>● Strumentazione <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Pipette regolabili* dedicate per PCR (1–10 µL; 10–100 µL; 100–1000 µL)</li> <li>○ Guanti monouso</li> <li>○ Miscelatore vortex</li> <li>○ Blocco riscaldante per la lisi dei campioni a 56°C</li> </ul> </li> </ul>
--	--

\* Prima dell'uso, assicurarsi che gli strumenti siano stati revisionati e calibrati secondo le raccomandazioni del produttore.

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Centrifuga da banco* con rotore per provette di reazione da 0,5/1,5/2,0 mL (velocità fino a 13.000–14.000 rpm)</li> <li>○ Spettrofotometro*</li> <li>● Attrezzatura per la preparazione dei campioni <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Strumento QIASymphony SP (n. cat. 9001297), versione software 4.0 o successiva, accessori forniti, e protocollo Blood_200_V7_DSP (o versione successiva)</li> <li>○ Tube Insert 3B (inserto, 2,0 mL v2, portacampioni (samplecarr.) (24), Qsym, n. cat. 9242083)</li> </ul> </li> <li>● Apparecchiatura per la real-time PCR <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Strumento per la real-time PCR*: Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform (n. cat. 9002032) o Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System (n. cat. 9002033) e accessori forniti</li> <li>○ Rotor-Gene AssayManager installato, software versione 2.1.x (x≥0)</li> <li>○ Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in installato, versione 1.0.x (x≥0)</li> <li>○ ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR Assay Profile importato (AP_ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_2_x.iap (x≥1))</li> </ul> </li> </ul>
<p><b>Standard di riferimento</b></p>	
<p><b>Standard armonizzati e specifiche comuni (SC) applicate</b></p>	<p>L'IVDR non comprende standard armonizzati. La tabella riportata in seguito illustra gli standard utilizzati per lo sviluppo di <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit.</p>

\* Prima dell'uso, assicurarsi che gli strumenti siano stati revisionati e calibrati secondo le raccomandazioni del produttore.



	<u>Nome dello standard</u>	<u>Titolo dello standard</u>
	EN ISO 13485:2016	Dispositivi medici - Sistemi di gestione della qualità - Requisiti per scopi regolamentari (ISO 13485:2016)
	EN ISO 14971:2019	Dispositivi medici - Applicazione della gestione dei rischi ai dispositivi medici
	EN ISO 15223-1:2016	Dispositivi medici - Simboli da utilizzare nelle etichette del dispositivo medico, nell'etichettatura e nelle informazioni che devono essere fornite - Parte 1: Requisiti generali
	EN ISO 18113-1:2011	Dispositivi medico-diagnostici in vitro - Informazioni fornite dal fabbricante (etichettatura) - Parte 1: Termini, definizioni e requisiti generali
	EN ISO 18113-2:2011	Dispositivi medico-diagnostici in vitro - Informazioni fornite dal fabbricante (etichettatura) - Parte 2: Reagenti diagnostici in vitro per uso professionale
	EN ISO 23640:2015	Dispositivi medico-diagnostici in vitro - Valutazione della stabilità dei reagenti diagnostici in vitro (ISO 23640:2011)
	EN 62304:2006	Software per dispositivi medici - Processi relativi al ciclo di vita del software (IEC 62304:2006)
	EN 62366:2008	Dispositivi medici - Applicazione dell'ingegneria delle caratteristiche utilizzative ai dispositivi medici (IEC 62366:2007)
<b>Riepilogo della valutazione delle prestazioni e del follow-up delle prestazioni post-vendita</b>		
<b>Riepilogo della valutazione delle prestazioni e del follow-up delle prestazioni post-vendita</b>	<p>La valutazione delle prestazioni verifica la validità scientifica, le prestazioni analitiche e, ove opportuno, le prestazioni cliniche di <i>ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit</i> al fine di consentire un processo strutturato e trasparente in grado di generare dati affidabili e studi validi.</p> <p>La valutazione della validità scientifica è basata su una revisione sistematica della letteratura, su una valutazione dei dati disponibili, recuperati e nuovi correlati a <i>ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit</i> e al suo uso previsto, e sui pareri / sulle posizioni condivise dagli esperti delle linee guida internazionali. I dati qui presentati dimostrano la validità scientifica di <i>ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit</i> per il suo uso previsto.</p>	

Le prestazioni analitiche sono state comprovate sulla base del conseguimento degli indicatori prestazionali richiesti: limite del bianco (Limit of Blank, LoB), limite di sensibilità (Limit of Detection, LoD) e limite di quantificazione (Limit of Quantitation, LoQ), precisione (ripetibilità e riproducibilità), linearità, sostanze interferenti, contaminazione crociata, accuratezza della PCR e dei test del panel 16/120 OMS per JAK2 (concordanza, esattezza e accuratezza), intervallo di misurazione, stabilità/manipolazione dei campioni, criteri di accettabilità per la quantificazione del DNA, confronto dell'estrazione manuale e automatica, verifica dell'usabilità, utilizzo di campioni artificiali e verifica del profilo dell'esame. La valutazione di tali fonti ha dimostrato l'adeguatezza delle prestazioni analitiche di *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit per il suo uso previsto e il funzionamento sicuro per il fine, l'utente e la popolazione di pazienti previste.

Le prestazioni cliniche sono state comprovate sulla base di revisione sistematica della letteratura e di studi sulle prestazioni cliniche finalizzati alla valutazione degli indicatori delle prestazioni cliniche per quanto riguarda l'accuratezza/la concordanza: PPV, NPV, sensibilità diagnostica, specificità, quoziente di probabilità calcolato sulla base dei dati dello studio sulle prestazioni cliniche e PPA e NPA basate sullo studio di accuratezza analitica e sui dati dello studio sulle prestazioni cliniche. È stata inoltre valutata l'esperienza maturata grazie ai test diagnostici di routine. La valutazione di tali fonti ha dimostrato l'adeguatezza delle prestazioni cliniche di *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit per il suo uso previsto e il funzionamento sicuro per il fine, l'utente e la popolazione di pazienti previste.

Il sistema di valutazione post-vendita ha lo scopo di confermare la sicurezza, le prestazioni e la validità scientifica di *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit per tutta la sua durata utile prevista, per garantire che il rapporto rischi/benefici rimanga accettabile e per individuare i rischi emergenti sulla base di elementi fattuali e determinare, applicare e valutare azioni preventive e correttive.

Il follow-up delle prestazioni post-vendita ha lo scopo di confermare la sicurezza, le prestazioni e la validità scientifica di *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* per tutta la durata utile prevista del dispositivo, per garantire che il rapporto rischi/benefici rimanga accettabile e per individuare i rischi emergenti sulla base di elementi fattuali.

Il fine è quello di verificare la sicurezza e le prestazioni cliniche per tutta la durata utile prevista, di identificare rischi, limiti delle prestazioni o controindicazioni precedentemente sconosciute, di identificare e analizzare i rischi emergenti sulla base di elementi fattuali, di garantire che le prove cliniche e il rapporto rischi/benefici rimangano accettabili e di identificare eventuali usi impropri sistematici. Verranno raccolti i seguenti dati del follow-up delle prestazioni post-vendita.

L'esperienza clinica maturata in relazioni alle tendenze verrà analizzata sulla base di dati generati da studi post-vendita (sponsorizzati dalla società o avviati dagli investigatori) e su dati e prove reali (Real World Data and Evidence, RWD/RWE) dei registri dei pazienti, ove applicabile.

Feedback da parte degli utenti (operatori sanitari, key opinion leader (KOL) del settore clinico e tecnici di laboratorio), dei distributori e degli importatori raccolti attraverso sondaggi, dati pubblicati sulle prospettive dell'utente, vendite e formazione.

Valutazione della letteratura scientifica basata su una ricerca sulla letteratura riguardante il dispositivo, dispositivi simili ed equivalenti e nuove linee guida tecniche o mediche.

Informazioni su registri tecnici o specializzati e su rapporti di casi revisionate e valutate da QIAGEN.

	<p>Studi epidemiologici in qualità di studi di osservazione post-marketing per raccogliere informazioni sulle prestazioni del dispositivo.</p> <p>Il follow-up delle prestazioni post-vendita sarà aggiornato annualmente per integrare nuovi dati e risultati, studi post-vendita, riferimenti agli standard armonizzati e alle specifiche comuni rilevanti e indicazioni rilevanti per il follow-up delle prestazioni post-vendita.</p> <p>I risultati pre-specificati possono portare alla necessità di ulteriori operazioni e attività. I fattori scatenanti pre-specificati per le attività di follow-up delle prestazioni post-vendita si basano sul loro impatto sulle indicazioni del prodotto e sul rischio di benefici e possono includere i reclami dei clienti, l'emergere di dati da pubblicazioni, programmi esterni di valutazione della qualità e altri registri.</p>												
<p><b>Riepilogo delle prestazioni analitiche</b></p>	<p><b>Limite del bianco</b></p> <p>Il limite del bianco (Limit of blank, LOB) è stato determinato seguendo lo standard CLSI/NCCLS EP17-A2, su 30 campioni di sangue intero di donatori sani con stato JAK2 wild-type (Wild-Type, WT), usando tre lotti di reagenti (120 misurazioni/lotto).</p> <p>Riepilogo dei risultati del limite del bianco</p> <table border="1" data-bbox="300 1098 1020 1246"> <thead> <tr> <th></th> <th>LOB misurato</th> <th>Limite del bianco finale</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Lotto 1</td> <td>0%</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Lotto 2</td> <td>0%</td> <td>0%</td> </tr> <tr> <td>Lotto 3</td> <td>0%</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>Questo corrisponde al valore atteso in un a popolazione normale usando <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit.</p>		LOB misurato	Limite del bianco finale	Lotto 1	0%		Lotto 2	0%	0%	Lotto 3	0%	
	LOB misurato	Limite del bianco finale											
Lotto 1	0%												
Lotto 2	0%	0%											
Lotto 3	0%												

### Limite di sensibilità

Il limite di sensibilità (Limit of detection, LOD, o sensibilità analitica) è stato determinato secondo l'“approccio Probit” descritto nello standard CLSI/NCCLS EP17-A2. In questo studio sono stati analizzati 6 livelli bassi di mutazione per 3 campioni indipendenti (DNA da sangue intero MPN aggiunto a DNA di sangue intero wild-type (Wild-Type, WT)), con 3 lotti, 60 misurazioni per campione e per mutazione. I risultati ottenuti hanno indicato una sensibilità analitica di 0,042% per la mutazione JAK2 V617F.

#### Riepilogo dei risultati del LOD

	LOD misurato	Limite di sensibilità finale
Lotto 1	0,041%	
Lotto 2	0,029%	0,042%
Lotto 3	0,042%	

### Limite di quantificazione

Il Limite di quantificazione (Limit of quantitation, LOQ) è stato definito e determinato sulla base della linea guida CLSI/NCCLS EP17-A2. Il LoQ è stato definito come il più basso livello di percentuale di mutazione JAK2 V617F che si può chiaramente distinguere dal LoD di *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit con un intervallo di confidenza del 95% (rischio di errore  $\alpha = 0,05$ ). I dati dallo studio di ripetibilità a sito singolo sono stati usati per calcolare il LoQ di *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. I risultati ottenuti hanno indicato che il LoQ è di 0,233% per la mutazione JAK2 V617F.

Nel contesto del monitoraggio molecolare della malattia questo implica che se la percentuale di mutazione JAK2 V617F misurata è inferiore a 0,233% in un certo momento nel tempo, nel punto tempo successivo non è possibile quantificare in modo affidabile la riduzione di carico di alleli JAK2 V617F.

### **Linearità**

La linearità della quantificazione della mutazione JAK2 in pazienti MPN è stata valutata in base allo standard CLSI/NCCLS EP06AE, con un lotto di *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit e testando 11 livelli di mutazione per cinque diversi input di DNA. La quantificazione del carico di mutazione JAK2 nei campioni MPN è lineare; ovvero, *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit è in grado di quantificare i campioni dal valore LOD al 100% di mutazione, che corrisponde ai valori attesi nella popolazione affetta, se la concentrazione del campione di DNA quantificato è vicina a 10 ng/μL (tra 5 e 20 ng/μL).

### **Ripetibilità e riproducibilità**

La struttura dello studio di precisione a sito singolo soddisfa i requisiti dello standard CLSI/NCCLS EP5-A3. L'analisi è stata eseguita a 11 livelli di mutazione, da 0,07% a 72,67%, usando diluizioni seriali di un campione clinico di un paziente MPN. Per ogni livello di mutazione sono state ottenute 108 misurazioni da tre operatori in oltre 27 giorni (due replicati per analisi e due analisi al giorno) usando tre lotti di *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit e tre strumenti Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. La precisione per il livello del 100% è espressa dal confronto con la precisione determinata per il livello al 72,67% sulla base delle analisi del trend supportate da ulteriori dati ottenuti su un campione 100% JAK2 V617F consistente in DNA da linea cellulare MUTZ-8 (38 misurazioni).

Risultati di precisione: ripetibilità (studio sito singolo)

Campione	Percentuale di mutazione JAK2 media	DS <sub>R+</sub>	DS <sub>SEDUTA++</sub>	DS <sub>TOTALE+++</sub>	CV <sub>TOTALE</sub>
S0	100	ND	ND	≤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%

DS: deviazione standard

R+: Ripetibilità.

SEDUTA++: precisione tra sedute.

TOTALE+++ : precisione totale (incluso tra strumenti, tra operatori e tra lotti).

CV<sub>TOTALE</sub>: coefficiente di variazione per la precisione totale in percentuale.

ND: non determinato

La struttura dello studio di precisione inter-laboratori soddisfa i requisiti dello standard CLSI/NCCLS EP5-A3. Lo studio ha coinvolto quattro siti (Francia, Germania e due siti negli USA). Le analisi sono state eseguite su sette livelli di mutazione, da 1,21% a 67,64%, usando diluizioni della linea cellulare MUTZ-8 in sangue intero di donatori sani (ad es. campioni artificiali). Ogni sito ha eseguito tre estrazioni di DNA usando lo strumento QIA Symphony SP e un unico lotto di QIA Symphony DSP DNA Mini Kit. Ogni estratto di DNA è stato analizzato in otto sedute qPCR (due sedute al giorno e per sito su quattro giorni non consecutivi) usando un unico lotto di *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, creando 96 misurazioni attese per campione su tutti i siti.

Il campione L2 era non valido in un' estrazione, il che ha portato il numero totale a 88 test qPCR invece di 96. Inoltre, una seduta qPCR non era valida, il che ha portato a tre test non validi per tutti i campioni (tranne L2, quindi 2 risultati non validi). Inoltre il campione L7 non era valido in una seduta qPCR e L4 non era valido in due sedute qPCR, il che ha portato a due ulteriori test non validi.

La precisione per il livello del 100% è espressa dal confronto con la precisione determinata per il livello al 67,64% sulla base delle analisi del trend supportate da ulteriori dati ottenuti su un campione 100% JAK2 V617F consistente in DNA da linea cellulare MUTZ-8 (38 misurazioni).

#### Risultati di precisione: riproducibilità (studio inter-laboratori)

Cam- pione	Test totali	Test non validi totali	Media %MT JAK2	Intra- seduta, DS, %CV	Inter-sedute nello stesso giorno, DS, %CV	Intergio- maliera, DS, %CV	Tra siti, DS, %CV	Totale, DS, %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

**%MT JAK2:** percentuale di mutazione JAK2; **DS:** deviazione standard; **CV:** coefficiente di variazione in percentuale; **N/A:** Non applicabile.



Un ulteriore studio inter-laboratorio è stato condotto in tre siti di test (uno in Europa e due negli USA), su quattro campioni di sangue intero di pazienti MPN (ovvero campioni clinici). Ogni sito ha eseguito tre sedute di estrazione di DNA. Ogni estratto di DNA è stato analizzato in 12 sedute di qPCR (un replicato per seduta per campione, due sedute al giorno per operatore in ogni sito - coinvolti due operatori per sito - su tre giorni non consecutivi) su uno strumento Rotor-Gene Q MDx usando un solo lotto di *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. Per ogni campione sono state ottenute 36 misurazioni.

#### Ulteriori risultati di studio inter-laboratorio

Campione	N	Media %MT JAK2	Intra-seduta, DS, %CV	Inter-sedute nello stesso giorno, DS, %CV	Inter-giornaliera, DS, %CV
Campione 1	36	95,19	0,995, 1,04	0,000, 0,00	0,541, 0,57
Campione 2	36	22,83	3,988, 17,47	0,000, 0,00	1,707, 7,48
Campione 3	36	14,44	2,257, 15,63	1,398, 9,68	0,000, 0,00
Campione 4	36	4,03	0,186, 4,63	0,835, 20,74	0,000, 0,00

**Media %MT JAK2:** percentuale di mutazione JAK2; **N:** numero di misurazioni, **DS:** deviazione standard; **CV:** coefficiente di variazione in percentuale.

#### Sostanze interferenti

La struttura dello studio soddisfa i requisiti dello standard NCCLS EP7-A3 "Interference Testing in clinical Chemistry" (Test di interferenza nella chimica clinica). Per il loro potenziale effetto sulla PCR sono state selezionate in totale 19 sostanze che potrebbero essere presenti nei campioni di sangue: busulfano, citalopram idrobromuro, paroxetina cloridrato emiidrato, sertralina cloridrato, fluoxetina cloridrato, acetaminofene [paracetamolo], bilirubina non coniugata, potassio 2K

e 3K EDTA, sodio EDTA, Hgb [umana], trigliceridi, lisinopril diidrato, idrossiurea, acido acetilsalicilico, acido salicilico, tiotepa, anagrelide, interferone alfa 2b.

Sono state valutate anche sostanze dal processo di estrazione del DNA (QSL1, QSB1, QSW1, QSW2 e PK dal QIA-symphony DSP DNA Blood Mini Kit; QIAGEN Proteasi, etanolo, AW1 e AW2 da QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit).

I risultati dimostrano che queste sostanze non hanno nessun effetto interferente.

#### Sostanze interferenti

Sostanza testata	Concentrazione testata
Bilirubina non coniugata	150,3 µg/mL
Emoglobina [umana]	2000 µg/mL
Trigliceridi	30000 µg/mL
Busulfano	38,4 µg/mL
Citalopram idrobromuro	0,75 µg/mL
Paroxetina cloridrato emiidrato	1,14 µg/mL
Sertralina cloridrato	0,67 µg/mL
Fluoxetina cloridrato	3,87 µg/mL
Acetaminofene [paracetamolo]	200,7 µg/mL
Lisinopril diidrato	0,33 µg/mL
Idrossiurea	28,2 µg/mL
Acido acetilsalicilico	651,6 µg/mL

Sostanza testata	Concentrazione testata
Acido salicilico	0,6 µg/mL
Tiotepa	48 µg/mL
Anagrelide	6 µg/mL

Interferone alfa 2b*	1,8 MU/L
Potassio EDTA (2K EDTA)	2X (3600 µg/ml)
Potassio EDTA (3K EDTA) **	1X (1800 µg/ml), 3X (5400 µg/ml)
Sodio EDTA (2Na-EDTA) **	1X (3000 µg/ml), 3X (9000 µg/ml)
QSL1	2% del volume totale del campione
QSB1	2% del volume totale del campione
QSW1	2% del volume totale del campione
QSW2	2% del volume totale del campione
Proteinasi K (PK) †	2% del volume totale del campione
	2x il volume restante atteso dopo il processo di estrazione
Proteinasi K (PK) †	3x il volume restante atteso dopo il processo di estrazione
QIAGEN Proteasi	1,29E-05% del volume totale del campione
Etanolo (EtOH)	1,29E-03% del volume totale del campione
Buffer AW1	1,00 E-01% del volume totale del campione
Buffer AW2	1,00% del volume totale del campione

\* Il dosaggio raccomandato per i pazienti PV è 3 MU, che si suppone venga distribuito in 5 L di sangue (individuo di 80 kg), da cui deriva una concentrazione di 0,6 MU/L. Seguendo le raccomandazioni dello standard NCCLS EP7-A2, questa concentrazione è stata testata tre volte, ovvero 1,8 MU/L.

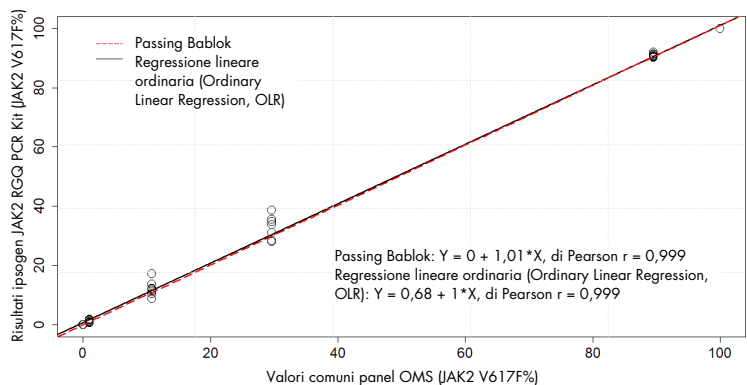
\*\* 1X concentrazione secondo il fornitore

† PK causa un effetto interferente quando testata al 2% del volume totale del campione (improbabile che accada); ulteriori test hanno confermato che la PK viene rimossa durante il processo di estrazione: non è attesa alcuna interferenza in normali condizioni d'uso.

### Test del Panel di riferimento internazionale OMS per JAK2 V617F genomico (NIBSC, codice panel 16/120)

Il primo Panel di riferimento internazionale OMS per JAK2 V617F genomico sviluppato dall'Istituto nazionale per gli standard e il controllo biologici (NIBSC, codice panel 16/120) è stato testato usando tre lotti di ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit (tre replicati per livello del panel di riferimento e per lotto reagente). Gli esperimenti sono stati

eseguiti in tre giornate da un operatore, usando uno strumento Rotor-Gene Q 5plex HRM. La concordanza tra i risultati di ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit e i valori comuni pubblicati nelle Istruzioni per l'uso del Panel di riferimento è stata valutata usando una regressione lineare ordinaria (pendenza: 1,003, IC 95% [0,997 ; 1,010] – intercetta: 0,677, IC 95% [0,212 ; 1,289]) e una regressione Passing-Bablok (pendenza: 1,01, IC 95% [1,00 ; 1,021] – intercetta: 0,00, IC 95% [-0,02 ; 0,010]). La concordanza è confermata, dimostrando l'idoneità del kit nel fornire dati su JAK2 V617F che sono coerenti con altre tecniche diagnostiche comunemente usate.



**Concordanza tra i risultati di ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit e i valori comuni del Panel di riferimento internazionale OMS per JAK2 V617F genomico (NIBSC, codice panel 16/120).**

La concordanza è stata valutata usando una regressione lineare ordinaria (OLR) e una regressione Passing Bablok.

Il panel comprendere sette livelli JAK2 V617F: 100%, 89,5%, 29,6%, 10,8%, 1,00%, 0,03% e 0%. I valori comuni dell'OMS sono stati determinati usando un range di tecniche comunemente usate nell'ambito di uno studio di collaborazione internazionale; i valori di riferimento attribuiti a ciascun livello JAK2 V617F% sono valori medi (per ulteriori informazioni su <https://www.nibsc.org>).

### **Esattezza e accuratezza**

L'esattezza di misurazione è inversamente proporzionale all'errore sistematico di misurazione (Standard Error, SE o deviazione). La deviazione è stata calcolata sulla base delle istruzioni della linea guida NCCLS EP09c, per ogni livello di JAK2 V617F% del panel di riferimento, per ogni lotto reagente e in tutti i lotti reagente, usando i dati dello studio sopra descritto. I più alti valori di deviazione sono stati ottenuti con *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit lotto 2.

L'accuratezza è il grado di concordanza tra il risultato di test e il valore di riferimento accettato (in questo caso, il valore assegnato a ogni livello JAK2 V617F% del panel OMS). L'accuratezza prende in considerazione sia esattezza che precisione, ed è inversamente proporzionale all'errore totale, calcolato come mostrato nella tabella seguente.

Deviazione ed errore di misurazione				
Panel OMS Valore di riferimento <i>codice fiala</i>	Lotto <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit	Deviazione (Standard Error, SE)  Per lotto  <i>[[IC 95%]</i>	Deviazione (Standard Error, SE)  Complessivamente  <i>[[IC 95%]</i>	Errore totale (Precisione)
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 (Standard Error): errore sistematico o deviazione, ovvero la differenza tra la media delle singole misurazioni ottenute con *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* ( $\bar{V}_{\text{JAK2 Kit}}$ ) e il valore comune del panel di riferimento OMS ( $V_{\text{Ref}}$ ).

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

L'errore totale (Total Error, TE) è calcolato come  $TE = \sqrt{s^2 + SE^2}$ , dove  $s$  è la deviazione standard (errore casuale).

IC 95%: Intervallo di confidenza (IC) al 95%

N/A: non applicabile

### Accuratezza analitica

Lo scopo di questo studio era convalidare l'accuratezza analitica di *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit in condizioni di normale utilizzo con campioni clinici da soggetti con sospetta neoplasia mieloproliferativa. Questo studio è stato eseguito su campioni di gDNA estratti da un totale di 473 campioni: 276 con sospetta PV, 98 con TE e 99 con PMF. Lo stato di JAK2 V617F dei campioni paziente ottenuto con *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit è stato confrontato con lo stato di JAK2 V617F ottenuto con il metodo di riferimento per la determinazione dello stato di JAK2, ovvero un sequenziamento bidirezionale (Bi-Directional Sequencing, BDS) convalidato in maniera indipendente. Siccome il LoD di *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit è 0,042% di JAK2 V617F, lo stato di JAK2 V617F di un campione paziente testato con *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit è positivo sopra o a questo limite e negativo sotto di esso. Dei 473 campioni, 22 erano positivi a JAK2 con *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit e negativi con BDS.

La concordanza complessiva è del 95,35% (451 soggetti su 473; IC 95%: 93,04%, 97,06%). La concordanza dei positivi è stata del 100% (165 soggetti su 165; IC 95%: 97,79%, 100%) e la concordanza dei negativi è stata del 92,86% (286 soggetti su 308; IC 95%: 89,39%; 95,47%). I risultati sono riportati di seguito.

Concordanza tra *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit e sequenziamento bidirezionale Sanger in popolazione MPN (popolazioni TE, PMF e PV combinate)

		Sequenziamento bidirezionale Sanger		
		Positivi a JAK2 V617F	Negativi a JAK2 V617F	Totale
<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit	Positivi a JAK2 V617F	165	22	187
	Negativi a JAK2 V617F	0	286	286
	Totale	165	308	473



### Valutazione dei risultati dello studio di accuratezza analitica in coorti MPN

La concordanza tra i risultati ottenuti per la mutazione JAK2 V617F con *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit e con il sequenziamento Sanger (Bi-Directional Sequencing, BDS) in soggetti con TE, PMF e PV è fornita separatamente:

- per TE, la concordanza complessiva è del 89,8% (88 soggetti su 98; IC 95%: 82,03–95,0%), la concordanza dei positivi è del 100% (43 soggetti su 43; IC 95%: 91,78–100%) e la concordanza dei negativi è del 81,82% (45 soggetti su 55; IC 95%: 69,1–90,92%).
- per PMF, la concordanza complessiva è del 93,94% (93 soggetti su 99; IC 95%: 87,27–97,74%), la concordanza dei positivi è del 100% (51 soggetti su 51; IC 95%: 93,02–100%) e la concordanza dei negativi è del 87,5% (42 soggetti su 48; IC 95%: 74,75–95,27%).
- per PV, la concordanza complessiva è del 97,83% (270 soggetti su 276; IC 95%: 95,33–99,2%), la concordanza dei positivi è del 100% (71 soggetti su 71; IC 95%: 94,94–100%) e la concordanza dei negativi è del 97,07% (199 soggetti su 205; IC 95%: 93,74–98,92%).

I campioni che hanno dato risultati discordanti apparivano avere livelli di mutazione inferiori alla capacità di rilevazione BDS (10% circa). Siccome il sequenziamento Sanger non è sensibile come l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, che può riportare valori fino a 0,042% di JAK2 V617F (ovvero il valore LoD), è stato condotto uno studio separato usando un metodo di sequenziamento convalidato di ultima generazione (Next-Generation Sequencing, NGS) per rilevare gli alleli JAK2 V617F nei 15 campioni discordanti su 22 (nove TE, cinque PMF

	<p>e un PV), nonché una serie di 22 campioni selezionati a caso di campioni concordanti positivi e negativi a JAK2 V617F. Lo stato JAK2 V617F dei campioni paziente è stato determinato con il metodo NGS sulla base del relativo limite di sensibilità analitica (ovvero tra 1% e 2% di JAK2 V617F). Quindi, lo stato di JAK2 V617F di un campione paziente era positivo se la mutazione JAK2 V617F veniva rilevata con il metodo NGS e, reciprocamente, lo stato di JAK2 V617F era negativo se la mutazione JAK2 V617F non veniva rilevata.</p> <p>Tutti i 15 campioni discordanti sono risultati positivi con NGS, in accordo con <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit. Tutti i campioni concordanti hanno dato lo stesso risultato con NGS e in accordo con <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit e BDS. Gli altri 7 campioni sono stati considerati come discordanti in quanto non erano disponibili dati NGS per questi campioni. Conclusioni dello studio di accuratezza analitica.</p> <p>L'accuratezza di <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit è stata del 98,3% per il rilevamento degli alleli JAK2 V617F in campioni di soggetti con livelli JAK2 V617F <math>\geq 0,042\%</math> (ovvero il valore LoD).</p>
<p><b>Riepilogo delle prestazioni cliniche</b></p>	<p>La sensibilità è stata del 94,64% (IC 95%; 85,13%, 98,88%) a indicare che <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit entro i criteri diagnostici dell'OMS dovrebbe rilevare la PV nella stragrande maggioranza dei soggetti con la malattia.</p> <p>La specificità della diagnosi di PV usando <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit entro i criteri diagnostici dell'OMS è stata del 95,62% (IC 95%; 91,19%, 98,22%), a indicare che ci si attende anche che questo esame escluda la PV nella stragrande maggioranza dei soggetti senza la malattia.</p>

	<p>Usando <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit entro i criteri diagnostici dell'OMS il PPV è stato del 88,33% (IC 95%; 77,27%, 93,57%)* e l'NPV è stato del 98,08% (IC 95%; 94,8%, 99,4%).</p> <p>Il quoziente di probabilità di un test negativo usando <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit, per la diagnosi di PV, entro i criteri diagnostici dell'OMS è stato di 21,61 (IC 95%; 10,44, 44,71), a indicare che il risultato positivo a JAK2 V617F è più probabile che si verifichi in soggetti con PV rispetto a quelli senza PV.</p> <p>Il quoziente di probabilità di un test positivo usando <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit, per la diagnosi di PV, entro i criteri diagnostici dell'OMS è stato di 0,06 (IC 95%; 0,02, 0,18), a indicare che il risultato negativo a JAK2 V617F è molto meno probabile che si verifichi in soggetti con PV rispetto a quelli senza PV.</p>
<p><b>Riferibilità metrologica</b></p>	
<p><b>Riferibilità metrologica di valori assegnati</b></p>	<p>La riferibilità metrologica dei valori assegnati ai calibratori e ai materiali di controllo, compresa l'identificazione dei materiali di riferimento applicati, e/o procedure di misurazione di riferimento di ordine superiore e informazioni a proposito della massima variazione da lotto a lotto (stabilita autonomamente) fornite con le cifre e unità di misura rilevanti.</p> <p>Il primo Panel di riferimento internazionale OMS per JAK2 V617F genomico (NIBSC, codice panel 16/120) è stato sviluppato nel 2016 dal Comitato di Esperti sulla Standardizzazione Biologica dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) (consultare il documento dell'OMS WHO/BS/2016.2293).</p>


\* Il PPV dipende dalla prevalenza. Dato che la prevalenza era bassa nella popolazione dello studio e sensibilità e specificità erano indipendenti dalla prevalenza, sensibilità e specificità sono più rilevanti.

	<p>Il panel è costituito da sette campioni liofilizzati di DNA genomico umano prodotti combinando DNA genomico da linee cellulari JAK2 wild-type e JAK2 V617F, e fornisce standard per una varietà di livelli clinicamente rilevanti di JAK2 V617F, espressi sotto forma di percentuale del JAK2 totale, da 0% a 100%. Consultare <a href="http://www.nibsc.org/science_and_research/advancedtherapies/genomic_reference_materials/jak_2_v617f_(who).aspx">www.nibsc.org/science_and_research/advancedtherapies/genomic_reference_materials/jak_2_v617f_(who).aspx</a> e Sanzone AP et al. (2016) <i>Collaborative study to evaluate the proposed WHO 1st International Reference Panel for Genomic JAK2 V617F</i>.</p> <p>Né questo panel, né i calibratori dei valori assegnati (derivati da questi materiali standard) sono inclusi nell'<i>ipsogen</i><sup>®</sup> JAK2 RGQ PCR Kit. <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit contiene materiali di controllo che non sono però derivati dai materiali di riferimento OMS. Di conseguenza non esiste un report di riferibilità metrologica.</p> <p>È stata comunque valutata e confermata la concordanza dei risultati di <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit con i valori comuni del panel:</p> <p>lo studio è descritto nelle <i>istruzioni per l'uso (manuale)</i> di <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit.</p>
<p><b>Profilo e formazione utente consigliate</b></p>	
<p><b>Profilo utente</b></p>	<p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit è destinato all'uso professionale. Il prodotto deve essere utilizzato esclusivamente da professionisti preparati e addestrati in modo specifico all'uso delle tecnologie di biologia molecolare e con competenze specifiche sulla tecnologia di questo dispositivo. La procedura del dispositivo deve essere implementata in un ambiente di laboratorio di biologia molecolare.</p>

<b>Formazione utente</b>	<p>Il prodotto deve essere utilizzato esclusivamente da professionisti preparati e addestrati in modo specifico all'uso delle tecnologie di biologia molecolare e con competenze specifiche sulla tecnologia di questo dispositivo. La procedura del dispositivo deve essere implementata in un ambiente di laboratorio di biologia molecolare.</p>
<b>Rischi e avvertenze</b>	
<b>Rischi residui e effetti indesiderati</b>	<p>I rischi residui rilevanti sono stati identificati e divulgati all'utente sotto forma di avvertenze e precauzioni nelle Istruzioni per l'uso di <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● <b>Rischio di contaminazione</b> Fare riferimento alle sezioni "qPCR sullo strumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM con rotore con 72 provette" e "Precauzioni" delle Istruzioni per l'uso. <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Prestare particolare attenzione per evitare la contaminazione da carryover del DNA o del prodotto della PCR, che genererebbe un segnale falso positivo.</li> <li>○ Utilizzare puntali per pipetta nuovi e resistenti alla contaminazione da aerosol durante tutte le fasi di pipettatura, per evitare fenomeni di contaminazione crociata dei campioni e dei reagenti.</li> <li>○ Non dimenticare di sostituire i puntali tra una provetta e l'altra per evitare qualsiasi contaminazione non specifica del template o della miscela di reazione che potrebbe portare a risultati falsi positivi. Iniziare aggiungendo i campioni di test, poi gli standard e poi i controlli.</li> <li>○ Prestare particolare attenzione per evitare la contaminazione delle miscele con i materiali sintetici contenuti nei reagenti degli standard di quantificazione JAK2 MT e JAK2 WT e con i reagenti del controllo Mutante JAK2 e del controllo JAK2 WT.</li> </ul> </li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Rischio di deterioramento dei reagenti del kit che può causare il fallimento della seduta qPCR Fare riferimento alla sezione “qPCR sullo strumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM con rotore con 72 provette” &gt; “Procedura” &gt; “Allestimento dell’esperimento qPCR” delle Istruzioni per l’uso. Importante: per evitare che il materiale si degradi, la fase di scongelamento non deve durare più di 30 minuti.</li> <li>● Rischio di posizionamento errato della provetta nel rotore che può causare risultati anomali Fare riferimento alla sezione “Trattamento dei campioni sullo strumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM con rotore da 72 provette” delle Istruzioni per l’uso. Importante: le provette devono essere inserite nel rotore nel modo indicato nella Figura 6 delle <i>Istruzioni per l’uso di ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit</i> dato che l’analisi automatizzata impostata nel profilo dell’esame si basa su questa organizzazione. Se si usa uno schema diverso, si otterranno risultati anomali.</li> </ul>
<p><b>Avvertenze e precauzioni</b></p>	<p>Tenere presente che potrebbe essere richiesto di consultare le norme locali per la segnalazione al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all’autorità di regolamentazione del Paese dell’utente e/o del paziente di gravi incidenti verificatisi in relazione al dispositivo.</p> <p><b>Informazioni sulla sicurezza</b></p> <p>Durante la manipolazione di sostanze chimiche, è opportuno indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le corrispondenti schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS). Le schede sono disponibili online nel pratico formato PDF sul sito <a href="http://www.qiagen.com/safety">www.qiagen.com/safety</a>, dove è possibile cercare, visualizzare e stampare la scheda SDS di ogni kit e di ogni componente del kit QIAGEN.</p>

- I campioni sono potenzialmente infettivi. Smaltire campioni e materiali di scarto dell'esame nel rispetto delle procedure di sicurezza locali.

<p><b>CAUTELA</b></p> 	<p>NON aggiungere candeggina o soluzioni acide direttamente al campione o alle sostanze di scarto della preparazione.</p>
---	---

### Informazioni di emergenza

- CHEMTREC  
Al di fuori di USA e Canada +1 703-527-3887

### Precauzioni

- L'uso dei test qPCR deve avvenire nel rispetto delle buone pratiche di laboratorio, inclusa la manutenzione dell'apparecchiatura dedicata alla biologia molecolare e della conformità ai regolamenti e agli standard pertinenti.
- Questo kit è destinato all'uso diagnostico in vitro. Le istruzioni e i reagenti forniti nel kit sono stati verificati e approvati per garantire prestazioni ottimali.
- Il test deve essere usato con campioni di sangue intero con anti-coagulante potassio EDTA (K<sub>2</sub>-EDTA) conservati a 2–8°C per non più di 96 ore prima dell'estrazione del DNA.
- Tutte le sostanze chimiche e i materiali biologici sono potenzialmente pericolosi. I campioni dei pazienti e i campioni analitici sono potenzialmente infettivi e devono essere trattati come materiale a rischio biologico.
- Smaltire campioni e materiali di scarto dell'esame nel rispetto delle procedure di sicurezza locali.

- I reagenti per *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* sono diluiti in modo ottimale. Non diluire ulteriormente i reagenti: questo potrebbe determinare una riduzione delle prestazioni.
- Non utilizzare volumi di reazione (miscela di reazione più campione) inferiori a 25  $\mu$ L.
- Tutti i reagenti forniti con *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* sono destinati esclusivamente all'uso con gli altri reagenti del medesimo kit. Non sostituire alcun reagente di un kit con lo stesso reagente di un altro *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit*, anche dello stesso lotto, poiché ciò potrebbe influire sulle prestazioni.
- Fare riferimento al *Manuale utente di Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*, al *Manuale utente di Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application*, al *Manuale utente di Gamma Plug-In* e al *Manuale utente dello strumento QIASymphony SP* per ulteriori avvertenze, precauzioni e procedure.
- In caso di alterazione dei tempi e delle temperature di incubazione, i dati generati potrebbero essere erronei o discordanti.
- Non utilizzare componenti scaduti o conservati in modo scorretto.
- Le miscele di reazione potrebbero alterarsi in caso di esposizione alla luce.
- Prestare particolare attenzione per evitare la contaminazione delle miscele con i materiali sintetici contenuti nei reagenti degli standard di quantificazione JAK2 MT e JAK2 WT e con i reagenti del controllo Mutante JAK2 e del controllo JAK2 WT.
- Prestare particolare attenzione per evitare la contaminazione da carryover del DNA o del prodotto della PCR, che genererebbe un segnale falso positivo.
- Prestare particolare attenzione per evitare la contaminazione da DNasi, che potrebbe determinare la degradazione del DNA stampo.
- Utilizzare pipette dedicate singole per la preparazione delle miscele delle reazioni e per l'aggiunta dei template.



- Non aprire lo strumento Rotor-Gene Q MDx finché l'analisi non è terminata.
- Non aprire le provette Rotor-Gene Q al termine dell'analisi.
- Procedere con cautela e assicurarsi che i test sui campioni vengano svolti correttamente, facendo particolare attenzione all'inserimento errato dei campioni, agli errori di caricamento e di pipettamento.
- Gestire i campioni in modo sistematico per garantire la corretta identificazione e tracciabilità degli stessi in qualsiasi momento.

Si consiglia quindi quanto segue:

- Utilizzare materiale da laboratorio privo di nucleasi (ad es. pipette, puntali per pipette, fiale di reazione) e indossare i guanti durante l'esecuzione dell'esame.
- Utilizzare puntali per pipetta nuovi e resistenti alla contaminazione da aerosol durante tutte le fasi di pipettamento, per evitare fenomeni di contaminazione crociata dei campioni e dei reagenti.
- Preparare la miscela master pre-PCR con materiale dedicato (pipette, puntali ecc.) in un'area riservata dove non vengano introdotte matrici di DNA (DNA, plasmidi o prodotti della PCR). Aggiungere il template in un'area separata (preferibilmente in un'altra stanza) con materiale specifico (pipette, puntali ecc.).
- Per informazioni sulla risoluzione dei problemi e sulla sicurezza riguardanti i kit di estrazione QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (n. cat. 61104) e QIASymphony DNA DSP Mini Kit (n. cat. 937236), consultare le Istruzioni per l'uso corrispondenti.
- Per informazioni sulla risoluzione dei problemi relativi a Rotor-Gene AssayManager v2.1, fare riferimento al *Manuale utente del Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application*.

Inoltre, fare riferimento alle sezioni delle *Istruzioni per l'uso di ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* per:

- Sezione "Conservazione e manipolazione dei reagenti":  
"Evitare di scongelare e congelare ripetutamente. Non superare il numero massimo di cinque cicli di congelamento-decongelamento."
- Sezione "Estrazione automatizzata del DNA genomico con QIA Symphony DSP DNA Mini Kit":  
"Se una cartuccia reagenti è utilizzata solo parzialmente, richiuderla con le strisce sigillanti riutilizzabili fornite e chiudere immediatamente le provette contenenti la proteinasi K al termine del protocollo per evitare l'evaporazione."
- "Limitazioni"
  - Il kit è destinato all'uso professionale.
  - Il prodotto deve essere utilizzato esclusivamente da professionisti preparati e addestrati in modo specifico all'uso delle tecnologie di biologia molecolare e con competenze specifiche sulla tecnologia di questo dispositivo. La procedura del dispositivo deve essere implementata in un ambiente di laboratorio di biologia molecolare.
  - *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* non è un dispositivo automatico; tuttavia, l'analisi è assistita da un software dedicato per la quantificazione automatica della mutazione.
  - Il kit deve essere utilizzato seguendo le istruzioni fornite nelle *Istruzioni per l'uso di ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit*, in combinazione con uno strumento approvato (vedere l'elenco nella sezione "Materiale necessario ma non in dotazione").
  - Prestare attenzione alle date di scadenza stampate sull'etichetta della confezione e sulle etichette delle provette. Non utilizzare componenti scaduti.

- Tutti i reagenti forniti con *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit sono destinati esclusivamente all'uso con gli altri reagenti del medesimo kit. Se questa indicazione non viene rispettata, le prestazioni potrebbero risentirne.
  - *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit è convalidato solo per sangue umano intero periferico con anticoagulante 2K-EDTA raccolto da pazienti con MPN sospetta o diagnosticata.
  - *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit è stato convalidato esclusivamente per l'uso con QIAAsymphony DNA DSP Mini Kit (n. cat. 937236) o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (n. cat. 61104).
  - *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit è convalidato esclusivamente per l'uso con lo strumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (per la PCR) e con lo strumento QIAAsymphony SP (per la preparazione dei campioni).
  - Qualsiasi impiego non previsto del prodotto e/o alterazione dei componenti esenteranno QIAGEN da qualunque responsabilità.
  - Gli eventuali risultati diagnostici generati dal sistema devono essere interpretati in combinazione con gli esiti di altri esami di patologia clinica. L'assenza della mutazione JAK2 V617F/G1849T non esclude la presenza di altre mutazioni JAK2. Il test può produrre risultati falsi negativi qualora siano presenti ulteriori mutazioni nell'intervallo di nucleotidi 88504–88622.
  - È responsabilità dell'utente convalidare le prestazioni del sistema per qualunque procedura utilizzata in laboratorio che non sia stata già oggetto di uno studio di valutazione delle prestazioni da parte di QIAGEN
- “Caratteristiche delle prestazioni, Sostanze interferenti”
    - La struttura dello studio soddisfa i requisiti dello standard NCCLS EP7-A3 “Interference Testing in clinical Chemistry” (Test di interferenza nella chimica clinica). Per il loro

potenziale effetto sulla PCR sono state selezionate in totale 19 sostanze che potrebbero essere presenti nei campioni di sangue: busulfano, citalopram idrobromuro, paroxetina cloridrato emiidrato, sertralina cloridrato, fluoxetina cloridrato, acetaminofene [paracetamolo], bilirubina non coniugata, potassio 2K e 3K EDTA, sodio EDTA, Hgb [umana], trigliceridi, lisinopril diidrato, idrossiurea, acido acetilsalicilico, acido salicilico, tiotepa, anagrelide, interferone alfa 2b.

- Sono state valutate anche sostanze dal processo di estrazione del DNA (QSL1, QSB1, QSW1, QSW2 e PK dal QIASymphony DSP DNA Blood Mini Kit; QIAGEN Proteasi, etanolo, AW1 e AW2 da QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit).
- I risultati dimostrano che queste sostanze non hanno nessun effetto interferente.

- “Guida alla risoluzione dei problemi”

La guida alla risoluzione dei problemi può essere utile per risolvere eventuali problemi che potrebbero presentarsi nei seguenti componenti del flusso di lavoro:

- Trattamento dei campioni e relativi errori
- Errore nella concentrazione di DNA
- Il campione non è valido a causa della bassa concentrazione
- Errore utente con *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit
- Segnale basso o assente nel campione e nei controlli
- Errori nel funzionamento dell'RGQ

Per ricevere assistenza tecnica e ulteriori informazioni, consultare il sito del nostro centro di assistenza tecnica [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) (per informazioni di contatto, visitare il sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).