

Säkerhets- och prestandasammanfattning för *ipsogen*[®] JAK2 RGQ PCR Kit



Version 2



För in vitro-diagnostisk användning

För användning med instrumentet Rotor-Gene[®] Q MDx 5plex HRM

För användning med *ipsogen*[®] JAK2 RGQ PCR Kit



0197



674623



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
TYSKLAND



1124396SV

Säkerhets- och prestandasammanfattning

Produktidentifiering och allmän information	
Namn eller handelsnamn, inklusive modellnumern eller version	<i>ipsogen</i> [®] JAK2 RGQ PCR Kit
Tillverkare (namn och adress)	QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 Hilden 40724 Tyskland
Grundläggande unik produktidentifiering (UDI-DI)	4053228JAK2RGQ00000001R1
Tillverkarens enskilda registreringsnummer (Single Registration Number, SRN), i förekommande fall	DE-MF-000004949
Nomenklatur för medicinteknisk produkt	W01060299 Test av förvärvad gen eller kromosomändring

Produktens klass	Klass C
Är när produkten först gjordes tillgänglig på EU-marknaden	<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (katalognummer 673623, version 1), giltig under EU IVD Direktiv 98/79/EG och Kommissionens Beslut 2010/227/EU (IVDD), gjordes först tillgänglig på EU-marknaden 2014.
Auktoriserad representant, i förekommande fall	Ej tillämpligt
Anmält organ och enskilt identifieringsnummer (Single Identification Number, SIN)	TUV Rheinland; Anmält organ nummer 0197
Avsedd användning för produkten	
Avsedd användning	<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit är en kvantitativ in vitro PCR-analys för detektion och kvantifiering av JAK2 V617F/G1849T-mutationen i genomiskt DNA extraherat från humant perifert helblod antikoagulerat med 2K-EDTA. Resultat som erhålls med <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit är avsedda som komplement vid bedömning av misstänkta Philadelphia-kromosomnegativa myeloproliferativa neoplasmer (Myeloproliferative Neoplasm, MPN) och för övervakning av molekylära sjukdomar hos MPN-patienter. Alla diagnostiska resultat som erhålls måste tolkas tillsammans med övriga kliniska, patologiska fynd.

<p>Indikationer och målpopulationer</p>	<p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit är avsett för undersökning av patienter med misstänkta Philadelphia-kromosomnegativa myeloproliferativa neoplasmer (Myeloproliferative Neoplasm, MPN) och för övervakning av molekyllära sjukdomar hos MPN-patienter.</p>
<p>Kontraindikationer och/eller begränsningar</p>	<p>Det här kitet är avsett för professionell användning.</p> <p>Produkten är endast avsedd att användas av personal som fått särskild utbildning i molekyllärobiologiska tekniker och är väl förtrogna med produktens teknik. Produktens procedur ska tillämpas i molekyllärobiologiska laboratoriemiljöer.</p> <p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit ska enbart användas med QIAGEN Rotor-Gene® Q MDx 5plex HRM -instrumentet och andra godkända arbetsflödeskomponenter som anges i bruksanvisningen. <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit är inte en automatiserad produkt. Analysen utförs dock med hjälp av en dedikerad programvara för automatisk kvantifiering av mutationer.</p> <p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit måste användas i enlighet med de anvisningar som finns i denna bruksanvisning.</p> <p>Var uppmärksam på de utgångsdatum som anges på förpackningens etikett och etiketterna på rören. Använd inte komponenter vars utgångsdatum har passerat.</p> <p>Alla reagenser som medföljer <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit är endast avsedda för användning med andra reagenser som medföljer i samma kit. Om dessa riktlinjer inte följs kan prestandan påverkas.</p>

	<p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit har endast validerats för humant perifert helblod antikoagulerat med 2K-EDTA från patienter med misstänkt eller fastställd MPN.</p> <p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit har endast validerats för användning med QIAAsymphony DNA DSP Mini Kit (kat.nr 937236) eller QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (kat.nr 61104).</p> <p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit har endast validerats för användning med Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (för PCR) och QIAAsymphony SP (för provberedning).</p> <p>All användning av produkten tillsammans med andra märken och/eller ändring av komponenterna gör att QIAGEN:s garanti upphör att gälla.</p> <p>Alla diagnostiska resultat som erhålls måste tolkas tillsammans med övriga kliniska, patologiska fynd. Frånvaro av JAK2 V617F/G1849T-mutation utesluter inte förekomst av andra JAK2-mutationer. Testet kan rapportera falskt negativa resultat om andra mutationer förekommer i nukleotiderna 88504 till 88622.</p> <p>Det är användarens ansvar att validera systemegenskaperna för alla de procedurer som används i laboratoriet som inte ingår i QIAGENs prestandastudier.</p>
<p>Produktbeskrivning</p>	
<p>Produktbeskrivning</p>	<p>a) Allmän beskrivning av produkten, inklusive avsedd användning och avsedda användare</p> <p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit är en kvantitativ in vitro PCR-analys för detektion och kvantifiering av JAK2 V617F/G1849T-mutationen i</p>

genomiskt DNA extraherat från humant perifert helblod antikoagulerat med 2K-EDTA.

Resultat som erhålls med *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit är avsedda som komplement vid bedömning av misstänkta Philadelphia-kromosomnegativa myeloproliferativa neoplasmer (Myeloproliferative Neoplasm, MPN) och för övervakning av molekylära sjukdomar hos MPN-patienter. Alla diagnostiska resultat som erhålls måste tolkas tillsammans med övriga kliniska, patologiska fynd.

Det här kitet är avsett för professionell användning.

Produkten är endast avsedd att användas av personal som fått särskild utbildning i molekylärbiologiska tekniker och är väl förtrogna med produktens teknik. Produktens procedur ska tillämpas i molekylärbiologiska laboratoriemiljöer.

b) Beskrivning av användningsprincipen för analysmetoden eller principer för användning av instrumentet;

ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit utnyttjar principen för qPCR-oligonukleotidhydrolys tillsammans med tekniken Amplification Refractory Mutation System (ARMS) vilken är en enkel metod för att detektera mutationer som involverar ett enskilt basskifte (även kallat en enkelnukleotidpolymorfism (Single Nucleotide Polymorphism, SNP)). Polymeraskedjereaktionen använder sig av framåtriktade och bakåtriktade primers som hybridiserar mot en specifik DNA-sekvens eller målsekvens för att amplifiera den. ARMS-tekniken grundar sig på användning av sekvensspecifika PCR-primers som endast tillåter amplifiering av test-DNA när målallelen förekommer i provet. Principen för qPCR-oligonukleotidhydrolys baseras på en färglänkad oligonukleotid (även kallat sökfragment) som förekommer i qPCR-mixen. Det här sökfragmentet

som består av en oligonukleotid märkt med en 5'-reporterfärg och en nedströms 3'-quencher utan färg, hybridiserar till en målsekvens inom PCR-produkten. qPCR-analys med hydrolyssökfragment utnyttjar 5'→3' exonukleasaktiviteten i *Thermus aquaticus* (Taq) DNA-polymeras. När sökfragmentet är intakt fluorescerar inte reporterfärgen så länge reportern och quenchern är i närheten av varandra, vilket främst uppnås genom energiöverföring av Förster-typ. Om målobjektet är närvarande under PCR binder både framåt och omvända primrar specifikt till sökfragmentet och flankerar den. DNA-polymerasets 5'→3'-exonukleasaktivitet gör att sökfragmentet klyvs mellan reporter och quencher vilket leder till fluorescens hos reportern. Denna process sker i varje cykel och stör inte den exponentiella ackumuleringen av produkt. Sålunda är ökningen av fluorescensen direkt proportionell mot målamplicifieringen under PCR. Inom qPCR, kallas antalet PCR-cykler som behövs för att detektera en signal ovanför tröskeln för korspunkten (Crossing Point, Cp) eller cykeltröskelvärdet (Cycle Threshold, Ct), och är direkt proportionell till mängden mål som finns i början av reaktionen.

c) Skäl till att kvalificera produkten som en enhet samt produktens riskklass (utdrag från det regulatoriska strategidokumentet);

ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit är ett kit med reagenser som är avsedda att användas tillsammans med ett real-time PCR-instrument (QIAGEN Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-instrumentet) för undersökning av prov från helblod i syfte att ge information om en patologisk process eller ett tillstånd (i tillägg till utvärdering och övervakning av molekylär respons för PH(-) MPN). Därmed följer produkten definitionen av en IVDMD som det anges i IVDR. JAK2 V617F-mutationen är en del av diagnosalgoritmen och kan även vara en uppföljningsbiomarkör för Myeloproliferativa neoplasmer (Myeloproliferative Neoplasms, MPN) vilka utgörs av Polycytemia vera (Polycythemia Vera, PV), Primär myelofibros (Primary Myelofibrosis, PMF)

och Essentiell trombocytemi (Essential Thrombocythemia, ET). Därmed är produktens riskklass C i enlighet med IVDR.

d) Beskrivning av produktens komponenter.

ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit består av följande komponenter:

Materialnummer	Komponentnamn/beskrivning	Mängd per kit i antal rör (volym)
1073859	JAK2 MT-reaktionsmix Oligonukleotider för detektering av MT-allelen (mutant) samt för intern kontroll, PCR-buffert, MgCl ₂ , dNTP:er <i>Internamplifieringskontrollen som medföljer reaktionsmixarna används för att övervaka qPCR-hämning och utesluta misslyckade PCR-reaktioner vid eventuella negativa resultat.</i>	1 (1010 µl)
1073856	JAK2 WT-reaktionsmix Oligonukleotider för detektering av WT-allelen (vildtyp) samt för intern kontroll, PCR-buffert, MgCl ₂ , dNTP:er <i>Internamplifieringskontrollen som medföljer reaktionsmixarna används för att övervaka qPCR-hämning och utesluta misslyckade PCR-reaktioner vid eventuella negativa resultat.</i>	1 (1010 µl)
1073892	<i>Taq DNA-polymeras (HotStarTaq® 5 enheter/µl)</i>	1 (85 µl)
1073865	JAK2 WT-kontroll (100 % vildtypallel) (Cellinje-DNA med 100 % vildtyp-allel, amplifieringskontroll)	1 (33 µl)
1073862	JAK2-mutantkontroll (100 % V617F-allel) (Cellinje-DNA med 100 % V617F-allel, amplifieringskontroll)	1 (33 µl)

Tabellen fortsätter på nästa sida

Tabellen fortsätter från föregående sida

Materialnummer	Komponentnamn/beskrivning	Mängd per kit i antal rör (volym)
1095204.1 till .4 (JAK2 WT Quant-standarder uppsättning: QS1 till QS4)	JAK2 WT Quant-standard 1 (5 x 10 ¹ vildtyp kopior/5 µl)	1 (20 µl)
	JAK2 WT Quant-standard 2 (5 x 10 ² vildtyp kopior/5 µl)	1 (20 µl)
	JAK2 WT Quant-standard 3 (5 x 10 ³ vildtyp kopior/5 µl)	1 (20 µl)
	JAK2 WT Quant-standard 4 (5 x 10 ⁴ vildtyp kopior/5 µl)	1 (20 µl)
1095205.1 till .4 (JAK2 MT Quant-standarder uppsättning: QS1 till QS4)	JAK2 MT Quant-standard 1 (5 x 10 ¹ V617F kopior/5 µl)	1 (20 µl)
	JAK2 MT Quant-standard 2 (5 x 10 ² V617F kopior/5 µl)	1 (20 µl)
	JAK2 MT Quant-standard 3 (5 x 10 ³ V617F kopior/5 µl)	1 (20 µl)
	JAK2 MT Quant-standard 4 (5 x 10 ⁴ V617F kopior/5 µl)	1 (20 µl)
1067627	Vatten för kontroll utan mall (No Template Control, NTC) (nukleasfritt vatten)	1 (1,9 mL)
1073894	TE-buffert (Tris-EDTA) för provspädning	1 (1,9 mL)

JAK2 MT Quant-standarder (QS1 till QS4) är seriella spädningar av plasmider som bär på V617F-allelsekvensen.

JAK2 WT Quant-standarder (QS1 till QS4) är seriella spädningar av plasmider som bär på WT-allelsekvensen.

e) Beskrivningen av provtagningsmaterial och transportmaterial som medföljer produkten;

Inga provtagningsmaterial eller transportmaterial medföljer denna produkt.

f) För instrument för automatiserad analys: beskrivningen av lämpliga analyssegenskaper eller dedikerade analyser;

ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit är inte en automatiserad analys. Analysen utförs dock med hjälp av en dedikerad programvarusvit.

g) För automatiserade analyser: en beskrivning av lämpliga instrumentegenskaper eller dedikerade instrument;

ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit är inte en automatiserad analys. Analysen utförs dock med hjälp av en dedikerad programvarusvit.

h) En beskrivning av den programvara som ska användas med produkten;

ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit ska enbart användas med QIAGEN Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-instrumentet och andra godkända arbetsflödeskomponenter som det anges i bruksanvisningen. *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit är inte en automatiserad produkt. Analysen utförs dock med hjälp av en dedikerad programvara: programvaran Rotor-Gene AssayManager® version 2.1.x ($x \geq 0$), med Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in version 1.0.x ($x \geq 0$) och analysprofilen *ipsogen* _JAK2_blood_CE_IVDR (AP_*ipsogen*_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_0_x.iap ($x \geq 1$)).

i) En beskrivning av eller en fullständig lista av de olika konfigurationer eller varianter av produkten som avses göras tillgängliga på marknaden;

För tillfället finns det inga varianter av *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (674623) som planeras att göras kommersiellt tillgängliga inom Europeiska Unionen.

j) En beskrivning av tillbehör för produkten, andra enheter samt andra produkter som inte är enheter, vilka är avsedda för användning tillsammans med produkten.

För tillfället finns det inget tillbehör för *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. Kitet är en uppsättning reagenser som är färdiga att användas.

Användare av *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit behöver tillhandahålla följande material som krävs men som inte medföljer kitet för att kunna utföra hela arbetsflödet:

- Förbrukningsartiklar och reagenser för manuell DNA-extraktion
 - QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit (kat.nr 61104)
 - Etanol (96–100 %)
Obs! Använd inte denaturerad alkohol eftersom den innehåller andra substanser såsom metanol eller metyletylketon.
- Förbrukningsartiklar och reagenser för automatisk DNA-extraktion
 - QIASymphony DSP DNA Mini Kit (kat.nr 937236)
 - Sample Prep Cartridges, 8-well (kat.nr 997002)
 - 8-Rod Covers (kat.nr 997004)
 - Filter-Tips, 1500 µl (kat.nr 997024)
 - Filter-Tips, 200 µl (kat.nr 990332)
 - Elution Microtubes CL (kat.nr 19588)
 - Tip disposal bags (kat.nr 9013395)
 - Micro tubes 2.0 ml Type H (Sarstedt®, kat.nr 72.694, www.sarstedt.com)

- Förbrukningsartiklar och reagenser för PCR
 - Nukleasfria aerosolresistenta sterila PCR-pipettspetsar med hydrofobiskt filter
 - 1,5 mL eller 2,0 mL nukleasfria PCR-rör
 - Strip Tubes and Caps, 0.1 ml för Rotor-Gene Q (kat.nr 981103 eller 981106)
 - Is

- Utrustning
 - Justerbara pipetter* avsedda för PCR (1–10 µl; 10–100 µl; 100–1 000 µl)
 - Engångshandskar
 - Vortexblandare
 - Värmeblock för lysering av prover vid 56 °C
 - Bänkcentrifug* med rotor för 0,5/1,5/2,0 mL reaktionsrör (med kapacitet för 13 000–14 000 rpm)
 - Spektrofotometer*

- Provberedningsutrustning
 - Instrumentet QIASymphony SP* (kat.nr 9001297), programversion 4.0 eller senare, medföljande tillbehör samt protokollet Blood_200_V7_DSP (eller senare version)
 - Tube Insert 3B (För in 2,0 mL v2, provcarrier (provcarr.) (24), Qsym, kat.nr 9242083)

	<ul style="list-style-type: none"> ● Utrustning för real-time PCR <ul style="list-style-type: none"> ○ Real-time PCR-instrument*: Systemet Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform (kat.nr 9002032) eller Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System (kat.nr 9002033) samt medföljande tillbehör ○ Installerad Rotor-Gene AssayManager® version 2.1.x (x≥0) ○ Installerade Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in version 1.0.x (x≥0) ○ Importerad ipsogen _JAK2_blood_CE_IVDR analysprofil (AP_ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_2_x.iap (x≥1))
<p>Referens till föregående generationer eller varianter av produkten (i förekommande fall) och en beskrivning av skillnaderna</p>	<p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (katalognummer 673623, version 1), giltig under EU IVD Direktiv 98/79/EG och Kommissionens Beslut 2010/227/EU (IVDD), gjordes först tillgänglig på EU-marknaden 2014.</p> <p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (katalognummer 674623) är en version 2 som har genomgått ett program för att tillse efterlevnad med direktivet om medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik EU/2017/746 (IVDR).</p> <p>För bägge kit 673623 och 674623, är kitkomponenterna identiska och bägge kiten är tekniskt identiska där en analys utförs med hjälp av en programvara för automatisk kvantifiering av mutationer. En analysprofil dedikerad till <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit katalognummer 674623 har genererats baserat på den befintliga versionen dedikerad till <i>ipsogen</i>® JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE katalognummer 673623.</p> <p>Jämfört med bruksanvisningen för <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (katalognummer 673623), har bruksanvisningen för <i>ipsogen</i> JAK2</p>

* Säkerställ före användning att instrumenten är kontrollerade och kalibrerade enligt tillverkarens rekommendationer.

	<p>RGQ PCR Kit (katalognummer 674623) nedanstående listade förbättringar för att efterleva IVDR-krav:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Formulering med detaljer och specificeringar om avsedd användning och avsedd användare ● Protokollen har sorterats om och ytterligare instruktioner och illustrationer har lagts till för att förbättra förståelsen ● Formuleringarna om stabilitet för genomiskt DNA och användningsstabilitet har uppdaterats ● Prestandaegenskaperna har uppdaterats och kompletterats med ytterligare data (analytiska och kritiska) ● Referens till sammanfattningen av säkerhets- och prestandaresurs har lagts till <p>Symboler har uppdaterats och kompletterats med ytterligare etiketter.</p>
<p>Beskrivning av tillbehör som avsetts för användning i kombination med produkten (i förekommande fall)</p>	<p>Ej tillämpligt.</p>
<p>Beskrivning av andra enheter och produkter som avsetts för användning i kombination med produkten</p>	<p>För tillfället finns det inget tillbehör för <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit. Kitet är en uppsättning reagenser som är färdiga att användas.</p> <p>Användare av <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit behöver tillhandahålla följande material som krävs men som inte medföljer kitet för att kunna utföra hela arbetsflödet:</p>

(i förekommande fall)

- Förbrukningsartiklar och reagenser för manuell DNA-extraktion
 - QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (kat.nr 61104)
 - Etanol (96-100 %)
Obs! Använd inte denaturerad alkohol eftersom den innehåller andra substanser såsom metanol eller metyletylketon.

- Förbrukningsartiklar och reagenser för automatisk DNA-extraktion
 - QIASymphony DSP DNA Mini Kit (kat.nr 937236)
 - Sample Prep Cartridges, 8-well (kat.nr 997002)
 - 8-Rod Covers (kat.nr 997004)
 - Filter-Tips, 1500 µl (kat.nr 997024)
 - Filter-Tips, 200 µl (kat.nr 990332)
 - Elution Microtubes CL (kat.nr 19588)
 - Tip disposal bags (kat.nr 9013395)
 - Micro tubes 2.0 ml Type H (Sarstedt, kat.nr 72.694, www.sarstedt.com)

- Förbrukningsartiklar och reagenser för PCR
 - Nukleasfria aerosolresistenta sterila PCR-pipettspetsar med hydrofobiskt filter
 - 1,5 mL eller 2,0 mL nukleasfria PCR-rör
 - Strip Tubes and Caps, 0.1 ml för Rotor-Gene Q (kat.nr 981103 eller 981106)
 - Is

- Utrustning
 - Justerbara pipetter* avsedda för PCR (1–10 µl; 10–100 µl; 100–1 000 µl)
 - Engångshandskar
 - Vortexblandare
 - Värmeblock för lysering av prover vid 56 °C
 - Bänkcentrifug* med rotor för 0,5/1,5/2,0 mL reaktionsrör (med kapacitet för 13 000–14 000 rpm)
 - Spektrofotometer*

- Provberegningsutrustning
 - Instrumentet QIASymphony SP* (kat.nr 9001297), programversion 4.0 eller senare, medföljande tillbehör samt protokollet Blood_200_V7_DSP (eller senare version)
 - Tube Insert 3B (För in 2,0 mL v2, provcarrier (prov carr.) (24), Qsym, kat.nr 9242083)

- Utrustning för real-time PCR
 - Real-time PCR instrument*: Systemet Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform (kat.nr 9002032) eller Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System (kat.nr 9002033) samt medföljande tillbehör
 - Installerad Rotor-Gene AssayManager programvaruversion 2.1.x (x≥0)
 - Installerade Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in version 1.0.x (x≥0)
 - Importerad ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR analysprofil (AP_ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_2_x.iap (x≥1))

* Säkerställ före användning att instrumenten är kontrollerade och kalibrerade enligt tillverkarens rekommendationer.

Referens över standarder

Tillämpade harmoniserade standarder och allmänna specifikationer (Common Specifications, CS)

Det finns inga harmoniserade standarder under IVDR. Tabellen nedan visar de standarder som använts för utveckling av *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit.

Namn på standard	Titel på standard
EN ISO 13485:2016	Medicintekniska produkter – Ledningssystem för kvalitet – Krav för regulatoriska ändamål (ISO 13485:2016)
EN ISO 14971:2019	Medicintekniska produkter – Riskhanteringssystem för medicintekniska produkter
EN ISO 15223-1:2016	Medicintekniska produkter – Symboler som ska användas med etiketter för medicintekniska produkter, märkning och information som ska tillhandahållas – Del 1: Allmänna krav
EN ISO 18113-1:2011	Medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik – Information som tillhandahålls av tillverkaren (märkning) – Del 1: Termer, definitioner och allmänna krav
EN ISO 18113-2:2011	Medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik – Information som tillhandahålls av tillverkaren (märkning) – Del 2: In vitro-diagnostisk reagens för professionell användning
EN ISO 23640:2015	Medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik – Stabilitetsutvärdering av in vitro-diagnostisk reagens (ISO 23640:2011)
EN 62304:2006	Elektrisk utrustning för medicinskt bruk – Livscykelprocesser för programvara (IEC 62304:2006)
EN 62366:2008	Medicintekniska produkter – Tillämpning av metoder för att säkerställa medicintekniska produkters användarvänlighet (IEC 62366:2007)

Sammanfattning av prestandautvärderingen och uppföljning av eftermarknadsprestanda

Sammanfattning av prestandautvärderingen och uppföljning av eftermarknadsprestanda

Prestandautvärderingen verifierar vetenskaplig validitet, analytisk prestanda och i tillämpliga fall klinisk prestanda för *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit för att möjliggöra en strukturerad och transparent process som genererar tillförlitliga data och robusta studier.

Utvärderingen av vetenskaplig validitet baserades på en systematisk litteratursgranskning, utvärdering av tillgängliga/hämtade/nya data relevanta för *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit och dess avsedda användning samt ett konsensus av expertutlåtanden/ställningstaganden från internationella riktlinjer. Härmed presenterade data demonstrerar den vetenskapliga validiteten för *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit för sin avsedda användning.

Analytisk prestanda demonstrerades baserat på de utredningar som uppnådde de begärda prestandaindikatorerna: Blankgräns (Limit of Blank, LoB), Detektionsgräns (Limit of Detection, LoD) och kvantifieringsgräns (Limit of Quantification, LoQ), precision (repetierbarhet och reproducerbarhet), linjäritet, interfererande ämne, korskontaminering, PCR-noggrannhet och testning av WHO JAK2-panel 16/120 (överensstämmelse, riktighet och noggrannhet), mätintervall, provstabilitet/-hantering, acceptanskriterier för DNA-kvantifiering, jämförelse av manuell och automatisk extraktion, verifiering av användarvänlighet, användning av konstruerade prover och verifiering av analysprofil. Utvärderingen av dessa källor visade att den analytiska prestandan för *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit är tillräcklig för sin avsedda användning och tillser säker användning för den avsedda användningen, användaren och patientpopulationen.

Klinisk prestanda demonstrerades baserat på en systematisk litteratursgranskning, kliniska prestandastudier som demonstrerade kliniska prestandaindikatorer för korrekthet/överensstämmelse: PPV, NPV, diagnostisk sensitivitet, specificitet, sannolikhetkvot med hjälp av data från kliniska prestandastudier och PPA och NPA med hjälp av data från den analytiska noggrannhetsstudien och kliniska prestandastudier. Erfarenhet som erhöles från rutinemässiga diagnostiska tester utvärderades också. Utvärderingen av dessa källor visade att den

kliniska prestandan för *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit är tillräcklig för sin avsedda användning och tillser säker användning för den avsedda användningen, användaren och patientpopulationen.

Syftet med eftermarknadsutvärderingssystemet är att bekräfta säkerhet, prestanda och vetenskaplig validitet för *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit under hela dess förväntade livstid för att tillse att fördel/risk-kvoten är fortsatt godkänd samt att identifiera framväxande risker baserat på faktiska bevis och fastställa, tillämpa och utvärdera eventuella förhindrande och avhjälpande åtgärder.

Syftet med uppföljningen av eftermarknadsprestanda är att bekräfta säkerhet, prestanda och vetenskaplig validitet för *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit under hela dess förväntade livstid för att tillse att fördel/risk-kvoten är fortsatt godkänd samt att identifiera framväxande risker baserat på faktiska bevis.

Syftet är att verifiera klinisk säkerhet och prestanda över den förväntade livstiden. Följande uppföljningsdata för eftermarknadsprestanda kommer att samlas in för att identifiera tidigare okända risker eller begränsningar av prestanda och kontraindikationer, för att identifiera och analysera framväxande risker baserat på faktiska bevis och därmed tillse fortsatt godtagbarhet för kliniska evidens samt fördel/risk-kvot och för att identifiera möjlig systematisk felanvändning.

Den kliniska erfarenhet som erhålls relaterat till trender kommer att samlas in från data genererade från eftermarknadsstudier (företassponsrade eller inledda av utredare), patientregister data och evidens från faktisk användning (Real World Data/Real World Evidence, RWD/RWE), i tillämpliga fall.

Återkoppling från användare (vårdpersonal, kliniska KOL:er och labbpersonal) samt distributörer och importörer från enkäter, publicerade data om användarperspektiv samt försäljning och utbildning.

Vetenskaplig litteraturgranskning efter en litteratursökning efter produkten och liknande samt likvärdiga produkter, nya tekniska eller medicinska riktlinjer.

Information om tekniska eller specialiserade register, fallrapporter som granskats och utvärderats av QIAGEN.

Epidemiologiska studier som observationella eftermarknadsstudier för att samla in information om produktens prestanda.

Uppföljningen av eftermarknadsprestanda kommer att uppdateras varje år för att integrera nya data och resultat, eftermarknadsstudier, referenser till relevanta allmänna specifikationer, konsultationer till harmoniserade standarder samt riktlinjer för uppföljningar av eftermarknadsprestanda.

Fördefinierade resultat kan utlösa ytterligare uppgifter och aktiviteter. Fördefinierade utlösare för uppföljningsaktiviteter för eftermarknadsprestanda baseras på deras inverkan på produktens formuleringar samt fördel/risk och kan inkludera kundklagomål, uppkomst av data från publikationer, externa kvalitetsutvärderingsprogram och andra register.

Sammanfattning av analytisk prestanda

Blankgräns

Blankgräns (Limit of Blank, LoB) fastställdes enligt standarden CLSI/NCCLS EP17-A2 på helblodsprover från 30 friska blodgivare med en vildtyp-(WT) JAK2-status med tre reagensloter (120 mätningar/loter).

Sammanfattning av LOB-resultat

	Uppmätt LOB	Slutlig blankgräns
Lot 1	0 %	
Lot 2	0 %	0 %
Lot 3	0 %	

Detta motsvarar det förväntade värdet för en normal population med *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit.

Detektionsgräns

Detektionsgräns (Limit of Detection, LOD eller analytisk sensitivitet) fastställdes baserat på den "Probit approach" som beskrivs i standarden CLSI/NCCLS EP17-A2. I den här studien analyserades 6 lågnivåmutationer för 3 oberoende prover (MPN-DNA från helblod spetsat med vildtyp-DNA från helblod), med 3 loter, 60 mätningar per prov och per mutation. Resultaten som erhöles indikerade att den analytiska sensitiviteten var 0,042 % för JAK2 V617F-mutationen.

Sammanfattning av LOD-resultat

	Uppmätt LOD	Slutlig detektionsgräns
Lot 1	0,041 %	
Lot 2	0,029 %	0,042 %
Lot 3	0,042 %	

Kvantifieringsgräns

Kvantifieringsgränsens (Limit of Quantitation, LoQ) definition och bestämning baserades på riktlinjerna i CLSI/NCCLS EP17-A2. LoQ definierade som den lägsta JAK2 V617F-mutationsprocentnivån som enkelt kan skiljas från LoD från *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit med ett konfidensintervall på 95 % (risk $\alpha = 0,05$). Data från repeterbarhetsstudien på enskild anläggning användes för att beräkna LoQ i *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. Resultaten som erhöles indikerade att LoQ var 0,233 % för JAK2 V617F-mutationen.

Vid övervakning av molekylära sjukdomar innebär detta att den uppmätta JAK2 V617F-mutationsprocenten vid ett tillfälle låg under 0,233 %. Minskning av JAK2 V617F-allelbelastningen kunder inte kvantifieras på ett tillförligt sätt vid nästa tidpunkt.

Linjäritet

Linjäriteten för kvantifieringen av JAK2-mutation hos MPN-patienter bedömdes enligt standarden CLSI/NCCLS EP06AE, med en lot från *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit och med testning på 11 mutationsnivåer för fem olika DNA-inputnivåer. Kvantifieringen av JAK2-mutationsbelastningen i MPN-prover är linjär, dvs. kan *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit kvantifiera prover från LOD-värdet till 100 % mutation vilket motsvarar de förväntade värdena för den berörda population, så länge som den kvantifierade provkoncentrationen ligger nära 10 ng/ μ l (mellan 5 och 20 ng/ μ l).

Repeterbarhet och reproducerbarhet

Precisionstudieutformningen för enskild anläggning uppfyller kraven i standarden CLSI/NCCLS EP5-A3. Testningen utfördes på 11 mutationsnivåer, från 0,07 till 72,67 % med seriella spädningar av ett kliniskt prov från en MPN-patient. 108 mätningar erhöles från varje mutationsnivå av tre operatörer under 27 dagar (två replikat per körning och två körningar per dag) med hjälp av tre loter med *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit och tre Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-instrument. Precisionen för 100-procentsnivån uttrycks i jämförelse med den angivna precisionen för nivån på 72,67 %, baserat på trendanalyser med stöd från ytterligare data som erhöles från JAK2 V617F-prov på 100 % bestående av DNA från MUTZ-8-cellinjen (38 mätningar).

Precisionsresultat: repeterbarhet (studie på enskild anläggning)

Prov	Medelvärde procentandel JAK2-mutation	SD _R	SD _{RUN++}	SD _{TOTAL+++}	CV _{TOTAL}
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 %

SD: Standard deviation (Standardavvikelse)

R+: Repeterbarhet.

RUN++: Precision mellan körning.

TOTAL+++: Total precision (inklusive mellan instrument, mellan användare och mellan loter).

CV_{TOTAL}: Variationskoefficienten för total precision i procent.

ND: Ej bestämt

Precisionstudieutformningen för laboratorium uppfyller kraven i standarden CLSI/NCCLS EP5-A3. Fyra anläggningar deltog i studien (en i Frankrike, en i Tyskland och två i USA). Testningen utfördes på sju mutationsnivåer, från 1,21 till 67,64 % med spädningar av MUTZ-8-cellinjen i helblodsprover från friska blodgivare (dvs. konstruerade prov). Tre DNA-extraktioner utfördes med QIASymphony SP-instrumentet och en unik QIASymphony DSP DNA Mini Kit-batch på varje anläggning. Åtta qPCR-körningar utfördes för varje DNA-extraktion (två körningar per dag och anläggning under fyra dagar (ej i följd)) med en *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit-batch, vilket gav upp till 96 förväntade mätningar per test på samtliga anläggningar.

I en av extraktionskörningarna var L2-provet ogiltigt, vilket minskade antalet qPCR-tester från 96 till 88. Även en qPCR-körning visades sig vara ogiltig, vilket innebar tre ogiltiga tester för samtliga prover (förutom L2, dvs två ogiltiga resultat). Dessutom var L7-provet ogiltigt i en qPCR-körning och L4 ogiltigt i två qPCR-körningar vilket ledde till två ytterligare ogiltiga tester.

Precisionen för 100-procentsnivån uttrycks i jämförelse med den angivna precisionen för nivån på 67,64%, baserat på trendanalyser med stöd från ytterligare data som erhöles från JAK2 V617F-prov på 100 % bestående av DNA från MUTZ-8-cellinjen (38 mätningar).

Precisionsresultat: reproducerbarhet (studie i laboratorium)

Prov	Totalt antal tester	Totalt antal ogiltiga tester	JAK2%MT medelvärde	Inom körning, SD, %CV	Mellan körning under dagen, SD, %CV	Mellan dagar, SD, %CV	Mellan platser, SD, %CV	Total, SD, %CV
L0	N/A (ej tillämpligt)	Ej tillämpligt	100	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt	≤ 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: JAK2-mutationsprocent; **SD:** Standardavvikelse; **CV:** variationskoefficient i procent; **N/A:** Ej tillämpligt.

En ytterligare studie i laboratorium utfördes på tre testplatser (en i Europa och två i USA). Studien baserades på fyra helblodsprover från MPN-patienter (dvs. kliniskt prover). Tre DNA-extraktionskörningar utfördes på varje anläggning. Varje DNA-extraktion testades i 12 qPCR-körningar (ett replikat per körning och prov, två prover per dag på varje anläggning utförda av operatörer (två operatörer på varje anläggning) under tre dagar (ej i följd)) på ett Rotor-Gene Q MDx-instrument med en enskild *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit-lot. 36 mätningar erhöles för varje prov.

Ytterligare resultat från studie i laboratorium

Prov	N	JAK2%MT medelvärde	Inom körning, SD, %CV	Mellan körning under dagen, SD, %CV	Mellan dagar, SD, %CV	Mellan platser, SD, %CV	Total, SD, %CV
Prov 1	36	95,19	0,995, 1,04	0,000, 0,00	0,541, 0,57	0,000, 0,00	1,130, 1,19
Prov 2	36	22,83	3,988, 17,47	0,000, 0,00	1,707, 7,48	1,552, 6,80	4,501, 19,72
Prov 3	36	14,44	2,257, 15,63	1,398, 9,68	0,000, 0,00	1,422, 9,84	2,890, 20,01
Prov 4	36	4,03	0,186, 4,63	0,835, 20,74	0,000, 0,00	0,608, 15,09	0,922, 22,91

JAK2%MT medelvärde: JAK2-mutationsprocent; **N:** Antal mätningar, **SD:** Standardavvikelse; **CV:** variationskoefficient i procent.

Interfererande ämnen

Studiens utformning uppfyller kraven i NCCLS-standard EP7-A3 "Interference Testing in clinical Chemistry" (Interferenstest i klinisk kemi). Totalt 19 potentiellt förekommande substanser i blodprover valdes för sin potentiella effekt på PCR (busulfan, citalopramhydrobromid, paroxetinhydrokloridhemihydrat, sertralinhydroklorid, fluoxetinhydroklorid, acetaminofen (paracetamol), okonjugerat bilirubin, kalium-2K-EDTA och 3K-EDTA, natrium-EDTA, Hgb (humant), triglycerider, lisinopriildihydrat, hydroxyurea, acetylsalicylsyra, salicylsyra, tiotepa, anagrelid, interferon alpha 2b).

Även ämnen från DNA-extraktionsprocessen utvärderades (QSL1, QSB1, QSW1, QSW2 och PK från QIASymphony DSP DNA Blood Mini Kit, QIAGEN Protease, etanol, AW1 och AW2 från QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit).

Resultaten som erhöles visade ingen interfererande effekt för dessa substanser.

Interfererande ämnen

Testat ämne	Testkoncentration
Okonjugerat bilirubin	150,3 µg/mL
Hemoglobin [humant]	2000 µg/mL
Triglycerider	30000 µg/mL
Busulfan	38,4 µg/mL
Citalopramhydrobromid	0,75 µg/mL
Paroxetinhydrokloridhemihydrat	1,14 µg/mL
Sertralinhydroklorid	0,67 µg/mL
Fluoxetinhydroklorid	3,87 µg/mL
Acetaminofen [paracetamol]	200,7 µg/mL
Lisinoprildihydrat	0,33 µg/mL
Hydroxyurea	28,2 µg/mL
Acetylsalicylsyra	651,6 µg/mL

Testat ämne	Testkoncentration
Salicylsyra	0,6 µg/mL
Tiotepa	48 µg/mL
Anagrelid	6 µg/mL
Interferon alpha 2b*	1,8 MU/L
Kalium-EDTA (2K-EDTA)	2 x (3 600 µg/mL)
Kalium-EDTA (3K-EDTA) **	1 x (1 800 µg/mL), 3 x (5 400 µg/mL)
Natrium-EDTA (2Na-EDTA) **	1 x (3 000 µg/mL), 3 x (9 000 µg/mL)
QSL1	2 % av total provvolym
QSB1	2 % av total provvolym
QSW1	2 % av total provvolym
QSW2	2 % av total provvolym
Proteinas K (PK) †	2 % av total provvolym

Proteinas K (PK) [†]	2 x den förväntade återstående volymen efter extraktionsprocessen 3 x den förväntade återstående volymen efter extraktionsprocessen
QIAGEN Protease	1,29E-05 % av total provvolym
Etanol (EtOH)	1,29E-03 % av total provvolym
Buffer AW1	1,00 E-01 % av total provvolym
Buffer AW2	1,00 % av total provvolym

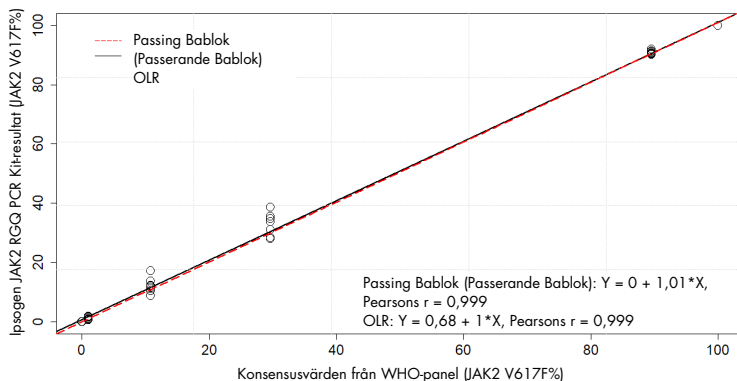
* Rekommenderad dosering för PV-patienter är 3 MU som distribueras i fem liter blod (person på 80 kg), vilket innebär en koncentration på 0,6 MU/L. Tre gånger denna koncentration (dvs. 1,8 MU/ L) testades i enlighet med rekommendationer från NCCLS-standarderna EP7-A2.

** 1 x koncentration enligt leverantören

[†] PK orsakar en störning vid testning av 2 % av den totala provvolymen (ovanligt förekommande). Ytterligare tester visade att PK försvann under extraktionsprocessen. Inga störningar förväntas under normala förhållanden.

Test av Genomisk JAK2 V617F (NIBSC, panelkod 16/120) av WHO:s internationella referenspanel.

WHO:s första internationella referenspanel för Genomiskt JAK2 V617F togs fram av NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control, panelkod 16/120) och testades med tre loter ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit (tre replikat per referenspanelsnivå och reagenslot). Experimentet utfördes av en operatör under tre dagar med hjälp av ett Rotor-Gene Q 5plex HRM-instrument. Överensstämmelsen mellan resultaten för ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit och de konsensusvärden som publicerats i referenspanelens bruksanvisning utvärderades med hjälp av en vanlig linjär regression (lutning: 1,003, 95 % KI [0,997; 1,010] – skärningspunkt: 0,677, 95 % KI [0,212; 1,289]) och en Passing-Bablok-regression (lutning: 1,01, 95 % KI [1,00; 1,021] – skärningspunkt: 0,00, 95 % KI [-0,02; 0,010]). Överensstämmelse bekräftas, vilket betyder att kitet lämpar sig för att tillhandahålla JAK2 V617F-data i enlighet med andra vanliga diagnostiska tekniker.



Överensstämmelse mellan ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit-resultaten och konsensusvärdena från WHO:s internationella referenspanel för Genomisk JAK2 V617F (NIBSC, panelkod 16/120).

Överensstämmelsen utvärderades med en vanlig linjär regression (OLR, Ordinary Linear Regression) och Passing Bablok-regression.

Panelen består av sju JAK2 V617F-nivåer: 100 %, 89,5 %, 29,6 %, 10,8 %, 1,00 %, 0,03 % och 0 %. WHO-konsensusvärdena avgjordes med hjälp av olika vanligt förekommande tekniker som del av en internationell samarbetsstudie. Referensvärdena för varje JAK2 V617F%-nivå är medianvärden (mer information på <https://www.nibsc.org>).

Riktighet och noggrannhet

Mätningarnas riktighet är omvänt relaterade till systematiska mätfel (SE eller bias). Bias beräknades enligt EP09c-riktlinjerna från NCCLS för varje JAK2 V617F%-nivå på referenspanelen för varje reagenslot samt reagensloterna överlag med hjälp av data från studien som beskrivs ovan. De högsta biasvärdena erhöles från ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit-lot 2.

Noggrannheten baseras på hur nära överensstämmelsen var mellan testresultat och det godkända referensvärdet (i det här fallet tilldelas värdet för varje JAK2 V617F%-nivå i WHO-panelen). Noggrannhet omfattar både riktighet och precision, och är omvänt proportionell mot det totala felet enligt beräkningen som visas i tabellen nedan.

Bias och fel vid mätning

WHO-panel	<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit-lot	Bias (SE) Per lot [95 % KI]	Bias (SE) Total [95 % KI]	Totalt fel (Noggrannhet)
-----------	---	-----------------------------------	---------------------------------	-----------------------------

15/172 0 %	1	0,000 [Ej tillämpligt]	0,001 [-0,001, 0,004]	0,010
	2	0,003 [-0,011; 0,018]		
	3	0,000 [Ej tillämpligt]		
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	2,521

	2	3,600 [-2,670; 9,870]	[0,630, 3,043]	
	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 [Ej tillämpligt]		
	3	-0,013 [-0,028; 0,001]		

SE: systematiskt fel eller bias, dvs. skillnaden mellan genomsnittliga enskilda mätningar som erhållits med *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit ($\bar{V}_{\text{JAK2 Kit}}$) och WHO-referenspanelens konsensusvärde (V_{Ref}).

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

Totalt fel (Total Error, TE) beräknas som $TE = \sqrt{s^2 + SE^2}$, där s är standardavvikelsen (slumpmässigt fel).

95 % KI: 95 % konfidensintervall

N/A: ej tillämpligt

Analytisk noggrannhet

Syftet med den här studien var att validera den analytiska noggrannheten för *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit under vanliga användningsförhållanden med kliniska prover från deltagare med misstänkta myeloproliferativa neoplasmer. Studien utfördes på gDNA-prov som extraherats från totalt 473 prov: 276 med misstänkt PV, 98 med ET och 99 med PMF. JAK2 V617F-status för de patientprover som erhållits med *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit jämfördes med JAK2 V617F-status som erhållits med referensmetoden för bestämning av JAK2-status, dvs. en oberoende validerad bidirektionell sekvensering (BDS). Eftersom LoD för *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit är 0,042 % av JAK2 V617F, är JAK2 V617F-status för ett patientprov som testats med *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit positivt över eller vid den här gränsen och negativt under den här gränsen. Av de 473 proverna var 22 JAK2-positiva med *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit samtidigt som de var negativa med BDS.

Total överensstämmelse är 95,35 % (451/473 deltagare, 95 % KI: 93,04%, 97,06%). Positiv överensstämmelse var 100 % (165/165 deltagare, 95 % KI: 97,79 %, 100 %) och den negativa överensstämmelsen var 92,86 % (286/308 deltagare, 95 % KI: 89,39 % till 95,47 %). Resultaten visas nedan.

Överensstämmelse mellan *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit och bidirektionell Sanger-sekvensering i MPN-populationen (kombinerade ET-, PMF- och PV-populationer)

Bidirektionell Sanger-sekvensering

		JAK2 V617F-positiv	JAK2 V617F-negativ	Totalt
<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit	JAK2 V617F-positiv	165	22	187
	JAK2 V617F-negativ	0	286	286
	Totalt	165	308	473

Bedömning av studieresultat för analytisk noggrannhet hos MPN-kohorter

Överensstämmelsen mellan erhållna resultat för JAK2 V617F-mutationen med *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit och med Sanger-sekvensering (BDS) hos deltagare med ET, PMF och PV anges separat:

- För ET är total överensstämmelse 89,8 % (88/98 deltagare, 95 % KI: 82,03–95,0 %), positiv överensstämmelse är 100 % (43/43 deltagare, 95 % KI: 91,78–100 %) och den negativa överensstämmelsen är 81,82 % (45/55 deltagare, 95 % KI: 69,1–90,92 %).
- För PMF är total överensstämmelse 93,94 % (93/99 deltagare, 95 % KI: 87,27–97,74 %), positiv överensstämmelse är 100 % (51/51 deltagare, 95 % KI: 93,02–100 %) och den negativa överensstämmelsen är 87,5 % (42/48 deltagare, 95 % KI: 74,75–95,27 %).
- För PV är total överensstämmelse 97,83 % (270/276 deltagare, 95 % KI: 95,33–99,2 %), positiv överensstämmelse är 100 % (71/71 deltagare, 95 % KI: 94,94–100 %) och den negativa överensstämmelsen är 97,07 % (199/205 deltagare, 95 % KI: 93,74–98,92 %).

Proverna som gav avvikande resultat verkade ha mutationsnivåer under detektionskapaciteten hos BDS (runt 10 %). Eftersom Sanger-sekvensering inte är lika känslig som *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit som kan rapportera värden så låga som 0,042 % av JAK2 V617F (dvs. LoD-värdet), utfördes en separat studie med en validerad nästa generations sekvenseringsmetod (NGS) för att detektera JAK2 V617F-allelen hos de 15/22 avvikande proverna (nio ET, fem PMF och en PV), samt ett slumpmässigt urval av 22 JAK2 V617F-positivt and -negativt

	<p>överensstämmande prov. JAK2 V617F-status för patientproverna bestämdes med NGS-metoden baserat på dess gränsen för dess analytiska sensitivitet (dvs. mellan 1 % och 2 % av JAK2 V617F). Därmed var JAK2 V617F-status för ett patientprov positivt om JAK2 V617F-mutationen detekterades av NGS-metoden och omvänt så var JAK2 V617F-status negativ om JAK2 V617F-mutationen inte detekterades.</p> <p>Alla 15 avvikande prover testade positiva med NGS, vilket överensstämmer med <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit. Alla överensstämmande prov testade likadant med NGS i överensstämmelse med <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit och BDS. De 7 andra proven ansågs avvikande eftersom NGS-data inte fanns tillgängliga för dessa prover. Slutsats från studien om analytisk noggrannhet.</p> <p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit var 98,3 % noggrann för detektion av JAK2 V617F-allelen i prover från deltagare med JAK2 V617F-nivåer $\geq 0,042$ % (dvs. LoD-värdet).</p>
<p>Sammanfattning av klinisk prestanda</p>	<p>Sensitiviteten var 94,64 % (95 % KI; 85,13 %, 98,88 %) vilket indikerar att <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit inom de diagnostiska kriterierna från WHO förväntas detektera PV hos det stora flertalet patienter med sjukdomen.</p> <p>Specificiteten för PV-diagnos med <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit inom de diagnostiska kriterierna från WHO var 95,62 % (95 % KI; 91,19 %, 98,22 %), vilket indikerar att den även förväntas utesluta PV hos det stora flertalet patienter utan PV.</p>

	<p>Med hjälp av <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit inom de diagnostiska kriterierna från WHO var PPV 88,33 % (95 % KI; 77,27 %, 93,57 %)* och NPV var 98,08 % (95 % KI; 94,8 %, 99,4 %).</p> <p>Sannolikhetskvoten för ett negativt test med <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit, för PV-diagnos, inom de diagnostiska kriterierna från WHO var 21,61 (95 % KI; 10,44, 44,71), vilket indikerar att resultatet JAK2 V617F-positiv är mer sannolikt för patienter med PV än med de utan PV.</p> <p>Sannolikhetskvoten för ett positivt test med <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit, för PV-diagnos, inom de diagnostiska kriterierna från WHO var 0,06 (95 % KI; 0,02, 0,18), vilket indikerar att resultatet JAK2 V617F-negativ är mycket mindre sannolikt för patienter med PV än med de utan PV.</p>
<p>Metrologisk spårbarhet</p>	
<p>Metrologisk spårbarhet av tilldelade värden</p>	<p>Metrologisk spårbarhet av värden tilldelade till kalibratorer och kontrollmaterial, inklusive identifiering av tillämpade referensmaterial och/eller referensmätprocedurer av högre ordning och information avseende max (själv tillåten) variation mellan batcher tillhandahållen med relevanta figurer och måttenheter.</p> <p>WHO:s första internationella referenspanel för Genomisk JAK2 V617F (NIBSC-panelkod 16/120) upprättades 2016 av Världshälsoorganisationens (WHO) expertkommittén för biologisk standardisering (se WHO-dokument WHO/BS/2016.2293).</p>

* PPV är beroende av prevalensen. Eftersom prevalensen var låg i studiepopulationen; och sensitivitet och specificitet är oberoende av prevalens så är sensitivitet och specificitet mer relevanta.

	<p>Panelen består av sju frystorkade humana genomiska DNA-material som skapats genom att kombinera genomiskt DNA erhållet från JAK2-vildtyp och JAK2 V617F-cellinjer vilka erbjuder standarder för en rad kliniskt relevanta JAK2 V617F-nivåer uttryckta som en procentandel totalt JAK2, från 0 % till 100 %. Se www.nibsc.org/science_and_research/advanced_therapies/genomic_reference_materials/jak_2_v617f_(who).aspx och Sanzone AP et al. (2016) Collaborative study to evaluate the proposed WHO 1st International Reference Panel for Genomic JAK2 V617F.</p> <p>Vare sig den här panelen eller värdetilldelade kalibratorer (härladda från det här standardmaterialet) medföljer <i>ipsogen</i>® JAK2 RGQ PCR Kit. <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit innehåller kontrollmaterial, men dessa är inte härladda från WHO-referensmaterialet. Därmed finns det ingen metrologisk spårbarhetsrapport.</p> <p>Överensstämmelsen mellan <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit-resultaten och panelens konsensusvärden har dock utvärderats och bekräftats:</p> <p>Studien beskrivs i <i>Bruksanvisning (Handbok) för ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit</i>.</p>
<p>Föreslagen profil och användarutbildning</p>	
<p>Användarprofil</p>	<p><i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit är avsett för professionell användning. Produkten är endast avsedd att användas av personal som fått särskild utbildning i molekylärbiologiska tekniker och är väl förtrodda med produktens teknik. Produktens procedur ska tillämpas i molekylärbiologiska laboratoriemiljöer.</p>

Användarutbildning	<p>Produkten är endast avsedd att användas av personal som fått särskild utbildning i molekylärbioologiska tekniker och är väl förtrogna med produktens teknik. Produktens procedur ska tillämpas i molekylärbioologiska laboratoriemiljöer.</p>
Risker och varningar	
Resterande risker och oönskade effekter	<p>Relevanta resterande risker identifierades och meddelades till användaren i form av varningar och försiktighetsåtgärder i Bruksanvisningen för <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Risk för kontaminering <ul style="list-style-type: none"> Se bruksanvisningens avsnitt qPCR på Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-instrument med 72 rörsrotor samt Försiktighetsåtgärder. ○ lakta största försiktighet för att undvika överföring av smitta via carry-over av DNA- eller PCR-produkter, vilket kan orsaka en falskt positiv signal. ○ Använd nya aerosolresistenta pipettspetsar för alla pipetteringssteg för att undvika korskontaminering av prover och reagenser. ○ Var noga med att byta spets mellan varje rör så att du undviker eventuell ospecifik kontaminering från mall eller reaktionsmix, vilket leder till falskt positiva resultat. Börja med att lägga till testproverna och sedan standarder och kontroller. ○ lakta största försiktighet för att förhindra att mixarna kontamineras av syntetiskt kontrollmaterial som finns i reagenserna JAK2 MT och JAK2 WT Quant-standard samt i reagenserna JAK2-mutant och JAK2 WT-kontroll.

	<ul style="list-style-type: none"> ● Risk för försämring av kitreagenser vilket leder till att qPCR-körningen misslyckas Se bruksanvisningens avsnitt qPCR på Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-instrument med 72 rörsrotor > Procedur > Konfigurera qPCR-experimentet. Viktigt: Låt inte upptiningstiden överstiga 30 minuter eftersom materialet då kan försämrats. ● Risk för felaktig placering av röret i rotorn vilket leder till avvikande resultat Se bruksanvisningens avsnitt Provbearbetning på Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM-instrument med 72 rörsrotor. Viktigt: Rören måste sättas in i rotorn som det anges i Figur 6 av <i>Bruksanvisningen för ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit</i> eftersom den automatiska analysen som anges i analysprofilen baseras på denna organisation. Om du använder en annan layout blir resultaten avvikande.
<p>Varningar och försiktighetsåtgärder</p>	<p>Var medveten om att du kan behöva konsultera lokala regelverk för rapportering av allvarliga incidenter som inträffat i samband med produkten till tillverkaren och/eller auktoriserad representant och den tillsynsmyndighet där användaren och/eller patienten befinner sig.</p> <p>Säkerhetsinformation</p> <p>Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS). De är tillgängliga på webben i behändigt PDF-format på adressen www.qiagen.com/safety, där du kan hitta, visa och skriva ut säkerhetsdatablad för varje QIAGEN-kit och kitkomponent.</p>

- Prover är potentiellt smittsamma. Kassera analys- och provavfall i enlighet med lokala säkerhetsprocedurer.

**IAKTTAG
FÖRSIKTIGHET**



Tillsätt ALDRIG blekmedel eller sura lösningar direkt till provet eller provavfallet.

Vid nödsituationer

- CHEMTREC
Utanför USA och Kanada +1 703-527-3887

Försiktighetsåtgärder

- Användning av qPCR-tester kräver god laboratoriesed, inklusive underhåll av utrustning, som är speciellt anpassad till molekylärbiologi och som uppfyller tillämpliga regler och relevanta standarder.
- Det här kitet är avsett för in vitro-diagnostisk användning. Reagenserna och instruktionerna som medföljer detta kit har validerats för optimal prestanda.
- Testet är avsett för användning med helblodsprover som har antikoagulerats med kalium-EDTA (K₂-EDTA) och förvarats i 2–8 °C i högst 96 timmar innan DNA-extraktion.
- Alla kemikalier och allt biologiskt material är potentiellt farliga. Prover är potentiellt smittsamma och måste hanteras som smittfarligt material.
- Kassera analys- och provavfall i enlighet med lokala säkerhetsprocedurer.

- Reagenser till *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit är optimalt utspädda. Späd inte ut reagenserna ytterligare då det kan resultera i förlorad prestanda.
- Använd inte reaktionsvolym (reaktionsmix plus prov) på mindre än 25 µl.
- Alla reagenser som medföljer *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit är avsedda att enbart användas tillsammans med de övriga reagenserna som ingår i samma kit. Byt inte ut något reagens från ett kit mot samma reagens från ett annat *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit även om det kommer från samma batch, eftersom detta kan påverka prestandan.
- Ytterligare varningar, försiktighetsåtgärder och procedurer finns i *Bruksanvisningen för Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*, *Bruksanvisningen för Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application*, *Bruksanvisningen för Gamma Plug-In* samt *Bruksanvisningen för QIAAsymphony SP-instrumentet*.
- Ändring av inkubationstider och temperaturer kan orsaka felaktiga eller icke överensstämmande data.
- Använd inte komponenter vars utgångsdatum har passerat eller som har förvarats felaktigt.
- Reaktionsmixar kan ändras om de utsätts för ljus.
- Läkta största försiktighet för att förhindra att blandningarna kontamineras av syntetiskt kontrollmaterial som finns i reagenserna JAK2 MT och JAK2 WT Quant-standard samt i reagenserna JAK2-mutant och JAK2 WT-kontroll.
- Läkta största försiktighet för att undvika överföring av smitta via carry-over av DNA- eller PCR-produkter, vilket kan orsaka en falskt positiv signal.
- Läkta största försiktighet för att förhindra kontaminering av DNase, vilket kan orsaka försämring av mall-DNA.

- Använd separata för ändamålet avsedda pipetter för iordningställande av reaktionsmixar och tillsats av mall.
- Öppna inte Rotor-Gene Q MDx-instrumentet förrän körningen har avslutats.
- Öppna inte Rotor-Gene Q-rören efter att körningen har avslutats.
- Iaktta största noggrannhet med betoning på felaktig provinmatning, laddningsfel och pipetteringsfel för att säkerställa korrekt provtestning.
- Se till att proverna hanteras på ett systematiskt sätt för att säkerställa att identifieringen alltid blir korrekt så att proverna går att spåra.

Vi rekommenderar följande hantering:

- Använd nukleasfritt laboratoriematerial (t.ex. pipetter, pipettspetsar, reaktionsflaskor) och bär handskar när du utför analysen.
- Använd nya aerosolresistanta pipettspetsar för alla pipetteringssteg för att undvika korskontaminering av prover och reagenser.
- Bered för-PCR-masterblandning med därför avsedda tillbehör (pipetter, spetsar etc.) i ett anpassat utrymme där inget DNA-material (DNA, plasmid eller PCR-produkter) förs in. Tillsätt mall i ett separat utrymme (helst i ett annat rum) med hjälp av specialanpassat material (pipetter, spetsar, osv.).
- Felsökning och säkerhetsinformation som rör extraktionskiten QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (kat.nr 61104) och QIASymphony DNA DSP Mini Kit (kat.nr 937236) finner du i motsvarande bruksanvisning.

- Felsökningsinformation som rör Rotor-Gene AssayManager v2.1 finns i *Bruksanvisning för Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application*.

Se dessutom avsnitten i *Bruksanvisningen för ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* för:

- "Förvaring och hantering av reagenser" avsnitt:
"Undvik att tina och frysa upprepade gånger. Överskrid inte maximalt fem frysnings-/upptiningscykler."
- "Automatisk extraktion av genomiskt DNA med QIAasymphony DSP DNA Mini Kit" avsnitt:
"Om en reagenskassetten endast har använts delvis ska du försegla den med medföljande tätningsremisar för återanvändning och stänga rören som innehåller proteinerna K med skruvlock direkt efter slutförd protokollkörning för att undvika avdunstning."
- "Begränsningar"
 - Det här kitet är avsett för professionell användning.
 - Produkten är endast avsedd att användas av personal som fått särskild utbildning i molekylärbiologiska tekniker och är väl förtrogna med produktens teknik. Produktens procedur ska tillämpas i molekylärbiologiska laboratoriemiljöer.
 - *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* är inte en automatiserad produkt men analysen utförs med hjälp av en dedikerad programvara för automatisk kvantifiering av mutationer.
 - Kitet ska användas i enlighet med de anvisningar som du finner i *Bruksanvisningen för ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit*, i kombination med ett validerat instrument som nämns i "Material som krävs men inte medföljer".

- Var uppmärksam på de utgångsdatum som anges på förpackningens etikett och etiketterna på rören. Använd inte komponenter vars utgångsdatum har passerat.
- Alla reagenser som medföljer *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit är avsedda att enbart användas tillsammans med de övriga reagenserna som ingår i samma kit. Om dessa riktlinjer inte följs kan prestandan påverkas.
- *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit har endast validerats för humant perifert helblod antikoagulerat med 2K-EDTA från patienter med misstänkt eller fastställd MPN.
- *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit har endast validerats för användning med QIAAsymphony DNA DSP Mini Kit (kat.nr 937236) eller QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (kat.nr 61104).
- *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit har endast validerats för användning med Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (för PCR) och QIAAsymphony SP (för provberedning).
- All användning av produkten tillsammans med andra märken och/eller ändring av komponenterna gör att QIAGEN:s garanti upphör att gälla.
- Alla diagnostiska resultat som erhålls måste tolkas tillsammans med övriga kliniska, patologiska fynd. Frånvaro av JAK2 V617F/G1849T-mutation utesluter inte förekomst av andra JAK2-mutationer. Testet kan rapportera falskt negativa resultat om andra mutationer förekommer i nukleotiderna 88504 till 88622.
- Det är användarens ansvar att validera systemegenskaperna för alla procedurer som används i laboratoriet som inte ingår i QIAGENs prestandastudier

- "Prestandaegenskaper, interfererande ämnen"
 - Studiens utformning uppfyller kraven i NCCLS-standard EP7-A3 "Interference Testing in clinical Chemistry" (Interferenstest i klinisk kemi). Totalt 19 potentiellt förekommande substanser i blodprover valdes för sin potentiella effekt på PCR (busulfan, citalopramhydrobromid, paroxetinhydrokloridhemihydrat, sertralinhydroklorid, fluoxetinhydroklorid, acetaminofen (paracetamol), okonjugerat bilirubin, kalium-2K-EDTA och 3K-EDTA, natrium-EDTA, Hgb (humant), triglycerider, lisinopriildihydrat, hydroxyurea, acetylsalicylsyra, salicylsyra, tiotepa, anagrelid, interferon alpha 2b).
 - Även ämnen från DNA-extraktionsprocessen utvärderades (QSL1, QSB1, QSW1, QSW2 och PK från QIASymphony DSP DNA Blood Mini Kit, QIAGEN Protease, etanol, AW1 och AW2 från QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit).
 - Resultaten som erhöles visade ingen interfererande effekt för dessa substanser.

- "Felsökningshandbok"

Felsökningshandboken kan vara till hjälp för att lösa eventuella problem som kan uppstå med följande komponenter i arbetsflödet:

 - Provberedning och fel
 - Fel i DNA-koncentration
 - Provet är ogiltigt på grund av låg koncentration
 - *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit användarfel
 - Ingen eller låg signal i prov och kontroller
 - Fel i drift av RGQ

	<p>För teknisk support och ytterligare information är du välkommen att besöka vårt tekniska supportcenter på www.qiagen.com/Support (gå till www.qiagen.com för att få kontaktinformation).</p>
--	---