

# *ipsogen*<sup>®</sup> JAK2 RGQ PCR Kit

## Kurzbericht über Sicherheit und Leistung



Version 2



In-vitro-Diagnostikum

Zur Verwendung mit dem Rotor-Gene<sup>®</sup> Q MDx 5plex HRM Gerät

Zur Verwendung mit dem *ipsogen*<sup>®</sup> JAK2 RGQ PCR Kit



0197



674623



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,  
DEUTSCHLAND



1124396DE

# Kurzbericht über Sicherheit und Leistung

Produktidentifikation und allgemeine Informationen	
<b>Name oder Markenname, einschließlich Modellnummer oder -version</b>	<i>ipsogen</i> <sup>®</sup> JAK2 RGQ PCR Kit
<b>Hersteller (Name und Adresse)</b>	QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 Hilden 40724 Deutschland
<b>Basis-UDI-DI</b>	4053228JAK2RGQ00000001RJ
<b>Einmalige Registrierungsnummer (SRN) des Herstellers, falls verfügbar</b>	DE-MF-000004949
<b>Medizinprodukteneinklatur</b>	W01060299 Tests auf erworbene Gen- oder Chromosomenveränderungen
<b>Produktklasse</b>	Klasse C
<b>Jahr, in dem das Produkt erstmals auf den EU-Markt gebracht wurde</b>	Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (Katalognummer 673623, Version 1), gültig unter EU-IVD-Richtlinie 98/79/EG und Beschluss der Kommission 2010/227/EU (IVDD), wurde erstmals 2014 auf den EU-Markt gebracht.

<b>Bevollmächtigter, falls zutreffend</b>	Nicht zutreffend.
<b>Benannte Stelle und einmalige Kennnummer (SIN)</b>	TÜV Rheinland; benannte Stelle Nummer 0197
<b>Zweckbestimmung des Produkts</b>	
<b>Zweckbestimmung</b>	Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit ist ein quantitativer In-vitro-PCR-Assay für den Nachweis und die Quantifizierung der JAK2-Mutation V617F/G1849T in genomischer DNA, die aus mit 2K-EDTA antikoaguliertem humanem peripherem Vollblut extrahiert wurde. Die mit dem <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit erzielten Ergebnisse sind zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Beurteilung eines Verdachts auf Philadelphia(Ph)-Chromosom-negative myeloproliferative Neoplasie (MPN) und zur molekularen Krankheitsüberwachung bei MPN-Patienten bestimmt. Alle diagnostischen Ergebnisse müssen in Verbindung mit weiteren klinisch-pathologischen Befunden interpretiert werden.
<b>Indikationen und Zielpopulationen</b>	Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit ist zur Untersuchung von Patienten mit Verdacht auf Philadelphia(Ph)-Chromosom-negative myeloproliferative Neoplasie (MPN) und zur molekularen Krankheitsüberwachung bei MPN-Patienten bestimmt.

**Kontraindikationen  
und/oder  
Einschränkungen**

Das Kit ist zur Anwendung im professionellen Bereich vorgesehen.

Das Produkt darf nur von Personen verwendet werden, die für die Anwendung molekularbiologischer Verfahren und das hier beschriebene System speziell eingewiesen und geschult wurden. Das Produktverfahren ist in einer molekularbiologischen Laborumgebung durchzuführen.

Das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit ist nur für die Verwendung mit dem QIAGEN Rotor-Gene® Q MDx 5plex HRM Gerät und anderen validierten Workflow-Komponenten vorgesehen, wie in der Gebrauchsanweisung beschrieben. Das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit ist kein automatisiertes Produkt. Die Analyse wird jedoch durch eine spezielle Software zur automatischen Quantifizierung von Mutationen unterstützt.

Das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit muss unter Beachtung der in der Gebrauchsanweisung enthaltenen Anweisungen verwendet werden.

Die auf den Packungsetiketten aufgedruckten Verfallsdaten müssen unbedingt beachtet werden. Komponenten mit abgelaufenem Verfallsdatum dürfen nicht verwendet werden.

Alle im *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit enthaltenen Reagenzien sind ausschließlich für die Verwendung mit den anderen Reagenzien aus demselben Kit vorgesehen. Die Nichtbeachtung dieser Richtlinie kann die Leistung beeinträchtigen.

Das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit ist ausschließlich für humanes peripheres Vollblut, das Patienten mit vermuteter oder

	<p>diagnostizierter MPN entnommen und mit 2K-EDTA antikoaguliert wurde, validiert.</p> <p>Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit ist ausschließlich für den Gebrauch mit dem QIA Symphony DNA DSP Mini Kit (Kat.-Nr. 937236) oder dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (Kat.-Nr. 61104) validiert.</p> <p>Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit ist ausschließlich für den Gebrauch mit dem Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Gerät (für die PCR) und dem QIA Symphony SP Gerät (für die Probenvorbereitung) validiert.</p> <p>Eine Verwendung dieses Produkts für einen anderen als den vorgesehenen Zweck und/oder eine Modifikation der Komponenten führt zum Erlöschen der Haftung von QIAGEN.</p> <p>Alle diagnostischen Ergebnisse müssen in Verbindung mit weiteren klinisch-pathologischen Befunden interpretiert werden. Die Abwesenheit der JAK2 V617F/G1849T-Mutation schließt das Vorliegen anderer JAK2-Mutationen nicht aus. Im Fall von zusätzlichen Mutationen der Nukleotide 88504 bis 88622 kann der Test falsch negative Ergebnisse ausgeben.</p> <p>Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, für jedes Verfahren, das im Labor des Anwenders durchgeführt wird und das nicht durch die Leistungsstudien von QIAGEN abgedeckt ist, die Systemleistung selbst zu validieren.</p>
<p><b>Produktbeschreibung</b></p>	
<p><b>Produktbeschreibung</b></p>	<p>a) <b>Allgemeine Beschreibung des Produkts, einschließlich Zweckbestimmung und vorgesehener Anwender</b></p>

Das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit ist ein quantitativer In-vitro-PCR-Assay für den Nachweis und die Quantifizierung der JAK2-Mutation V617F/G1849T in genomischer DNA, die aus mit 2K-EDTA antikoaguliertem humanem peripherem Vollblut extrahiert wurde.

Die mit dem *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit erzielten Ergebnisse sind zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Beurteilung eines Verdachts auf Philadelphia(Ph)-Chromosom-negative myeloproliferative Neoplasie (MPN) und zur molekularen Krankheitsüberwachung bei MPN-Patienten bestimmt. Alle diagnostischen Ergebnisse müssen in Verbindung mit weiteren klinisch-pathologischen Befunden interpretiert werden.

Das Kit ist zur Anwendung im professionellen Bereich vorgesehen.

Das Produkt darf nur von Personen verwendet werden, die für die Anwendung molekularbiologischer Verfahren und das hier beschriebene System speziell eingewiesen und geschult wurden. Das Produktverfahren ist in einer molekularbiologischen Laborumgebung durchzuführen.

#### **b) Beschreibung des Testprinzips des Assays oder des Funktionsprinzips des Geräts**

Das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit nutzt das Prinzip der qPCR-Oligonukleotidhydrolyse in Verbindung mit einer Amplification Refractory Mutation System(ARMS)-Technologie, einer einfachen Methode zum Nachweis einer beliebigen Mutation mit einem Einzelbasenaustausch (auch Einzelnukleotid-Polymorphismus, SNP, genannt).

Die Polymerase-Kettenreaktion arbeitet traditionell mit Vorwärts- und Rückwärts-Primern, die an eine spezifische DNA-Sequenz oder Zielsequenz hybridisieren, um diese zu amplifizieren. Die ARMS-Technologie basiert auf dem Einsatz sequenzspezifischer PCR-Primer, welche die Amplifikation der Test-DNA nur dann erlauben, wenn das Zielallel in der Probe enthalten ist. Das Prinzip der qPCR-Oligonukleotidhydrolyse basiert auf einem farbstoffmarkierten Oligonukleotid (auch Sonde genannt), das in der qPCR-Mischung enthalten ist. Diese Sonde, die aus einem Oligonukleotid mit einem 5'-Reporterfarbstoff und einem downstream gelegenen farbstofffreien 3'-Quencher besteht, hybridisiert an eine Zielsequenz des PCR-Produkts. Die qPCR-Analyse mit Hydrolyse-Sonden nutzt die 5'→3'-Exonuklease-Aktivität der DNA-Polymerase des Bakteriums *Thermus aquaticus* (*Taq*). Bei intakter Sonde führt die Nähe des Reporterfarbstoffs zum Quencher zur Unterdrückung der Reporter-Fluoreszenz – ein Vorgang, der hauptsächlich auf dem Förster-Resonanzenergietransfer beruht. Wenn die gewünschte Zielsequenz vorhanden ist, lagern sich die Forward- und Reverse-Primer während der PCR an beiden Seiten der Sonde spezifisch an. Die 5'→3'-Exonuklease-Aktivität der DNA-Polymerase führt zu einer Spaltung der Sonde zwischen dem Reporter und dem Quencher, was zu einer Fluoreszenzemission durch den Reporter führt. Dieser Vorgang findet in jedem Zyklus statt und hat keinen störenden Einfluss auf die exponentielle Akkumulation des Produkts. Der Anstieg der Fluoreszenz ist daher direkt proportional zur Amplifikation der Zielsequenz, die während der PCR stattfindet. Bei der qPCR wird die Anzahl der PCR-Zyklen, die für die Detektion eines Signals oberhalb des Schwellenwerts erforderlich ist, als

Crossing Point (Cp) oder Zyklusschwellenwert (Cycle Threshold, Ct) bezeichnet. Dieser Schwellenwert ist direkt proportional zur Menge der Zielsequenz, die zu Beginn der Reaktion vorliegt.

**c) Begründung für die Qualifizierung des Produkts als Medizinprodukt und Risikoklasse des Medizinprodukts (Auszug aus dem Dokument zur Regulierungsstrategie)**

Das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit ist ein Kit aus Reagenzien, das zur Verwendung in Kombination mit einem Real-time PCR-Gerät (QIAGEN Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Gerät) zur Untersuchung von Proben aus dem menschlichen Körper vorgesehen ist, um Informationen über einen pathologischen Prozess oder Zustand zu gewinnen (als Ergänzung zur Beurteilung und Überwachung des molekularen Ansprechens von Ph-negativer MPN). Damit erfüllt das Produkt die Definition eines In-vitro-Diagnostikums gemäß IVDR. Die JAK2 V617F-Mutation ist Teil des Diagnosealgorithmus und kann auch als Follow-up-Biomarker für myeloproliferative Neoplasien (MPN), namentlich Polycythemia vera (PV), primäre Myelofibrose (PMF) und essentielle Thrombozythämie (ET), verwendet werden. Damit hat das Produkt gemäß IVDR die Risikoklasse C.

**d) Beschreibung der Komponenten des Produkts**

Das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit enthält die folgenden Komponenten:

Materialnummer	Name/Beschreibung der Komponente	Menge je Kit nach Anzahl der Röhrchen (Volumen)
1073859	JAK2-MT-Reaktionsgemisch Oligonukleotide für den Nachweis des mutierten (MT)-Allels und der internen Kontrolle, PCR-Puffer, MgCl <sub>2</sub> , dNTPs <i>Die interne Amplifikationskontrolle, die in den Reaktionsgemischen enthalten ist, dient zur Prüfung auf qPCR-Inhibition und zum Ausschluss eines Versagens der PCR-Reaktion im Falle von negativen Ergebnissen.</i>	1 (1010 Öl)
1073856	JAK2-WT-Reaktionsgemisch Oligonukleotide für den Nachweis des Wildtyp(WT)-Allels und der internen Kontrolle, PCR-Puffer, MgCl <sub>2</sub> , dNTPs <i>Die interne Amplifikationskontrolle, die in den Reaktionsgemischen enthalten ist, dient zur Prüfung auf qPCR-Inhibition und zum Ausschluss eines Versagens der PCR-Reaktion im Falle von negativen Ergebnissen.</i>	1 (1010 Öl)
1073892	Taq-DNA-Polymerase (HotStarTaq® 5 Einheiten/Öl)	1 (85 Öl)
1073865	JAK2-WT-Kontrolle (100 % Wildtyp-Allele) (Zelllinien-DNA mit 100 % Wildtyp-Allel, Amplifikationskontrolle)	1 (33 Öl)
1073862	JAK2-Mutationskontrolle (100 % V617F-Allel) (Zelllinien-DNA mit 100 % V617F-Allel, Amplifikationskontrolle)	1 (33 Öl)
Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite		

Fortsetzung der Tabelle von der vorhergehenden Seite

Materialnummer	Name/Beschreibung der Komponente	Menge je Kit nach Anzahl der Röhrchen (Volumen)
1095204.1 bis .4 (Satz JAK2-WT-Quantifizierungsstandards: QS1 bis QS4)	JAK2-WT-Quantifizierungsstandard 1 (5 x 10 <sup>1</sup> Wildtyp-Kopien/5 µl)	1 (20 µl)
	JAK2 WT-Quantifizierungsstandard 2 (5 x 10 <sup>2</sup> Wildtyp-Kopien/5 µl)	1 (20 µl)
	JAK2 WT-Quantifizierungsstandard 3 (5 x 10 <sup>3</sup> Wildtyp-Kopien/5 µl)	1 (20 µl)
	JAK2 WT-Quantifizierungsstandard 4 (5 x 10 <sup>4</sup> Wildtyp-Kopien/5 µl)	1 (20 µl)
1095205.1 bis .4 (Satz JAK2-MT-Quantifizierungsstandards: QS1 bis QS4)	JAK2 MT-Quantifizierungsstandard 1 (5 x 10 <sup>1</sup> V617F-Kopien /5 µl)	1 (20 µl)
	JAK2 MT-Quantifizierungsstandard 2 (5 x 10 <sup>2</sup> V617F-Kopien /5 µl)	1 (20 µl)
	JAK2 MT-Quantifizierungsstandard 3 (5 x 10 <sup>3</sup> V617F-Kopien /5 µl)	1 (20 µl)
	JAK2 MT-Quantifizierungsstandard 4 (5 x 10 <sup>4</sup> V617F-Kopien /5 µl)	1 (20 µl)
1067627	Wasser für Kontrolle ohne Template (NTC) (nukleasefreies Wasser)	1 (1,9 ml)
1073894	Tris-EDTA-Puffer (TE-Puffer) zur Probenverdünnung	1 (1,9 ml)

Die JAK2-MT-Quantifizierungsstandards (QS1 bis QS4) sind serielle Verdünnungen von Plasmiden mit der V617F-Allelsequenz.

Die JAK2-WT-Quantifizierungsstandards (QS1 bis QS4) sind serielle Verdünnungen von Plasmiden mit der WT-Allelsequenz.

**e) Die Beschreibung der mit dem Produkt mitgelieferten Materialien für Probenentnahme und -transport**

Mit dem Produkt werden keine Materialien für Probenentnahme und -transport mitgeliefert.

	<p><b>f) Bei Geräten für automatisierte Assays: Beschreibung der entsprechenden Assaymerkmale oder spezieller Assays</b></p> <p>Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit ist kein automatisierter Assay. Die Analyse wird jedoch durch ein spezielles Software-Paket unterstützt.</p> <p><b>g) Bei automatisierten Assays: Beschreibung der entsprechenden Gerätemerkmale oder spezieller Geräte</b></p> <p>Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit ist kein automatisierter Assay. Die Analyse wird jedoch durch ein spezielles Software-Paket unterstützt.</p> <p><b>h) Eine Beschreibung der mit dem Medizinprodukt zu verwendenden Software</b></p> <p>Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit ist nur für die Verwendung mit dem QIAGEN Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Gerät und anderen validierten Workflow-Komponenten vorgesehen, wie in der Gebrauchsanweisung beschrieben. Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit ist kein automatisiertes Produkt. Die Analyse wird jedoch durch eine spezielle Software unterstützt: die Rotor-Gene AssayManager® Software, Version 2.1.x (<math>x \geq 0</math>), mit dem Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in, Version 1.0.x [<math>x \geq 0</math>], und dem <i>ipsogen</i>_JAK2_blood_CE_IVDR Assay-Profil (AP_<i>ipsogen</i>_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_0_x.iap [<math>x \geq 1</math>]).</p> <p><b>i) Eine Beschreibung oder vollständige Liste der verschiedenen Konfigurationen oder Varianten des Medizinprodukts, die auf dem Markt verfügbar gemacht werden sollen</b></p>
--	--

Derzeit ist für keine Variante des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (674623) eine Kommerzialisierung in der Europäischen Union geplant.

**j) Eine Beschreibung des Zubehörs für das Medizinprodukt, anderer Medizinprodukte und anderer Produkte, bei denen es sich nicht um Medizinprodukte handelt, die zur Verwendung in Kombination mit dem Medizinprodukt vorgesehen sind**

Aktuell ist kein für das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit entwickeltes Zubehör verfügbar. Bei dem Kit handelt es sich um einen gebrauchsfertigen Satz Reagenzien.

Anwender des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit müssen zur Durchführung des vollständigen Workflows die folgenden Ausrüstungsgegenstände und Materialien bereitstellen, die erforderlich, aber nicht im Lieferumfang des Kits enthalten sind:

- Verbrauchsmaterialien und Reagenzien für die manuelle DNA-Extraktion
  - QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit (Kat.-Nr. 61104)
  - Ethanol (96–100 %)  
Hinweis: Es darf kein denaturierter Alkohol verwendet werden, da dieser andere Stoffe wie z. B. Methanol oder Methylethylketon enthält.
- Verbrauchsmaterialien und Reagenzien für die automatisierte DNA-Extraktion
  - QIASymphony DSP DNA Mini Kit (Kat.-Nr. 937236)
  - Sample Prep Cartridges, 8-well (Kat.-Nr. 997002)

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 8-Rod Covers (Kat.-Nr. 997004)</li> <li>○ Filter-Tips, 1500 µl (Kat.-Nr. 997024)</li> <li>○ Filter-Tips, 200 µl (Kat.-Nr. 990332)</li> <li>○ Elution Microtubes CL (Kat.-Nr. 19588)</li> <li>○ Tip disposal bags (Kat.-Nr. 9013395)</li> <li>○ Micro tubes 2.0 ml Type H (Sarstedt®, Kat.-Nr. 72.694, <a href="http://www.sarstedt.com">www.sarstedt.com</a>)</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Verbrauchsmaterialien und Reagenzien für die PCR <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Nukleasefreie, aerosolbeständige, sterile PCR-Pipettenspitzen mit hydrophoben Filtern</li> <li>○ Nukleasefreie PCR-Röhrchen, 1,5 ml oder 2,0 ml</li> <li>○ Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, für Rotor-Gene Q (Kat.-Nr. 981103 oder 981106)</li> <li>○ Eis</li> </ul> </li> <li>● Geräte <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Einstellbare Pipetten* für die PCR (1–10 µl; 10–100 µl; 100–1000 µl)</li> <li>○ Einweghandschuhe</li> <li>○ Vortex-Mischer</li> <li>○ Heizblock für die Lyse der Proben bei 56 °C</li> <li>○ Tischzentrifuge* mit Rotor für 0,5-/1,5-/2,0-ml-Reaktionsröhrchen (zentrifugierbar bei 13 000–14 000 U/min)</li> <li>○ Spektralphotometer*</li> </ul> </li> </ul>
--	---

\* Stellen Sie vor dem Gebrauch sicher, dass die Geräte gemäß den Empfehlungen des Herstellers geprüft und kalibriert wurden.

	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Ausstattung/Geräte für die Probenvorbereitung <ul style="list-style-type: none"> <li>○ QIASymphony SP Gerät* (Kat.-Nr. 9001297), Softwareversion 4.0 oder höher, mitgeliefertes Zubehör und Protokoll Blood_200_V7_DSP (oder höhere Version)</li> <li>○ Tube Insert 3B (Einsatz, 2,0 ml v2, Probenträger (24), Qsym, Kat.-Nr. 9242083)</li> </ul> </li>   <li>● Ausrüstung für die Real-time PCR <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Real-time PCR-Gerät: * Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform (Kat.-Nr. 9002032) oder Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System (Kat.-Nr. 9002033 und mitgeliefertes Zubehör)</li> <li>○ Installierte Rotor-Gene AssayManager® Software, Version 2.1.x (x ≥ 0)</li> <li>○ Installiertes Rotor-Gene AssayManager Gamma Plugin, Version 1.0.x (x ≥ 0)</li> <li>○ Importiertes ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR Assay-Profil (AP_ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_2_x.iap [x ≥ 1])</li> </ul> </li> </ul>
<p><b>Verweis auf Vorgängergeneration(en) oder Varianten des Medizinprodukts (sofern zutreffend) und eine Beschreibung der Unterschiede</b></p>	<p>Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (Katalognummer 673623, Version 1), gültig unter EU-IVD-Richtlinie 98/79/EG und Beschluss der Kommission 2010/227/EU (IVDD), wurde erstmals 2014 auf den EU-Markt gebracht.</p> <p>Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (Katalognummer 674623) ist eine Version 2, die einem Programm unterzogen wurde, um Konformität mit der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika (IVDR) zu gewährleisten.</p>

\* Stellen Sie vor dem Gebrauch sicher, dass die Geräte gemäß den Empfehlungen des Herstellers geprüft und kalibriert wurden.

Die Kit-Komponenten beider Kits, 673623 und 674623, sind identisch und die beiden Kits sind technisch identisch. Die Analyse wird jeweils durch eine Software zur automatischen Quantifizierung von Mutationen unterstützt. Ein für das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, Katalognummer 674623, spezifisches Assay-Profil wurde basierend auf der existierenden, für das *ipsogen*<sup>®</sup> JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE, Katalognummer 673623, spezifischen Version erstellt.

Gegenüber der Gebrauchsanweisung für das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (Katalognummer 673623) weist die Gebrauchsanweisung für das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (Katalognummer 674623) die nachstehend aufgeführten Verbesserungen auf, um Konformität mit den Anforderungen der IVDR sicherzustellen:

- Verwendungszweck und vorgesehene Anwender wurden detailliert und spezifisch erläutert.
- Protokolle wurden neu arrangiert und durch zusätzliche Anweisungen und Illustrationen ergänzt, um das Verständnis zu verbessern.
- Aussagen zur Stabilität und Stabilität nach dem Öffnen von genomischer DNA wurden aktualisiert.
- Leistungsmerkmale wurden aktualisiert und durch zusätzliche Daten ergänzt (analytisch und klinisch).
- Verweis auf den Kurzbericht über Sicherheit und Leistung wurde hinzugefügt.

Symbole wurden aktualisiert und um zusätzliche Kennzeichnungen ergänzt.

<p><b>Beschreibung des zur Verwendung in Kombination mit dem Medizinprodukt vorgesehenen Zubehörs (sofern zutreffend)</b></p>	<p>Nicht zutreffend.</p>
<p><b>Beschreibung anderer zur Verwendung in Kombination mit dem Medizinprodukt vorgesehener Geräte und Produkte (sofern zutreffend)</b></p>	<p>Aktuell ist kein für das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit entwickeltes Zubehör verfügbar. Bei dem Kit handelt es sich um einen gebrauchsfertigen Satz Reagenzien.</p> <p>Anwender des <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit müssen zur Durchführung des vollständigen Workflows die folgenden Ausrüstungsgegenstände und Materialien bereitstellen, die erforderlich, aber nicht im Lieferumfang des Kits enthalten sind:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Verbrauchsmaterialien und Reagenzien für die manuelle DNA-Extraktion <ul style="list-style-type: none"> <li>○ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (Kat.-Nr. 61104)</li> <li>○ Ethanol (96–100 %) <p>Hinweis: Es darf kein denaturierter Alkohol verwendet werden, da dieser andere Stoffe wie z. B. Methanol oder Methylethylketon enthält.</p> </li> </ul> </li> <li>● Verbrauchsmaterialien und Reagenzien für die automatisierte DNA-Extraktion <ul style="list-style-type: none"> <li>○ QIASymphony DSP DNA Mini Kit (Kat.-Nr. 937236)</li> <li>○ Sample Prep Cartridges, 8-well (Kat.-Nr. 997002)</li> <li>○ 8-Rod Covers (Kat.-Nr. 997004)</li> </ul> </li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Filter-Tips, 1500 µl (Kat.-Nr. 997024)</li> <li>○ Filter-Tips, 200 µl (Kat.-Nr. 990332)</li> <li>○ Elution Microtubes CL (Kat.-Nr. 19588)</li> <li>○ Tip disposal bags (Kat.-Nr. 9013395)</li> <li>○ Micro tubes 2.0 ml Type H (Sarstedt, Kat.-Nr. 72.694, <a href="http://www.sarstedt.com">www.sarstedt.com</a>)</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Verbrauchsmaterialien und Reagenzien für die PCR <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Nukleasefreie, aerosolbeständige, sterile PCR-Pipettenspitzen mit hydrophoben Filtern</li> <li>○ Nukleasefreie PCR-Röhrchen, 1,5 ml oder 2,0 ml</li> <li>○ Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, für Rotor-Gene Q (Kat.-Nr. 981103 oder 981106)</li> <li>○ Eis</li> </ul> </li> <li>● Geräte <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Einstellbare Pipetten* für die PCR (1–10 µl; 10–100 µl; 100–1000 µl)</li> <li>○ Einweghandschuhe</li> <li>○ Vortex-Mischer</li> <li>○ Heizblock für die Lyse der Proben bei 56 °C</li> <li>○ Tischzentrifuge* mit Rotor für 0,5-/1,5-/2,0-ml-Reaktionsröhrchen (zentrifugierbar bei 13 000–14 000 U/min)</li> <li>○ Spektralphotometer*</li> </ul> </li> <li>● Ausstattung/Geräte für die Probenvorbereitung</li> </ul>
--	---

\* Stellen Sie vor dem Gebrauch sicher, dass die Geräte gemäß den Empfehlungen des Herstellers geprüft und kalibriert wurden.

	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ QIASymphony SP Gerät* (Kat.-Nr. 9001297), Softwareversion 4.0 oder höher, mitgeliefertes Zubehör und Protokoll Blood_200_V7_DSP (oder höhere Version)</li> <li>○ Tube Insert 3B (Einsatz, 2,0 ml v2, Probenträger) (24), Qsym, Kat.-Nr. 9242083)</li> <li>● Ausrüstung für die Real-time PCR <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Real-time PCR-Gerät: * Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform (Kat.-Nr. 9002032) oder Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System (Kat.-Nr. 9002033) und mitgeliefertes Zubehör</li> <li>○ Installierte Rotor-Gene AssayManager Software, Version 2.1.x (<math>x \geq 0</math>)</li> <li>○ Installiertes Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in, Version 1.0.x (<math>x \geq 0</math>)</li> <li>○ Importiertes ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR Assay-Profil (AP_ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_2_x.iap [<math>x \geq 1</math>])</li> </ul> </li> </ul>
<b>Referenzierte Normen</b>	
<b>Angewendete harmonisierte Normen und gemeinsame Spezifikationen (GS)</b>	<p>Es sind keine harmonisierten Normen unter der IVDR vorhanden. In der nachstehenden Tabelle sind die bei der Entwicklung des <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit verwendeten Normen aufgeführt.</p>

\* Stellen Sie vor dem Gebrauch sicher, dass die Geräte gemäß den Empfehlungen des Herstellers geprüft und kalibriert wurden.

	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="338 189 565 236">Bezeichnung der Norm</th> <th data-bbox="565 189 1010 236">Titel der Norm</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="338 236 565 327">EN ISO 13485:2016</td> <td data-bbox="565 236 1010 327">Medizinprodukte – Qualitätsmanagementsysteme – Anforderungen für regulatorische Zwecke (ISO 13485:2016)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="338 327 565 391">EN ISO 14971:2019</td> <td data-bbox="565 327 1010 391">Medizinprodukte – Anwendung des Risikomanagements auf Medizinprodukte</td> </tr> <tr> <td data-bbox="338 391 565 518">EN ISO 15223-1:2016</td> <td data-bbox="565 391 1010 518">Medizinprodukte – Bei Aufschriften von Medizinprodukten zu verwendende Symbole, Kennzeichnung und zu liefernde Informationen – Teil 1: Allgemeine Anforderungen</td> </tr> <tr> <td data-bbox="338 518 565 614">EN ISO 18113-1:2011</td> <td data-bbox="565 518 1010 614">In-vitro-Diagnostika – Bereitstellung von Informationen durch den Hersteller – Teil 1: Begriffe und allgemeine Anforderungen</td> </tr> <tr> <td data-bbox="338 614 565 726">EN ISO 18113-2:2011</td> <td data-bbox="565 614 1010 726">In-vitro-Diagnostika – Bereitstellung von Informationen durch den Hersteller – Teil 2: In-vitro-diagnostische Reagenzien für den Gebrauch durch Fachpersonal</td> </tr> <tr> <td data-bbox="338 726 565 821">EN ISO 23640:2015</td> <td data-bbox="565 726 1010 821">In-vitro-Diagnostika – Haltbarkeitsprüfung von Reagenzien für in-vitro-diagnostische Untersuchungen (ISO 23640:2011)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="338 821 565 885">EN 62304:2006</td> <td data-bbox="565 821 1010 885">Medizingeräte-Software – Software-Lebenszyklus-Prozesse (IEC 62304:2006)</td> </tr> <tr> <td data-bbox="338 885 565 981">EN 62366:2008</td> <td data-bbox="565 885 1010 981">Medizinprodukte – Anwendung der Gebrauchstauglichkeit auf Medizinprodukte (IEC 62366:2007)</td> </tr> </tbody> </table>	Bezeichnung der Norm	Titel der Norm	EN ISO 13485:2016	Medizinprodukte – Qualitätsmanagementsysteme – Anforderungen für regulatorische Zwecke (ISO 13485:2016)	EN ISO 14971:2019	Medizinprodukte – Anwendung des Risikomanagements auf Medizinprodukte	EN ISO 15223-1:2016	Medizinprodukte – Bei Aufschriften von Medizinprodukten zu verwendende Symbole, Kennzeichnung und zu liefernde Informationen – Teil 1: Allgemeine Anforderungen	EN ISO 18113-1:2011	In-vitro-Diagnostika – Bereitstellung von Informationen durch den Hersteller – Teil 1: Begriffe und allgemeine Anforderungen	EN ISO 18113-2:2011	In-vitro-Diagnostika – Bereitstellung von Informationen durch den Hersteller – Teil 2: In-vitro-diagnostische Reagenzien für den Gebrauch durch Fachpersonal	EN ISO 23640:2015	In-vitro-Diagnostika – Haltbarkeitsprüfung von Reagenzien für in-vitro-diagnostische Untersuchungen (ISO 23640:2011)	EN 62304:2006	Medizingeräte-Software – Software-Lebenszyklus-Prozesse (IEC 62304:2006)	EN 62366:2008	Medizinprodukte – Anwendung der Gebrauchstauglichkeit auf Medizinprodukte (IEC 62366:2007)
Bezeichnung der Norm	Titel der Norm																		
EN ISO 13485:2016	Medizinprodukte – Qualitätsmanagementsysteme – Anforderungen für regulatorische Zwecke (ISO 13485:2016)																		
EN ISO 14971:2019	Medizinprodukte – Anwendung des Risikomanagements auf Medizinprodukte																		
EN ISO 15223-1:2016	Medizinprodukte – Bei Aufschriften von Medizinprodukten zu verwendende Symbole, Kennzeichnung und zu liefernde Informationen – Teil 1: Allgemeine Anforderungen																		
EN ISO 18113-1:2011	In-vitro-Diagnostika – Bereitstellung von Informationen durch den Hersteller – Teil 1: Begriffe und allgemeine Anforderungen																		
EN ISO 18113-2:2011	In-vitro-Diagnostika – Bereitstellung von Informationen durch den Hersteller – Teil 2: In-vitro-diagnostische Reagenzien für den Gebrauch durch Fachpersonal																		
EN ISO 23640:2015	In-vitro-Diagnostika – Haltbarkeitsprüfung von Reagenzien für in-vitro-diagnostische Untersuchungen (ISO 23640:2011)																		
EN 62304:2006	Medizingeräte-Software – Software-Lebenszyklus-Prozesse (IEC 62304:2006)																		
EN 62366:2008	Medizinprodukte – Anwendung der Gebrauchstauglichkeit auf Medizinprodukte (IEC 62366:2007)																		
<p><b>Zusammenfassung der Leistungsbewertung und Nachbeobachtung der Leistung nach dem Inverkehrbringen</b></p>																			
<p><b>Zusammenfassung der Leistungsbewertung und Nachbeobachtung der Leistung nach dem Inverkehrbringen</b></p>	<p>Die Leistungsbewertung verifiziert die wissenschaftliche Gültigkeit, die analytische Leistung und, sofern zutreffend, die klinischen Leistungsmerkmale des <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit, um einen strukturierten und transparenten Prozess zu schaffen, der zuverlässige Daten und robuste Studien liefert.</p> <p>Die Bewertung der wissenschaftlichen Gültigkeit basierte auf einer systematischen Literaturanalyse, der Bewertung</p>																		

verfügbarer/abgerufener/neuer Daten, die für das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit und dessen Zweckbestimmung relevant sind, sowie Konsensusmeinungen/-positionen von Fachleuten aus internationalen Leitlinien. Die hier präsentierten Daten demonstrieren die wissenschaftliche Gültigkeit des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit für seinen Verwendungszweck.

Die analytische Leistung wurde auf Grundlage der Untersuchungen zur Feststellung der erforderlichen Leistungskennzahlen demonstriert: Leerwertgrenze (LoB), Nachweisgrenze (LoD) und Quantifizierungsgrenze (LoQ), Präzision (Wiederholpräzision und Reproduzierbarkeit), Linearität, Störsubstanzen, Kreuzkontaminationen, PCR-Genauigkeit und Tests des JAK2-Panels 16/120 der WHO (Übereinstimmung, Richtigkeit und Genauigkeit), Messbereich, Probenstabilität/-handhabung, Akzeptanzkriterien für die DNA-Quantifizierung, Vergleich von manueller und automatischer Extraktion, Verifizierung der Gebrauchstauglichkeit, Verwendung künstlicher Proben und Assay-Profil-Verifizierung. Die Bewertung dieser Quellen zeigte, dass die analytische Leistung des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit dem Verwendungszweck des Kits angemessen ist und eine sichere Verwendung für die Zweckbestimmung, die vorgesehenen Anwender und die vorgesehene Patientenpopulation ermöglicht.

Die klinischen Leistungsmerkmale wurden basierend auf einer systematischen Literaturanalyse und klinischer Leistungsstudien, die klinische Leistungskennzahlen für Genauigkeit/Übereinstimmung lieferten, demonstriert: PPV, NPV, diagnostische Sensitivität, Spezifität, Wahrscheinlichkeitsquotient unter Verwendung der Daten aus den klinischen Leistungsstudien und

PPA und NPA unter Verwendung der Studiendaten zur analytischen Genauigkeit und der klinischen Leistung. Es wurden auch durch Routinediagnostiktests gewonnene Erkenntnisse ausgewertet. Die Bewertung dieser Quellen zeigte, dass die klinischen Leistungsmerkmale des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit dem Verwendungszweck des Kits angemessen sind und eine sichere Verwendung für die Zweckbestimmung, die vorgesehenen Anwender und die vorgesehene Patientenpopulation ermöglichen.

Das System zur Bewertung nach dem Inverkehrbringen hat das Ziel, die Sicherheit, Leistung und wissenschaftliche Gültigkeit des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit über seine erwartete Lebensdauer hinweg zu bestätigen, sicherzustellen, dass das Nutzen-Risiko-Verhältnis weiterhin akzeptabel ist und neu auftretende Risiken basierend auf empirischen Belegen zu erkennen und Vorbeugungs- bzw. Korrekturmaßnahmen zu ermitteln, anzuwenden und auszuwerten.

Die Nachbeobachtung der Leistung nach dem Inverkehrbringen hat das Ziel, die Sicherheit, Leistung und wissenschaftliche Gültigkeit des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit über seine erwartete Lebensdauer hinweg zu bestätigen, sicherzustellen, dass das Nutzen-Risiko-Verhältnis weiterhin akzeptabel ist und neu auftretende Risiken basierend auf empirischen Belegen zu erkennen.

Dies dient dem Zweck, die klinische Sicherheit und Leistung über die erwartete Lebensdauer hinweg zu verifizieren, zuvor unbekannte Risiken oder Leistungseinschränkungen und Kontraindikationen zu identifizieren, neu auftretende Risiken

basierend auf empirischen Belegen zu identifizieren und zu analysieren, sicherzustellen, dass die klinischen Nachweise und das Nutzen-Risiko-Verhältnis weiterhin akzeptabel sind und mögliche systematische Fehlanwendungen zu identifizieren. Dazu werden die folgenden Daten zur Nachbeobachtung der Leistung nach dem Inverkehrbringen erhoben.

Klinische Erkenntnisse im Zusammenhang mit Trends werden aus Daten gesammelt, die in Studien nach Markteinführung generiert (vom Unternehmen gesponsert oder von Forschern initiiert) und Patientenregistern in Form von Real-World-Daten und Real-World-Evidenz (RWD/RWE) entnommen wurden, sofern zutreffend.

Feedback von Anwendern (Gesundheitsfachkräfte, klinische KOLs und Laborfachkräfte) sowie Händlern und Importeuren aus Umfragen, publizierten Daten zu Anwenderberichten und Vertrieb sowie Schulungen.

Auswertung der wissenschaftlichen Literatur nach einer Literaturrecherche nach dem Medizinprodukt und ähnlichen bzw. äquivalenten Medizinprodukten, neue technische oder medizinische Leitlinien.

Informationen über von QIAGEN überprüfte und ausgewertete technische oder spezialisierte Datensätze, Register und Fallberichte.

	<p>Epidemiologische Studien wie Beobachtungsstudien nach Markteinführung zum Sammeln von Informationen über die Leistung des Medizinprodukts.</p> <p>Die Nachbeobachtung der Leistung nach dem Inverkehrbringen wird jährlich aktualisiert, um neue Daten und Ergebnisse, Studien nach Markteinführung, Verweise auf relevante gemeinsame Spezifikationen und herangezogene harmonisierte Normen sowie relevante Leitfäden für die Nachbeobachtung der Leistung nach dem Inverkehrbringen aufzunehmen.</p> <p>Im Voraus spezifizierte Ergebnisse können zusätzliche Aufgaben und Aktivitäten auslösen. Die im Voraus spezifizierten Auslöser für Aktivitäten im Rahmen der Nachbeobachtung der Leistung nach dem Inverkehrbringen basieren auf ihren Auswirkungen auf die Produktangaben und das Nutzen-Risiko-Verhältnis und können unter anderem Kundenbeschwerden oder das Bekanntwerden von Daten aus Publikationen, externen Qualitätsbewertungsprogrammen und anderen Registern umfassen.</p>
<p><b>Zusammenfassung der analytischen Leistung</b></p>	<p><b>Leerwertgrenze</b></p> <p>Die Leerwertgrenze (Limit of Blank, LoB) wurde gemäß dem Dokument CLSI/NCCLS EP17-A2 anhand von 30 Vollblutproben gesunder Spender mit dem JAK2-Status Wildtyp (WT) unter Verwendung von drei Reagenzienchargen (120 Messungen pro Charge) bestimmt.</p>

#### Zusammenfassung der LoB-Ergebnisse

	Gemessene LoB	Endgültige Leerwertgrenze
Charge 1	0 %	
Charge 2	0 %	0 %
Charge 3	0 %	

Dies entspricht dem bei Verwendung des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit in einer normalen Population erwarteten Wert.

#### Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD; auch analytische Sensitivität) wurde mithilfe des im Dokument CLSI/NCCLS EP17-A2 beschriebenen „Probit“-Ansatzes bestimmt. In dieser Studie wurden 6 niedrige Mutationsniveaus anhand von 3 unabhängigen Proben (mit MPN-Vollblut-DNA versetzte Wildtyp[WT]-Vollblut-DNA) mit 3 Chargen in 60 Messungen je Probe und Mutation analysiert. Die erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass die analytische Sensitivität bei 0,042 % JAK2 V617F-Mutation liegt.

#### Zusammenfassung der LoD-Ergebnisse

	Gemessene LoD	Endgültige Nachweisgrenze
Charge 1	0,041 %	
Charge 2	0,029 %	0,042 %
Charge 3	0,042 %	

### Quantifizierungsgrenze

Definition und Bestimmung der Quantifizierungsgrenze (Limit of Quantification, LoQ) basierten auf der Richtlinie CLSI/NCCLS EP17-A2. Die LoQ war definiert als der niedrigste prozentuale Anteil der JAK2 V617F-Mutation, der mit einem Konfidenzintervall von 95 % ( $\alpha$ -Risiko = 0,05) zuverlässig von der LoD des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit unterschieden werden kann. Daten aus der monozentrischen Studie zur Wiederholpräzision wurden verwendet, um die LoQ des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit zu berechnen. Die erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass die LoQ bei 0,233 % JAK2 V617F-Mutation liegt.

Im Kontext der molekularen Krankheitsüberwachung bedeutet dies, dass eine Verringerung der JAK2 V617F-Allellast zum nächsten Zeitpunkt nicht zuverlässig quantifiziert werden kann, wenn der gemessene Prozentanteil der JAK2 V617F-Mutation zu einem bestimmten Zeitpunkt unter 0,233 % liegt.

### Linearität

Die Linearität der Quantifizierung der JAK2-Mutation bei MPN-Patienten wurde gemäß dem Dokument CLSI/NCCLS EP06AE mit einer Charge des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit und anhand von Tests mit elf Mutationsniveaus für fünf verschiedene DNA-Eingabemengen bewertet. Die Quantifizierung der JAK2-Mutationslast in MPN-Proben ist linear, was bedeutet, dass mit dem *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit Proben mit einem Mutationsanteil ab LoD-Wert bis 100 % quantifiziert werden können. Dies entspricht den erwarteten Werten in der betroffenen Population, solange die quantifizierte Probenkonzentration nahe bei 10 ng/ $\mu$ l liegt (zwischen 5 und 20 ng/ $\mu$ l).

## Wiederholpräzision und Reproduzierbarkeit

Das Design der monozentrischen Präzisionsstudie entspricht den Anforderungen des Dokuments CLSI/NCCLS EP5-A3. Die Tests wurden mit elf Mutationsniveaus von 0,07 % bis 72,67 % durchgeführt, wobei serielle Verdünnungen der klinischen Probe eines MPN-Patienten verwendet wurden. Für jedes Mutationsniveau wurden von drei Bedienern über 27 Tage 108 Messungen (zwei Replikate pro Lauf und zwei Läufe pro Tag) unter Verwendung von drei Chargen des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit und drei Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Geräten durchgeführt. Die Präzision bei einem prozentualen Anteil der Mutation von 100 % wird durch den Vergleich mit der Präzision ausgedrückt, die für einen Anteil von 72,67 % ermittelt wurde. Die Basis bildeten Trendanalysen, die durch zusätzliche Daten unterstützt wurden, die anhand einer Probe mit 100 % JAK2 V617F-Anteil, bestehend aus DNA der Zelllinie MUTZ-8, gewonnen wurden (38 Messungen).

### Ergebnisse zur Präzision: Wiederholpräzision (monozentrische Studie)

Probe	Mittlerer Prozentanteil der JAK2-Mutation	SD <sub>w</sub>	SD <sub>LAUF++</sub>	SD <sub>GESAMT++</sub>	CV <sub>GESAMT</sub>
S0	100	n. b.	n. b.	≤ 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: Standardabweichung

R+: Wiederholpräzision.

RUN++: Präzision zwischen Läufen.

GESAMT+++: Gesamtpräzision (über verschiedene Geräte, Bediener und Chargen hinweg).

CV<sub>GESAMT</sub>: Variationskoeffizient für die Gesamtpräzision in Prozent.

n. b.: nicht bestimmt.

Das Design der Inter-Labor-Präzisionsstudie entspricht den Anforderungen des Dokuments CLSI/NCCLS EP5-A3. An der Studie waren vier Standorte (in Frankreich, in Deutschland und zwei in den USA) beteiligt. Die Tests wurden mit sieben Mutationsniveaus von 1,21 % bis 67,64 % durchgeführt, wobei Verdünnungen der Zelllinie MUTZ-8 in Vollblut von gesunden Spendern (d. h. künstliche Proben) verwendet wurden. An jedem Standort wurden drei DNA-Extraktionsläufen mit dem QIASymphony SP Gerät und einer einzigen Charge des QIASymphony DSP DNA Mini Kit durchgeführt. Jeder DNA-Extrakt wurde in acht qPCR-Läufen (zwei Läufe pro Tag und pro Standort an vier nicht aufeinander folgenden Tagen) mit einer einzigen Charge des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit getestet, sodass an allen Standorten 96 Messungen je Probe zu erwarten waren.

Die L2-Probe war bei einem Extraktionslauf ungültig, sodass eine Gesamtzahl von 88 statt 96 qPCR-Tests resultierte. Außerdem war ein qPCR-Lauf ungültig und führte zu drei ungültigen Tests bei allen Proben (ausgenommen L2, d. h. 2 ungültige Ergebnisse). Des Weiteren war die L7-Probe bei einem und die L4-Probe bei zwei qPCR-Läufen ungültig, was zwei zusätzliche ungültige Tests ergab.

Die Präzision bei einem prozentualen Anteil der Mutation von 100 % wird durch den Vergleich mit der Präzision ausgedrückt, die für einen Anteil von 67,64 % ermittelt wurde. Die Basis bildeten Trendanalysen, die durch zusätzliche Daten unterstützt wurden, die anhand einer Probe mit 100 % JAK2 V617F-Anteil, bestehend aus DNA der Zelllinie MUTZ-8, gewonnen wurden (38 Messungen).

**Ergebnisse zur Präzision: Reproduzierbarkeit (Inter-Labor-Studie)**

Pro-be	Gesam-tzahl der Tests	Gesam-tzahl der ungülti-gen Tests	JAK2%MT Mittelwert	Intra-Lauf, SD, % VK	Inter-Lauf, an einem Tag, SD, % VK	Inter-Tag, SD, % VK	Inter-Standort, SD, % VK	Insgesamt, SD, % VK
I0	n. z.	n. z.	100	n. z.	n. z.	n. z.	n. z.	≤ 4,074; ≤ 6,02
I1	96	3	67,64	2,616; 3,87	2,060; 3,05	1,999; 2,96	1,530; 2,26	4,074; 6,02
I2	88	2	40,03	3,482; 8,70	1,011; 2,53	2,389; 5,97	0,986; 2,46	4,387; 10,96
I3	96	3	22,26	3,318; 14,90	1,256; 5,64	1,257; 5,64	0,803; 3,61	3,807; 17,10
I4	96	5	8,02	1,770; 22,06	0,516; 6,44	0,000; 0,00	0,000; 0,00	1,841; 22,95
I5	96	3	4,35	0,706; 6,23	0,547; 12,57	0,000; 0,00	0,197; 4,53	0,906; 20,82
I6	96	3	2,03	0,246; 12,15	0,365; 18,00	0,063; 3,11	0,000; 0,00	0,441; 21,76
I7	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:** prozentualer JAK2-Mutationsanteil; **SD:** Standardabweichung; **VK:** Variationskoeffizient in Prozent; **n. z.:** nicht zutreffend.

Eine weitere Inter-Labor-Studie wurde an drei Teststandorten (einer in Europa und zwei in den USA) an vier Vollblutproben von MPN-Patienten (d. h. klinischen Proben) durchgeführt. An jedem Standort wurden drei DNA-Extraktionen vorgenommen. Jeder

DNA-Extrakt wurde in 12 qPCR-Läufen (ein Replikat je Lauf und Probe, zwei Läufe je Bediener an jedem Standort, wobei zwei Bediener je Standort beteiligt waren, an drei nicht aufeinander folgenden Tagen) auf einem Rotor-Gene Q MDx Gerät unter Verwendung einer einzigen Charge des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit getestet. Für jede Probe wurden 36 Messungen durchgeführt.

#### Ergebnisse einer weiteren Inter-Labor-Studie

Probe	N	JAK2%MT Mittelwert	Intra-Lauf-, SD, % VK	Inter-Lauf-, an einem Tag, SD, % VK	Inter-Tag-, SD, % VK	Inter-Standort-, SD, % VK	Insgesamt, SD, % VK
Probe 1	36	95,19	0,995; 1,04	0,000; 0,00	0,541; 0,57	0,000; 0,00	1,130; 1,19
Probe 2	36	22,83	3,988; 17,47	0,000; 0,00	1,707; 7,48	1,552; 6,80	4,501; 19,72
Probe 3	36	14,44	2,257; 15,63	1,398; 9,68	0,000; 0,00	1,422; 9,84	2,890; 20,01
Probe 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 Mittelwert:** prozentualer JAK2-Mutationsanteil; **N:** Anzahl der Messungen, **SD:** Standardabweichung; **VK:** Variationskoeffizient in Prozent.

#### Störsubstanzen

Das Studiendesign entspricht den Anforderungen des Dokuments NCCLS EP7-A3 „Interference Testing in Clinical Chemistry“. Insgesamt 19 Substanzen, die in Blutproben vorliegen können, wurden wegen ihrer möglichen Auswirkungen auf die PCR ausgewählt (Busulfan, Citalopramhydrobromid, Paroxetinhydrochlorid-Hemihydrat, Sertralinhydrochlorid, Fluoxetinhydrochlorid, Acetaminophen [Paracetamol], Bilirubin unkonjugiert, Kalium-2K-EDTA und -3K-EDTA, Natrium-EDTA, Hämoglobin [human], Triglyceride,

Lisinopril-Dihydrat, Hydroxyharnstoff, Acetylsalicylsäure, Salicylsäure, Thiotepa, Anagrelid, Interferon alpha-2b).

Die beim DNA-Extraktionsprozess verwendeten Substanzen wurden ebenfalls beurteilt (QSL1, QSB1, QSW1, QSW2 und PK aus dem QIA Symphony DSP DNA Blood Mini Kit; QIAGEN Protease, Ethanol, AW1 und AW2 aus dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit).

Die Ergebnisse belegen, dass von diesen Substanzen keine störenden Effekte ausgehen.

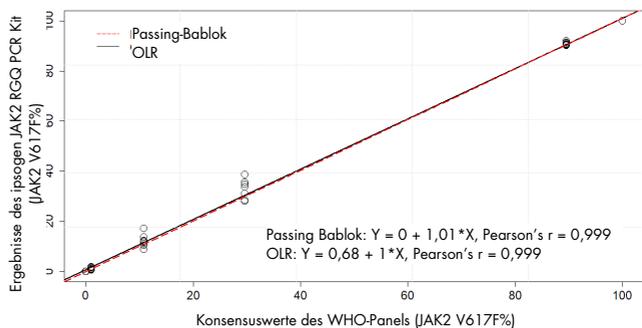
#### Störsubstanzen

Getestete Substanz	Getestete Konzentration
Unkonjugiertes Bilirubin	150,3 µg/ml
Hämoglobin [human]	2000 µg/ml
Triglyceride	30.000 µg/ml
Busulfan	38,4 µg/ml
Citalopramhydrobromid	0,75 µg/ml
Paroxetinhydrochlorid-Hemihydrat	1,14 µg/ml
Sertralinhydrochlorid	0,67 µg/ml
Fluoxetinhydrochlorid	3,87 µg/ml
Acetaminophen [Paracetamol]	200,7 µg/ml
Lisinopril-Dihydrat	0,33 µg/ml
Hydroxycarbamid	28,2 µg/ml
Acetylsalicylsäure	651,6 µg/ml

Getestete Substanz	Getestete Konzentration
Salicylsäure	0,6 µg/ml
Thiotepa	48 µg/ml
Anagrelid	6 µg/ml

Interferon alpha-2b*	1,8 ME/l
Kalium-EDTA (2K-EDTA)	2x (3600 µg/ml)
Kalium-EDTA (3K-EDTA)**	1x (1800 µg/ml), 3x (5400 µg/ml)
Natrium-EDTA (2Na-EDTA)**	1x (3000 µg/ml), 3x (9000 µg/ml)
QSL1	2 % des gesamten Probenvolumens
QSB1	2 % des gesamten Probenvolumens
QSW1	2 % des gesamten Probenvolumens
QSW2	2 % des gesamten Probenvolumens
Proteinase K (PK) <sup>†</sup>	2 % des gesamten Probenvolumens
Proteinase K (PK) <sup>†</sup>	2x das erwartete Restvolumen nach dem Extraktionsprozess 3x das erwartete Restvolumen nach dem Extraktionsprozess
QIAGEN Protease	1,29E-05 % des gesamten Probenvolumens
Ethanol (EtOH)	1, 29E-03 % des gesamten Probenvolumens
Buffer AW1	1,00 E-01% des gesamten Probenvolumens
Buffer AW2	1,00% des gesamten Probenvolumens
<p>* Die empfohlene Dosis für PV-Patienten beträgt 3 MU. Angenommen wird eine Verteilung in 5 l Blut (Person mit 80 kg Körpergewicht), was zu einer Konzentration von 0,6 MU/l führt. Gemäß den Empfehlungen des Dokuments NCCLS EP7-A2 wurde das Dreifache dieser Konzentration getestet, d. h. 1,8 MU/l.</p> <p>** 1x Konzentration laut Anbieter.</p> <p><sup>†</sup> PK hat eine störende Wirkung, wenn die Konzentration beim Test 2 % des gesamten Probenvolumens beträgt (unwahrscheinlich). Weitere Tests bestätigten, dass PK während des Extraktionsprozesses entfernt wird, weshalb unter normalen Einsatzbedingungen keine Störung zu erwarten ist.</p>	
<p><b>Test des internationalen Referenzpanels der WHO für die genomische JAK2 V617F-Mutation (NIBSC, Panel-Code 16/120)</b></p> <p>Das vom National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) entwickelte erste internationale WHO-Referenzpanel für die genomische JAK2 V617F-Mutation</p>	

(Panel-Code 16/120) wurde unter Verwendung von drei Chargen des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit getestet (drei Replikate je Konzentration des Referenzpanels und je Reagenziencharge). Die Experimente wurden an drei Tagen von einem Bediener mit einem Rotor-Gene Q 5plex HRM Gerät durchgeführt. Die Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit und den in der Gebrauchsanweisung des Referenzpanels aufgeführten Konsensuswerten wurde anhand einer gewöhnlichen linearen Regression (Steigung: 1,003; 95%-KI [0,997; 1,010] – Achsenabschnitt: 0,677; 95%-KI [0,212 ; 1,289]) und einer Passing-Bablok-Regression (Steigung: 1,01; 95%-KI [1,00 ; 1,021] – Achsenabschnitt: 0,00; 95%-KI [-0,02 ; 0,010]) beurteilt. Die Übereinstimmung wurde bestätigt, was die Eignung des Kits zur Gewinnung von JAK2 V617F-Daten belegt, welche mit Daten, die durch andere allgemein verwendete Diagnoseverfahren gewonnen wurden, übereinstimmen.



**Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit und den Konsensuswerten des internationalen Referenzpanels der WHO für die genomische JAK2 V617F-Mutation (NIBSC, Panel-Code 16/120)**

Die Übereinstimmung wurde anhand einer gewöhnlichen linearen Regression (OLR) und einer Passing-Bablok-Regression überprüft.

Das Panel umfasst sieben JAK2 V617F-Niveaus: 100 %, 89,5 %, 29,6 %, 10,8 %, 1,00 %, 0,03 % und 0 %. Die WHO-Konsensuswerte wurden unter Verwendung einer Reihe allgemein verwendeter Verfahren im Rahmen einer internationalen Kooperationsstudie bestimmt. Die den einzelnen JAK2 V617F-Niveaus zugeordneten Referenzwerte sind Medianwerte (weitere Informationen unter <https://www.nibsc.org>).

### **Richtigkeit und Genauigkeit**

Die Richtigkeit einer Messung steht in umgekehrtem Verhältnis zur systematischen Messabweichung (SE oder Bias). Die systematische Messabweichung wurde anhand von Daten aus der oben beschriebenen Studie gemäß der Richtlinie NCCLS EP09c für jedes JAK2 V617F-Niveau des Referenzpanels, für jede Reagenziencharge sowie für alle Reagenzienchargen zusammen berechnet. Die höchsten Werte für die systematische Messabweichung wurden mit der Charge 2 des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit erhalten.

Die Genauigkeit ist der Grad der Übereinstimmung zwischen einem Testergebnis und dem akzeptierten Referenzwert (in diesem Fall der Wert, der den einzelnen JAK2 V617F-Niveaus des WHO-Panels zugeordnet ist). Die Genauigkeit berücksichtigt sowohl die Richtigkeit als auch die Präzision und ist umgekehrt proportional zum Gesamtfehler, der wie in der nachstehenden Tabelle dargestellt berechnet wird.

Systematische Messabweichung und Messfehler				
WHO-Panel <i>Ampullen-Code</i> Referenzwert	<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit Charge	Systematische Messabwe- ichung (SE)  Nach Charge <i>[95%-KI]</i>	Systematische Messabwe- ichung (SE)  Insgesamt <i>[95%-KI]</i>	Gesamtfehler (Genauigkeit)
15/172  0 %	1	0,000 n. z.	0,001	0,010
	2	0,003 [-0,011; 0,018]	[-0,001 ; 0,004]	
	3	0,000 n. z.		
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. z.		
	3		-0,013 [-0,028; 0,001]		
<p>SE: Systematische Messabweichung oder Bias, d. h. die Differenz zwischen dem Durchschnitt der einzelnen mit dem <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (<math>\bar{V}_{\text{JAK2 Kit}}</math>) erhaltenen Messergebnisse und dem Konsensuswert des WHO-Referenzpanels (<math>V_{\text{Ref}}</math>).</p> $SE (\%) = \frac{\bar{V}_{\text{JAK2 Kit}} - V_{\text{Ref}}}{V_{\text{Ref}}} \times 100$ <p>Der Gesamtfehler (Total Error, TE) wird berechnet als <math>TE = \sqrt{s^2 + SE^2}</math>, wobei <math>s</math> die Standardabweichung (Zufallsfehler) ist.</p> <p>95%-KI: 95%-Konfidenzintervall.</p> <p>n. z.: nicht zutreffend.</p>					

### Analytische Genauigkeit

Ziel dieser Studie war die Validierung der analytischen Genauigkeit des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit unter normalen Einsatzbedingungen mit klinischen Proben von Personen, bei denen der Verdacht auf myeloproliferative Neoplasien besteht. Diese Studie wurde mit gDNA-Proben durchgeführt, die aus insgesamt 473 Proben extrahiert wurden: 276 mit Verdacht auf PV, 98 mit ET und 99 mit PMF. Der mit dem *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit ermittelte JAK2 V617F-Status der Patientenproben wurde mit dem anhand der Referenzmethode zur Bestimmung des JAK2-Status, d. h. einer unabhängig validierten bidirektionalen Sequenzierung (BDS), ermittelten JAK2 V617F-Status verglichen. Da die LoD des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit bei 0,042 % JAK2 V617F liegt, ist der JAK2 V617F-Status einer mit dem *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit getesteten Patientenprobe über oder an diesem Grenzwert positiv und unter diesem Grenzwert negativ. Von den 473 Proben waren 22 Proben im Test mit dem *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit JAK2-positiv, laut BDS aber negativ.

Die Gesamtübereinstimmung betrug 95,35 % (451/473 Teilnehmern; 95%-KI: 93,04 %; 97,06 %). Die positive Übereinstimmung betrug 100 % (165/165 Teilnehmern; 95%-KI: 97,79 %; 100 %) und die negative Übereinstimmung 92,86 % (286/308 Teilnehmern; 95%-KI: 89,39 %; 95,47 %). Die Ergebnisse sind nachstehend aufgeführt.

Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit und der bidirektionalen Sanger-Sequenzierung in einer MPN-Population (kombinierte ET-, PMF- und PV-Populationen)

	Bidirektionale Sanger-Sequenzierung		
	JAK2 V617F-positiv	JAK2 V617F-negativ	Insgesamt
<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit			
JAK2 V617F-positiv	165	22	187
JAK2 V617F-negativ	0	286	286
<b>Insgesamt</b>	<b>165</b>	<b>308</b>	<b>473</b>

### Beurteilung der Studienergebnisse zur analytischen Genauigkeit bei MPN-Kohorten

Die Übereinstimmungswerte zwischen den Ergebnissen für die JAK2 V617F-Mutation, die mit dem *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit und mit der Sequenzierung nach Sanger (BDS) bei Patienten mit ET, PMF und PV erzielt wurden, werden jeweils separat angegeben:

- Für ET betrug die Gesamtübereinstimmung 89,8 % (88/98 Teilnehmern; 95%-KI: 82,03–95,0 %), die positive Übereinstimmung 100 % (43/43 Teilnehmern; 95%-KI: 91,78–100 %) und die negative Übereinstimmung 81,82 % (45/55 Teilnehmern; 95%-KI: 69,1–90,92 %).
- Für PMF betrug die Gesamtübereinstimmung 93,94 % (93/99 Teilnehmern; 95%-KI: 87,27–97,74 %), die positive Übereinstimmung 100 % (51/51 Teilnehmern; 95%-KI: 93,02–100 %) und die negative Übereinstimmung 87,5 % (42/48 Teilnehmern; 95%-KI: 74,75–95,27 %).

- Für PV betrug die Gesamtübereinstimmung 97,83 % (270/276 Teilnehmern; 95%-KI: 95,33–99,2 %), die positive Übereinstimmung 100 % (71/71 Teilnehmern; 95%-KI: 94,94–100 %) und die negative Übereinstimmung 97,07 % (199/205 Teilnehmern; 95%-KI: 93,74–98,92 %).

Die Proben, die nicht übereinstimmende Ergebnisse lieferten, wiesen offenbar Mutationsanteile auf, die unter dem BDS-Nachweisvermögen lagen (etwa 10 %). Da die Sanger-Sequenzierung weniger sensitiv ist als das *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, mit dem Werte bis 0,042 % JAK2 V617F (d. h. dem LoD-Wert) ausgegeben werden können, wurde eine weitere separate Studie durchgeführt. Dabei wurde eine validierte Next-Generation-Sequencing(NGS)-Methode eingesetzt, um das JAK2 V617F-Allel in den 15/22 nicht übereinstimmenden Proben (neun ET, fünf PMF und eine PV) sowie in einem zufällig ausgewählten Satz aus 22 JAK2 V617F-positiven und -negativen übereinstimmenden Proben nachzuweisen. Der JAK2 V617F-Status der Patientenproben wurde mit der NGS-Methode entsprechend dem Grenzwert ihrer analytischen Sensitivität (d. h. zwischen 1 % und 2 % JAK2 V617F) bestimmt. Daher war der JAK2 V617F-Status einer Patientenprobe positiv, wenn die JAK2 V617F-Mutation mit der NGS-Methode nachgewiesen wurde, und umgekehrt war der JAK2 V617F-Status negativ, wenn die JAK2 V617F-Mutation nicht nachgewiesen wurde.

Alle 15 nicht übereinstimmenden Proben wurden mittels NGS positiv getestet, was mit den mithilfe des *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit erhaltenen Ergebnissen übereinstimmte. Alle übereinstimmenden Proben lieferten bei der NGS das gleiche, mit dem *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit und der BDS übereinstimmende Ergebnis. Die 7 anderen Proben wurden als nicht übereinstimmend betrachtet, da für diese Proben keine

	<p>NGS-Daten verfügbar sind. Schlussfolgerung aus der Studie zur analytischen Genauigkeit.</p> <p>Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit hatte eine Genauigkeit von 98,3 % beim Nachweis des JAK2 V617F-Allels in Proben von Patienten mit JAK2 V617F-Niveaus <math>\geq 0,042</math> % (d. h. dem LoD-Wert).</p>
<p><b>Zusammenfassung zu den klinischen Leistungsmerkmalen</b></p>	<p>Die Sensitivität lag bei 94,64 % (95%-KI; 85,13 %, 98,88 %), was darauf hindeutet, dass sich mit dem <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit im Kontext der WHO-Diagnosekriterien bei der überwiegenden Mehrheit der an PV Erkrankten die Krankheit nachweisen lassen sollte.</p> <p>Die Spezifität der PV-Diagnose bei Verwendung des <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit im Kontext der WHO-Diagnosekriterien betrug 95,62 % (95%-KI; 91,19 %, 98,22 %), was außerdem darauf hindeutet, dass bei der großen Mehrheit der Personen ohne PV eine PV ausgeschlossen werden kann.</p> <p>Die Verwendung des <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit im Kontext der WHO-Diagnosekriterien ergab einen PPV von 88,33 % (95%-KI; 77,27 %, 93,57 %)* und einen NPV von 98,08 % (95%-KI; 94,8 %, 99,4 %).</p> <p>Der Wahrscheinlichkeitsquotient eines negativen Tests bei Verwendung des <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit für die PV-Diagnose im Kontext der WHO-Diagnosekriterien betrug 21,61 (95%-KI; 10,44, 44,71), was darauf hinweist, dass das Ergebnis „JAK2 V617F-positiv“ bei Personen mit PV wahrscheinlicher ist als bei Personen ohne PV.</p>

\* Der PPV ist abhängig von der Prävalenz. Da die Prävalenz in der Studienpopulation niedrig war und Sensitivität und Spezifität unabhängig von der Prävalenz sind, sind Sensitivität und Spezifität relevanter.

	<p>Der Wahrscheinlichkeitsquotient eines positiven Tests bei Verwendung des <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit für die PV-Diagnose im Kontext der WHO-Diagnosekriterien betrug 0,06 (95%-KI; 0,02, 0,18), was darauf hinweist, dass das Ergebnis „JAK2 V617F-negativ“ bei Personen mit PV deutlich weniger wahrscheinlich ist als bei Personen ohne PV.</p>
<p><b>Messtechnische Rückverfolgbarkeit</b></p>	
<p><b>Messtechnische Rückverfolgbarkeit der zugewiesenen Werte</b></p>	<p>Die messtechnische Rückverfolgbarkeit der Werte, die Kalibratoren und Kontrollmaterialien zugewiesen wurden, einschließlich Angabe von verwendeten Referenzmaterialien und/oder Referenzmessverfahren höherer Ordnung sowie von Informationen hinsichtlich der maximalen (zulässigen) Variation von Charge zu Charge mit relevanten Abbildungen und Maßeinheiten.</p> <p>Das erste internationale Referenzpanel der WHO für die genomische JAK2 V617F-Mutation (NIBSC, Panel-Code 16/120) wurde 2016 durch das Expert Committee on Biological Standardization der Weltgesundheitsorganisation (WHO) etabliert (siehe WHO-Dokument WHO/BS/2016.2293).</p> <p>Das Panel besteht aus sieben gefriergetrockneten humanen genomischen DNA-Materialien, die durch Kombination von genomischer DNA aus JAK2-Wildtyp- und JAK2 V617F-Zelllinien erstellt wurden. Es stellt Standards mit einer Reihe klinisch relevanter JAK2 V617F-Niveaus, ausgedrückt als prozentualer Anteil an JAK2 insgesamt von 0 % bis 100 %, bereit. Siehe <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> und Sanzone AP et al. (2016) <i>Collaborative study to evaluate the proposed WHO 1st International Reference Panel for Genomic JAK2 V617F</i>.</p>

	<p>Weder dieses Panel noch Kalibratoren mit zugewiesenen Werten (abgeleitet von diesem Standardmaterial) sind im <i>ipsogen®</i> JAK2 RGQ PCR Kit enthalten. Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit enthält zwar Kontrollmaterialien, aber diese wurden nicht vom WHO-Referenzmaterial abgeleitet. Aus diesem Grund ist kein Bericht zur messtechnischen Rückverfolgbarkeit verfügbar.</p> <p>Die Übereinstimmung der Ergebnisse des <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit mit den Konsensuswerten des Panels wurde jedoch beurteilt und bestätigt:</p> <p>Diese Studie ist in der <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit <i>Gebrauchsanweisung (Handbuch)</i> beschrieben.</p>
<p><b>Vorgeschlagenes Profil und Schulung der Anwender</b></p>	
<p><b>Anwenderprofil</b></p>	<p>Das <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit ist zur Anwendung im professionellen Bereich vorgesehen. Das Produkt darf nur von Personen verwendet werden, die für die Anwendung molekularbiologischer Verfahren und das hier beschriebene System speziell eingewiesen und geschult wurden. Das Produktverfahren ist in einer molekularbiologischen Laborumgebung durchzuführen.</p>
<p><b>Anwenderschulung</b></p>	<p>Das Produkt darf nur von Personen verwendet werden, die für die Anwendung molekularbiologischer Verfahren und das hier beschriebene System speziell eingewiesen und geschult wurden. Das Produktverfahren ist in einer molekularbiologischen Laborumgebung durchzuführen.</p>

## Risiken und Warnhinweise

### Restrisiken und unerwünschte Wirkungen

Die relevanten Restrisiken wurden identifiziert und werden dem Anwender in Form von Warnhinweisen und Vorsichtsmaßnahmen in der *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit Gebrauchsanweisung mitgeteilt:

- Kontaminationsgefahr  
Siehe Abschnitte „qPCR auf dem Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Instrument mit einem Rotor für 72 Röhrchen“ und „Vorsichtsmaßnahmen“ in der Gebrauchsanweisung.
  - Äußerste Vorsicht ist geboten, um eine Kontamination durch die Verschleppung von DNA oder PCR-Produkten zu verhindern, die zu einem falsch positiven Signal führen kann.
  - Verwenden Sie für alle Pipettierschritte frische, aerosolbeständig Pipettenspitzen, um eine Kreuzkontamination von Proben und Reagenzien zu verhindern.
  - Wechseln Sie unbedingt nach jedem Röhrchen die Spitze, um eine Kontamination der nicht-spezifischen Templates oder des Reaktionsgemisches zu verhindern, die zu falsch positiven Ergebnissen führen kann. Beginnen Sie mit der Zugabe der Testproben und geben Sie dann die Standards und die Kontrollen hinzu.
  - Gehen Sie mit äußerster Vorsicht vor, um eine Kontamination der Gemische mit den synthetischen Materialien zu vermeiden, die in den Reagenzien der JAK2-MT- und JAK2-WT-Quantifizierungsstandards enthalten sind, und den Reagenzien der JAK2-Mutationskontrolle und der JAK2-WT-Kontrolle.

	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Risiko des Verfalls von Kit-Reagenzien mit der Folge eines fehlgeschlagenen qPCR-Laufs Siehe Abschnitt „qPCR auf dem Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Instrument mit einem Rotor für 72 Röhrrchen“ &gt; „Verfahren“ &gt; „Einrichten des qPCR-Experiments“ in der Gebrauchsanweisung. Wichtig: Begrenzen Sie die Auftauzeit auf 30 Minuten, um eine Zersetzung des Materials zu verhindern.</li> <li>● Risiko einer falschen Röhrrchenpositionierung im Rotor mit der Folge abweichender Ergebnisse Siehe Abschnitt „Probenverarbeitung auf Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Instrument mit einem Rotor für 72 Röhrrchen“ in der Gebrauchsanweisung. Wichtig: Die Röhrrchen müssen wie in Abbildung 6 der <i>ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit Gebrauchsanweisung</i> dargestellt in den Rotor eingesetzt werden, da die im Assay-Profil festgelegte automatisierte Analyse auf dieser Anordnung beruht. Wenn eine andere Anordnung verwendet wird, werden falsche Ergebnisse erhalten.</li> </ul>
<p><b>Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen</b></p>	<p>Bitte beachten Sie, dass Sie ggf. verpflichtet sind, Ihre lokalen Vorschriften zur Meldung schwerwiegender Vorkommnisse, die im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, an den Hersteller und/oder seinen Bevollmächtigten und die Regulierungsbehörde, welcher der Anwender und/oder der Patient unterliegt, zu konsultieren.</p> <p><b>Sicherheitshinweise</b></p> <p>Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien stets einen geeigneten Laborkittel, Einweghandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen finden Sie in den jeweiligen Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS).</p>

In unserer Online-Sammlung der Sicherheitsdatenblätter unter [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) finden Sie zu jedem QIAGEN Kit und zu jeder Kit-Komponente das jeweilige SDS als praktische und kompakte PDF-Datei, die Sie einsehen und ausdrucken können.

- Die Proben sind potenziell infektiös. Proben- und Assay-Abfälle sind gemäß den örtlichen Sicherheitsbestimmungen zu entsorgen.

**VORSICHT**



Es dürfen KEINE Bleichlösungen oder sauren Lösungen direkt zum Proben- oder Vorbereitungsabfall gegeben werden.

### Informationen für Notfälle

- CHEMTREC  
Außerhalb der USA und Kanadas +1 703 527 3887

### Vorsichtsmaßnahmen

- Die Durchführung von qPCR-Tests setzt eine gute Laborpraxis voraus. Dazu gehört die Wartung der Ausrüstung, die ausschließlich für molekularbiologische Anwendungen zu verwenden ist und die Anforderungen aller geltenden Vorschriften und relevanten Normen erfüllt.
- Dieses Kit ist für den Gebrauch als In-vitro-Diagnostikum vorgesehen. Die Reagenzien und Anweisungen in diesem Kit wurden für optimale Leistung validiert.

	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Der Test ist für die Verwendung mit Vollblutproben vorgesehen, die mit Kalium-EDTA (K<sub>2</sub>-EDTA) antikoaguliert und bis zur DNA-Extraktion maximal 96 Stunden bei 2–8 °C aufbewahrt wurden.</li> <li>● Alle chemischen und biologischen Materialien sind potenziell gefährlich. Die Proben sind potenziell infektiös und müssen als biologische Gefahrenstoffe behandelt werden.</li> <li>● Proben- und Assay-Abfälle sind gemäß den örtlichen Sicherheitsbestimmungen zu entsorgen.</li> <li>● Die Reagenzien des <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit liegen in optimalen Verdünnungen vor. Die Reagenzien dürfen nicht weiter verdünnt werden, da dies zu einer Leistungsbeeinträchtigung führen kann.</li> <li>● Eine Verwendung von Reaktionsvolumen (Reaktionsgemisch plus Probe) unter 25 µl wird nicht empfohlen.</li> <li>● Alle im <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit enthaltenen Reagenzien sind <u>ausschließlich für die Verwendung mit den anderen Reagenzien aus demselben Kit vorgesehen</u>. Die Reagenzien aus einem Kit dürfen nicht durch die gleichen Reagenzien eines anderen <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit ersetzt werden, selbst wenn sie aus der gleichen Charge stammen, da dies die Leistung beeinträchtigen kann.</li> <li>● Weitere Warnhinweise, Vorsichtsmaßnahmen und Verfahrensweisen finden Sie im <i>Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Benutzerhandbuch</i>, dem <i>Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application Benutzerhandbuch</i>, dem <i>Gamma Plug-In Benutzerhandbuch</i> und dem Benutzerhandbuch zum QIASymphony SP Gerät. Benutzerhandbuch.</li> </ul>
--	---

- Die Veränderung der Inkubationszeiten und -temperaturen kann zu falschen oder nicht übereinstimmenden Daten führen.
- Abgelaufene oder falsch gelagerte Komponenten dürfen nicht verwendet werden.
- Die Reaktionsgemische können sich durch Lichteinwirkung verändern.
- Gehen Sie mit äußerster Vorsicht vor, um eine Kontamination der Gemische mit den synthetischen Materialien zu vermeiden, die in den Reagenzien der JAK2-MT- und JAK2-WT-Quantifizierungsstandards enthalten sind, und den Reagenzien der JAK2-Mutationskontrolle und der JAK2-WT-Kontrolle.
- Äußerste Vorsicht ist geboten, um eine Kontamination durch die Verschleppung von DNA oder PCR-Produkten zu verhindern, die zu einem falsch positiven Signal führen kann.
- Äußerste Vorsicht ist geboten, um eine Kontamination mit DNase zu vermeiden, welche zu einer Zersetzung der Template-DNA führen kann.
- Verwenden Sie für die Herstellung der Reaktionsgemische und die Zugabe der Templates separate Pipetten, die ausschließlich für den jeweiligen Vorgang vorgesehen sind.
- Warten Sie das Ende des Laufs ab, bevor Sie das Rotor-Gene Q MDx Gerät öffnen.
- Die Rotor-Gene Q Röhrchen dürfen nach dem Lauf nicht geöffnet werden.
- Ergreifen Sie Vorsichtsmaßnahmen, um sicherzustellen, dass die Proben korrekt analysiert werden. Achten Sie diesbezüglich besonders auf ein falsches Einsetzen der Proben, Beladungsfehler und Pipettierfehler.

- Achten Sie darauf, dass die Proben auf systematische Weise behandelt werden, um zur Gewährleistung der Rückverfolgbarkeit jederzeit eine korrekte Identifizierung zu ermöglichen.

Wir empfehlen daher Folgendes:

- Bei der Durchführung des Assays müssen nukleasefreie Laborgeräte (z. B. Pipetten, Pipettenspitzen, Reaktionsgefäße) verwendet und Handschuhe getragen werden.
- Verwenden Sie für alle Pipettierschritte frische, aerosolbeständig Pipettenspitzen, um eine Kreuzkontamination von Proben und Reagenzien zu verhindern.
- Setzen Sie den Prä-PCR-Master-Mix mit speziellen Materialien (Pipetten, Spitzen usw.) in einem separaten Bereich an, in dem keine DNA-Matrizen (DNA, Plasmid oder PCR-Produkte) gehandhabt werden. Führen Sie die Zugabe von Template in einer gesonderten Zone (vorzugsweise in einem separaten Raum) mit speziellen Materialien (Pipetten, Spitzen usw.) durch.
- Fehlerbehebungs- und Sicherheitshinweise zu den Extraktions-Kits QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (Kat.-Nr. 61104) und QIASymphony DNA DSP Mini Kit (Kat.-Nr. 937236) finden Sie in der entsprechenden Gebrauchsanweisung.
- Informationen zur Fehlerbehebung bei der Software Rotor-Gene AssayManager v2.1 finden Sie im *Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application Benutzerhandbuch*.

Schlagen Sie außerdem in den entsprechenden Abschnitten der *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit Gebrauchsanweisung* nach für:

- Abschnitt „Lagerung und Handhabung der Reagenzien“:  
„Wiederholtes Auftauen und Einfrieren ist zu vermeiden. Es dürfen maximal fünf Einfrier-/Auftauzyklen durchgeführt werden.“
- Abschnitt „Automatisierte Extraktion von genomischer DNA mit dem QIASymphony DSP DNA Mini Kit“:  
„Wenn die Reagenzienkartusche nur teilweise verbraucht ist, versiegeln Sie sie mit den beiliegenden Versiegelungsstreifen zur Wiederverwendung und verschließen die Proteinase-K-Röhrchen sofort nach Abschluss des Protokolllaufs mit den Schraubverschlüssen, um Verdampfung zu vermeiden.“
- „Grenzen des Assays“
  - Das Kit ist zur Anwendung im professionellen Bereich vorgesehen.
  - Das Produkt darf nur von Personen verwendet werden, die für die Anwendung molekularbiologischer Verfahren und das hier beschriebene System speziell eingewiesen und geschult wurden. Das Produktverfahren ist in einer molekularbiologischen Laborumgebung durchzuführen.
  - Das *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* ist kein automatisiertes Produkt; die Analyse wird jedoch durch eine spezielle Software zur automatischen Quantifizierung von Mutationen unterstützt.

- Dieses Kit ist unter Beachtung der in der *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* Gebrauchsanweisung enthaltenen Anweisungen und in Kombination mit einem der unter den erforderlichen, aber nicht im Lieferumfang enthaltenen Materialien angegebenen validierten Geräte zu verwenden.
- Die auf den Packungsetiketten aufgedruckten Verfallsdaten müssen unbedingt beachtet werden. Komponenten mit abgelaufenem Verfallsdatum dürfen nicht verwendet werden.
- Alle im *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* enthaltenen Reagenzien sind ausschließlich für die Verwendung mit den anderen Reagenzien aus demselben Kit vorgesehen. Die Nichtbeachtung dieser Richtlinie kann die Leistung beeinträchtigen.
- Das *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* ist ausschließlich für humanes peripheres Vollblut, das Patienten mit vermuteter oder diagnostizierter MPN entnommen und mit 2K-EDTA antikoaguliert wurde, validiert.
- Das *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* ist ausschließlich für den Gebrauch mit dem QIAasymphony DNA DSP Mini Kit (Kat.-Nr. 937236) oder dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (Kat.-Nr. 61104) validiert.
- Das *ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* ist ausschließlich für den Gebrauch mit dem Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Gerät (für die PCR) und dem QIAasymphony SP Gerät (für die Probenvorbereitung) validiert.
- Eine Verwendung dieses Produkts für einen anderen als den vorgesehenen Zweck und/oder eine Modifikation der Komponenten führt zum Erlöschen der Haftung von QIAGEN.

- Alle diagnostischen Ergebnisse müssen in Verbindung mit weiteren klinisch-pathologischen Befunden interpretiert werden. Die Abwesenheit der JAK2 V617F/G1849T-Mutation schließt das Vorliegen anderer JAK2-Mutationen nicht aus. Im Fall von zusätzlichen Mutationen der Nukleotide 88504 bis 88622 kann der Test falsch negative Ergebnisse ausgeben.
- Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, für jedes Verfahren, das im Labor des Anwenders durchgeführt wird und das nicht durch die Leistungsstudien von QIAGEN abgedeckt ist, die Systemleistung selbst zu validieren.
- „Leistungsmerkmale, Störsubstanzen“
  - Das Studiendesign entspricht den Anforderungen des Dokuments NCCLS EP7-A3 „Interference Testing in Clinical Chemistry“. Insgesamt 19 Substanzen, die in Blutproben vorliegen können, wurden wegen ihrer möglichen Auswirkungen auf die PCR ausgewählt (Busulfan, Citalopramhydrobromid, Paroxetinhydrochlorid-Hemihydrat, Sertralinhydrochlorid, Fluoxetinhydrochlorid, Acetaminophen [Paracetamol], Bilirubin unkonjugiert, Kalium-2K-EDTA und -3K-EDTA, Natrium-EDTA, Hämoglobin [human], Triglyceride, Lisinopril-Dihydrat, Hydroxyharnstoff, Acetylsalicylsäure, Salicylsäure, Thiotepa, Anagrelid, Interferon alpha-2b).

- Die beim DNA-Extraktionsprozess verwendeten Substanzen wurden ebenfalls beurteilt (QSL1, QSB1, QSW1, QSW2 und PK aus dem QIAAsymphony DSP DNA Blood Mini Kit; QIAGEN Protease, Ethanol, AW1 und AW2 aus dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit).
- Die Ergebnisse belegen, dass von diesen Substanzen keine störenden Effekte ausgehen.

- „Hilfe zur Fehlerbehebung“

Die Hilfe zur Fehlerbehebung kann Sie bei der Lösung von Problemen unterstützen, die in folgenden Teilen des Workflows auftreten können:

- Probenverarbeitungsfehler
- Fehler bei der DNA-Konzentration
- Probe ist ungünstig aufgrund niedriger Konzentration
- Anwenderfehler beim *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit
- Kein oder schwaches Signal für Probe und Kontrollen
- Fehler bei der Bedienung des RGQ

Für technische Hinweise und zusätzliche Informationen wenden Sie sich an unser technisches Support-Center unter [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) (für Kontaktinformationen besuchen Sie [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).