

Résumé de la sécurité et des performances de l'*ipsogen*[®] JAK2 RGQ PCR Kit



Version 2



Pour utilisation diagnostique in vitro

Pour utilisation avec l'appareil Rotor-Gene[®] Q MDx 5plex HRM

Pour l'utilisation avec l'*ipsogen*[®] JAK2 RGQ PCR Kit



0197



674623



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALLEMAGNE



1124396FR

Résumé de la sécurité et des performances

Identification du dispositif et informations générales	
Nom ou nom de produit, y compris tout numéro de modèle ou version	<i>ipsogen</i> [®] JAK2 RGQ PCR Kit
Fabricant (nom et adresse)	QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1 Hilden 40724 Allemagne
Identification de l'appareil unique de base (UDI-DI)	4053228RJAK2RGQ00000001RJ
Numéro d'enregistrement unique (Single Registration Number, SRN) du fabricant, si disponible	DE-MF-000004949
Nomenclature du dispositif médical	W01060299 Tests de gène acquis ou d'altération des chromosomes

Classe du dispositif	Classe C
Année de commercialisation du dispositif sur le marché de l'UE	L' <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (Numéro de référence 673623, version 1), valide selon la directive de l'UE IVD 98/79/CE et la décision de la Commission 2010/227/UE (IVDD), a été commercialisé sur le marché de l'UE en 2014.
Représentant agréé, le cas échéant	Sans objet
Organisme notifié et le numéro d'identification unique (Single Identification Number, SIN)	TUV Rheinland ; numéro de l'organisme notifié 0197
Objectif visé du dispositif	
Objectif visé	L' <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit est un dosage PCR quantitatif in vitro permettant de détecter et de quantifier la mutation JAK2 V617F/G1849T à partir d'ADN génomique extrait de sang total périphérique humain anticoagulé avec 2K-EDTA. Les résultats obtenus avec l' <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit sont prévus pour compléter l'évaluation d'un néoplasme myéloprolifératif (Myeloproliferative Neoplasm, NMP) sans chromosome Philadelphie (Ph) suspecté et surveiller la pathologie moléculaire chez les patients atteints de NMP. Tous les résultats de diagnostic générés doivent être interprétés en tenant compte d'autres résultats pathologiques cliniques.

<p>Indications et populations cibles</p>	<p>L'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit est prévu pour l'examen de patients avec un néoplasme myéloprolifératif (NMP) sans chromosome Philadelphie (Ph) suspecté et surveiller la pathologie moléculaire chez les patients atteints de NMP.</p>
<p>Contre-indications et/ou limites</p>	<p>Ce kit est réservé à un usage professionnel.</p> <p>Le produit est destiné à être utilisé uniquement par les professionnels ayant reçu les instructions et la formation spécialement liées aux techniques de biologie moléculaires et étant familiarisé avec la technologie de l'appareil. La procédure de l'appareil doit être exécutée dans un environnement de laboratoire de biologie moléculaire.</p> <p>Le <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit est conçu pour être utilisé uniquement avec l'instrument QIAGEN Rotor-Gene® Q MDx 5plex HRM et d'autres composants de flux de travail validés, comme décrit dans le mode d'emploi. L'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit n'est pas un dispositif automatisé. Cependant, l'analyse est assistée par un logiciel spécial pour la quantification des mutations automatique.</p> <p>L'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit doit être utilisé selon les instructions fournies dans son mode d'emploi.</p> <p>Il est important de respecter les dates de péremption imprimées sur l'étiquette de la boîte et les étiquettes des tubes. Ne pas utiliser de composants périmés.</p> <p>Tous les réactifs fournis dans l'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit sont destinés à être utilisés uniquement avec les autres réactifs fournis dans le même kit. Le non-respect de cette consigne risque d'affecter les performances.</p>

L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit est validé uniquement pour du sang total périphérique humain anti-coagulé avec du 2K-EDTA et collecté sur des patients présentant une suspicion ou un diagnostic de NMP.

L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit n'a été validé que pour une utilisation avec le QIAAsymphony DNA DSP Mini Kit (N° de réf. 937236) ou le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (N° de réf. 61104).

L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit n'a été validé que pour une utilisation avec les instruments Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (pour la PCR) et QIAAsymphony SP (pour la préparation des échantillons).

Toute utilisation non conforme de ce produit et/ou modification quelconque de l'un de ses composants décharge QIAGEN de toute responsabilité.

Tous les résultats de diagnostic générés doivent être interprétés en tenant compte d'autres résultats pathologiques cliniques. L'absence de la mutation JAK2 V617F/G1849T n'exclut pas la présence d'autres mutations JAK2. Le test peut produire des résultats faux négatifs en cas de mutations additionnelles sur les nucléotides 88504 à 88622.

L'utilisateur est responsable de la validation des performances du système pour toutes les procédures utilisées dans son laboratoire qui ne sont pas couvertes par les études de performances de QIAGEN.

Description du dispositif

Description du dispositif

a) Description générale du dispositif, y compris son objectif visé et ses utilisateurs prévus

L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit est un dosage PCR quantitatif in vitro permettant de détecter et de quantifier la mutation JAK2 V617F/G1849T à partir d'ADN génomique extrait de sang total périphérique humain anticoagulé avec 2K-EDTA.

Les résultats obtenus avec l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit sont prévus pour compléter l'évaluation d'un néoplasme myéloprolifératif (Myeloproliferative Neoplasm, NMP) sans chromosome Philadelphie (Ph) suspecté et surveiller la pathologie moléculaire chez les patients atteints de NMP. Tous les résultats de diagnostic générés doivent être interprétés en tenant compte d'autres résultats pathologiques cliniques.

Ce kit est réservé à un usage professionnel.

Le produit est destiné à être utilisé uniquement par les professionnels ayant reçu les instructions et la formation spécialement liées aux techniques de biologie moléculaires et étant familiarisé avec la technologie de l'appareil. La procédure de l'appareil doit être exécutée dans un environnement de laboratoire de biologie moléculaire.

b) Description du principe de la méthode de dosage ou principes de fonctionnement de l'instrument.

L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit exploite le principe d'hydrolyse des oligonucléotides par qPCR associé à une technique d'ARMS (Amplification Refractory Mutation System), qui est une méthode simple pour détecter toute mutation impliquant la modification d'une seule base

(également nommée polymorphisme mononucléotidique (Single Nucleotide Polymorphism, SNP)). L'amplification en chaîne par polymérase utilise des amorces initialement sens et antisens qui sont hybridées à une séquence d'ADN spécifique ou une séquence cible pour l'amplifier. La technique ARMS se base sur l'utilisation d'amorces PCR spécifiques à la séquence permettant l'amplification de l'ADN du test uniquement quand l'allèle cible est contenu dans l'échantillon. Le principe d'hydrolyse des oligonucléotide par qPCR est basé sur un oligonucléotide lié à un marqueur (également nommé sonde) contenu dans le mélange de qPCR. Cette sonde, constituée d'un oligonucléotide marqué à l'aide d'un colorant rapporteur 5' et d'un quencher 3' non marqué en aval, s'hybride à une séquence cible à l'intérieur du produit de la PCR. L'analyse qPCR par sondes d'hydrolyse exploite l'activité exonucléase 5'→3' de l'ADN polymérase *Thermus aquaticus* (*Taq*). Quand la sonde est intacte, la proximité du colorant rapporteur et du quencher entraîne la suppression de la fluorescence du reporter par transfert d'énergie de type Förster. Durant la PCR, si la cible d'intérêt est présente, les amorces sens et anti-sens se fixent spécifiquement et cernent la sonde. L'activité exonucléase 5'→3' de l'ADN polymérase clive la sonde entre le reporter et le quencher, entraînant une émission de fluorescence du reporter. Ce processus intervient à chaque cycle et n'interfère pas avec l'accumulation exponentielle du produit. Ainsi, l'augmentation de la fluorescence est directement proportionnelle à l'amplification de la cible durant la PCR. Dans la qPCR, le nombre de cycles de PCR nécessaire à la détection d'un signal au-dessus du seuil, appelé le point de croisement (Crossing Point, CP) ou cycle seuil (Cycle threshold, CT), est directement proportionnel à la quantité de cible présente au début de la réaction.

c) Principe de qualification du produit comme un dispositif et classe de risque du dispositif (extrait du document de stratégie réglementaire).

L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit est un kit de réactifs conçu pour être utilisé en combinaison avec un instrument de real-time PCR (instrument QIAGEN Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM) pour l'analyse d'échantillons tirés du corps humain afin de fournir des informations sur un processus ou un état pathologique (en complément de l'évaluation et de la surveillance de la réponse moléculaire de PH(-) NMP). Le produit est donc conforme à la définition d'un IVDMD comme indiqué dans l'IVDR. La mutation JAK2 V617F fait partie de l'algorithme de diagnostic et peut être un biomarqueur de suivi des néoplasmes myéloprolifératifs (NMP) qui sont la maladie de Vaquez (MV), la myélofibrose primaire (MPF) et la thrombocythémie essentielle (TE). La classe de risque du produit est donc C selon l'ICDR.

d) Description des composants du dispositif.

L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit contient les composants suivants :

Référence produit	Nom du composant/description	Quantité par kit en nombre de tubes (volume)
1073859	Mélange réactionnel JAK2 MT Oligonucléotides pour la détection de l'allèle MT (mutant) et le contrôle interne, tampon PCR, MgCl ₂ , dNTP <i>Le contrôle d'amplification interne inclus dans les mélanges réactionnels est utilisé pour surveiller l'inhibition de la qPCR et pour exclure un échec de la réaction de PCR en cas de résultats négatifs.</i>	1 (1010 µl)
1073856	Mélange réactionnel JAK2 MT Oligonucléotides pour la détection de l'allèle WT (type sauvage) et le contrôle interne, tampon PCR, MgCl ₂ , dNTP <i>Le contrôle d'amplification interne inclus dans les mélanges réactionnels est utilisé pour surveiller l'inhibition de la qPCR et pour exclure un échec de la réaction de PCR en cas de résultats négatifs.</i>	1 (1010 µl)
1073892	Taq DNA polymerase (Taq ADN polymérase) (HotStarTaq® 5 unités/µl)	1 (85 µl)
1073865	Contrôle JAK2 WT, 100 % allèle sauvage (ADN de lignées cellulaires portant 100 % allèle type sauvage, contrôle d'amplification)	1 (33 µl)
1073862	Contrôle JAK2 mutant, 100 % allèle V617F (ADN de lignées cellulaires portant 100 % allèle V617F, contrôle d'amplification)	1 (33 µl)

Suite du tableau page suivante

Suite du tableau de la page précédente

Référence produit	Nom du composant/description	Quantité par kit en nombre de tubes (volume)
1095204.1 à .4 (standards quant. JAK2 WT : QS1 à QS4)	Standard quant. 1 JAK2 WT, 5 x 10 ¹ copies de type sauvage/5 µl	1 (20 µl)
	Standard quant. 2 JAK2 WT, 5 x 10 ² copies de type sauvage/5 µl	1 (20 µl)
	Standard quant. 3 JAK2 WT, 5 x 10 ³ copies de type sauvage/5 µl	1 (20 µl)
	Standard quant. 4 JAK2 WT, 5 x 10 ⁴ copies de type sauvage/5 µl	1 (20 µl)
1095205.1 à .4 (standards quant. JAK2 MT : QS1 à QS4)	Standard quant. 1 JAK2 MT, 5 x 10 ¹ copies V617F/5 µl	1 (20 µl)
	Standard quant. 2 JAK2 MT, 5 x 10 ² copies V617F/5 µl	1 (20 µl)
	Standard quant. 3 JAK2 MT, 5 x 10 ³ copies V617F/5 µl	1 (20 µl)
	Standard quant. 4 JAK2 MT, 5 x 10 ⁴ copies V617F/5 µl	1 (20 µl)
1067627	Eau pour NTC (eau sans nucléase)	1 (1,9 ml)
1073894	TE (Tris EDTA) buffer for sample dilution (Tampon TE pour dilution de l'échantillon)	1 (1,9 ml)

Les standards quant. JAK2 MT (QS1 à QS4) sont des dilutions en série de plasmide portant la séquence d'allèles V617F.

Les standards quant. JAK2 WT (QS1 à QS4) sont des dilutions en série de plasmide portant la séquence d'allèles WT.

e) La description du matériel de prélèvement des échantillons et de transport fourni avec le dispositif.

Aucun matériel de prélèvement des échantillons ou de transport n'est fourni avec le dispositif.

f) Pour les instruments de dosage automatiques : la description des caractéristiques de dosage appropriées ou des dosages dédiés.

L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit n'est pas un dosage automatique. Cependant, l'analyse est assistée par une suite logicielle dédiée.

g) Pour les dosages automatiques : une description des caractéristiques des instruments appropriées ou des instruments dédiés.

L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit n'est pas un dosage automatique. Cependant, l'analyse est assistée par une suite logicielle dédiée.

h) Une description de tout logiciel à utiliser avec le dispositif.

L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit est conçu pour être utilisé uniquement avec l'instrument QIAGEN Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM et d'autres composants de flux de travail validés, comme décrit dans le mode d'emploi. L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit n'est pas un dispositif automatisé. Cependant, l'analyse est assistée par un logiciel dédié : le logiciel Rotor-Gene AssayManager® version 2.1.x ($x \geq 0$), avec le Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in version 1.0.x ($x \geq 0$) et le profil du dosage *ipsogen* _JAK2_blood_CE_IVDR (AP_ *ipsogen* _JAK2_blood_CE_IVDR_V2_0_x.iap ($x \geq 1$)).

i) Une description ou liste complète des diverses configurations ou variantes du dispositif devant être disponible sur le marché ;

Actuellement, aucune variante de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (674623) ne devrait être commercialisée dans l'Union européenne.

j) Une description des accessoires du ou des dispositif(s) et des autres produits qui ne sont pas des dispositifs, conçus pour être utilisés en combinaison avec le dispositif.

Il n'existe actuellement aucun accessoire pour l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. Ce kit est un ensemble de réactifs prêt à l'emploi.

Les utilisateurs de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit devront fournir l'équipement suivant et le matériel nécessaire, mais non fourni avec le kit pour exécuter le flux de travail complet :

- Consommables et réactifs pour l'extraction manuelle de l'ADN
 - QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit (N° de réf. 61104)
 - Éthanol (96-100 %)
Remarque : ne pas utiliser d'alcool dénaturé, qui contient d'autres substances, telles que le méthanol ou la méthyléthylcétone.
- Consommables et réactifs pour l'extraction automatisée de l'ADN
 - QIASymphony DSP DNA Mini Kit (N° de réf. 937236)
 - Sample Prep Cartridges, 8-well (N° de réf. 997002)
 - 8-Rod Covers (N° de réf. 997004)
 - Filter-Tips, 1500 µl (N° de réf. 997024)
 - Filter-Tips, 200 µl, (N° de réf. 990332)
 - Elution Microtubes CL (N° de réf. 19588)
 - Tip disposal bags (N° de réf. 9013395)
 - Micro tubes 2.0 ml Type H (Sarstedt®, N° de réf. 72.694, www.sarstedt.com)
- Consommables et réactifs pour PCR
 - Pointes de pipette pour PCR avec filtre hydrophobe, stériles, exemptes de nucléase et aérosol-résistantes
 - Tubes de PCR sans nucléase de 1,5 ml ou 2,0 ml
 - Strip Tubes and Caps, 0.1 ml pour l'instrument Rotor-Gene Q (N° de réf. 981103 ou 981106)
 - Glace

	<ul style="list-style-type: none"> ● Équipement <ul style="list-style-type: none"> ○ Pipettes réglables* spécialement conçues pour la PCR (1-10 µl ; 10-100 µl ; 100-000 µl) ○ Gants jetables ○ Agitateur Vortex ○ Bloc chauffant pour la lyse des échantillons à 56 °C ○ Centrifugeuse de paillasse* avec rotor pour tubes de réaction de 0,5/1,5/2,0 ml (capable d'atteindre 13 000 à 14 000 tr/min) ○ Spectrophotomètre* ● Équipement pour préparation des échantillons <ul style="list-style-type: none"> ○ Instrument QIASymphony SP* (N° de réf. 9001297), version logicielle 4.0 ou supérieure, accessoires fournis et protocole Blood_200_V7_DSP (ou version ultérieure) ○ Tube Insert 3B (insert, 2,0 ml v2, portoir d'échantillons) (24), Qsym, N° de réf. 9242083) ● Équipement pour real-time PCR <ul style="list-style-type: none"> ○ Instrument de real-time PCR* : Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform (N° de réf. 9002032) ou Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System (n° réf. 9002033) et accessoires fournis ○ Logiciel Rotor-Gene AssayManager® version 2.1.x (x ≥ 0) installé ○ Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in version 1.0.x (x ≥ 0) installé ○ Assay profile ipsogen _JAK2_blood_CE_IVDR importé (AP_ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_2_x.iap (x≥1))
--	---

* Avant utilisation, s'assurer que les instruments ont été vérifiés et calibrés conformément aux recommandations du fabricant.

Référence aux générations précédentes ou aux variants du dispositif (le cas échéant) et description des différences

L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (Numéro de référence 673623, version 1), valide selon la directive de l'UE IVD 98/79/CE et la décision de la Commission 2010/227/UE (IVDD), a été commercialisé sur le marché de l'UE en 2014.

L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (Numéro de référence 674623) est une version 2 ayant subi un programme pour assurer la conformité à la réglementation relative aux dispositifs de diagnostic in vitro UE/2017/746 (IVDR).

Pour les kits 673623 et 674623, les composants du kit sont identiques et les deux kits sont techniquement identiques, avec une analyse assistée par un logiciel pour la quantification automatique des mutations. Un profil de dosage dédié à l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, numéro de référence 674623, a été généré sur la base de la version existante dédiée à l'*ipsogen*® JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE, numéro de référence 673623.

Par rapport aux instructions d'utilisation de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (24) CE (Numéro de référence 673623), les instructions d'utilisation de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit (Numéro de référence 674623) comportent les améliorations ci-après afin de se conformer aux exigences IVDR :

- Utilisation prévue et Utilisateurs prévus détaillés et spécifiés
- Les protocoles ont été réorganisés et complétés par des instructions et illustrations supplémentaires afin d'améliorer la compréhension.
- Les déclarations relatives à la stabilité et la stabilité en cours d'utilisation de l'ADN génomique ont été mises à jour

	<ul style="list-style-type: none"> ● Les caractéristiques de performances ont été mises à jour et complétées par des données supplémentaires (analytiques et cliniques) ● Une référence aux ressources du résumé de la sécurité et des performances a été ajoutée <p>Les symboles ont été actualisés et complétés par des étiquettes supplémentaires.</p>
<p>Description des accessoires conçus pour être utilisés en combinaison avec le dispositif (le cas échéant)</p>	<p>Sans objet.</p>
<p>Description des autres dispositifs et produits conçus pour être utilisés en combinaison avec le dispositif (le cas échéant)</p>	<p>Il n'existe actuellement aucun accessoire pour l'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit. Ce kit est un ensemble de réactifs prêt à l'emploi.</p> <p>Les utilisateurs de l'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit devront fournir l'équipement suivant et le matériel nécessaire, mais non fourni avec le kit pour exécuter le flux de travail complet :</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Consommables et réactifs pour l'extraction manuelle de l'ADN <ul style="list-style-type: none"> ○ QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (N° de réf. 61104) ○ Éthanol (96-100 %) <p>Remarque : ne pas utiliser d'alcool dénaturé, qui contient d'autres substances, telles que le méthanol ou la méthyléthylcétone.</p>

	<ul style="list-style-type: none"> ● Consommables et réactifs pour l'extraction automatisée de l'ADN <ul style="list-style-type: none"> ○ QIA Symphony DSP DNA Mini Kit (N° de réf. 937236) ○ Sample Prep Cartridges, 8-well (N° de réf. 997002) ○ 8-Rod Covers (N° de réf. 997004) ○ Filter-Tips, 1500 µl (N° de réf. 997024) ○ Filter-Tips, 200 µl, (N° de réf. 990332) ○ Elution Microtubes CL (N° de réf. 19588) ○ Tip disposal bags (N° de réf. 9013395) ○ Microtubes 2,0 ml type H (Sarstedt, N° de réf. 72.694, www.sarstedt.com) ● Consommables et réactifs pour PCR <ul style="list-style-type: none"> ○ Pointes de pipette pour PCR avec filtre hydrophobe, stériles, exemptes de nucléase et aérosol-résistantes ○ Tubes de PCR sans nucléase de 1,5 ml ou 2,0 ml ○ Strip Tubes and Caps, 0.1 ml pour l'instrument Rotor-Gene Q (N° de réf. 981103 ou 981106) ○ Glace ● Équipement <ul style="list-style-type: none"> ○ Pipettes réglables* spécialement conçues pour la PCR (1-10 µl ; 10-100 µl ; 100-1000 µl) ○ Gants jetables ○ Agitateur Vortex ○ Bloc chauffant pour la lyse des échantillons à 56 °C ○ Centrifugeuse de paillasse* avec rotor pour tubes de réaction de 0,5/1,5/2,0 ml (capable d'atteindre 13 000 à 14 000 tr/min) ○ Spectrophotomètre*
--	--

* Avant utilisation, s'assurer que les instruments ont été vérifiés et calibrés conformément aux recommandations du fabricant.

- Équipement pour préparation des échantillons
 - Instrument QIAAsymphony SP* (N° de réf. 9001297), version logicielle 4.0 ou supérieure, accessoires fournis et protocole Blood_200_V7_DSP (ou version ultérieure)
 - Tube Insert 3B (insert, 2,0 ml v2, portoir d'échantillons) (24), Qsym, N° de réf. 9242083)

- Équipement pour real-time PCR
 - Instrument de Real-time PCR* : Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM Platform (n° réf. 9002032) ou Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM System (N° de réf. 9002033) et accessoires fournis
 - Logiciel Rotor-Gene AssayManager version 2.1.x ($x \geq 0$) installé
 - Rotor-Gene AssayManager Gamma Plug-in version 1.0.x ($x \geq 0$) installé
 - Profil du dosage ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR importé (AP_ipsogen_JAK2_blood_CE_IVDR_V2_2_x.iap ($x \geq 1$))

* Avant utilisation, s'assurer que les instruments ont été vérifiés et calibrés conformément aux recommandations du fabricant.

Référence des normes

Normes harmonisées et spécifications communes (SC) appliquées

Il n'existe pas de normes harmonisées sous IVDR. Le tableau ci-dessous présente les normes utilisées pour le développement de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit.

Nom de la norme	Titre de la norme
EN ISO 13485:2016	Dispositifs médicaux – Systèmes de gestion de la qualité – Exigences réglementaires (ISO 13485:2016)
EN ISO 14971:2019	Dispositifs médicaux – Application de la gestion des risques aux dispositifs médicaux
EN ISO 15223-1:2016	Dispositifs médicaux – Symboles à utiliser avec les étiquettes, l'étiquetage et les informations à fournir relatifs aux dispositifs médicaux – Partie 1 : exigences générales
EN ISO 18113-1:2011	Dispositifs médicaux de diagnostic in vitro – Informations fournies par le fabricant (étiquetage) – Partie 1 : Termes, définitions et exigences générales
EN ISO 18113-2:2011	Dispositifs médicaux de diagnostic in vitro – Informations fournies par le fabricant (étiquetage) – Partie 2 : Réactifs de diagnostic in vitro pour l'usage professionnel.
EN ISO 23640:2015	Dispositifs médicaux de diagnostic in vitro – Évaluation de la stabilité des réactifs de diagnostic in vitro (ISO 23640:2011)
EN 62304:2006	Logiciels de dispositifs médicaux – Processus du cycle de vie du logiciel (CEI 62304:2006)
EN 62366:2008	Dispositifs médicaux – Application de l'ingénierie de l'aptitude à l'utilisation aux dispositifs médicaux (CEI 62366:2007)

Résumé de l'évaluation des performances et suivi des performances post-commercialisation

Résumé de l'évaluation des performances et suivi des performances post-commercialisation

L'évaluation des performances vérifie la validité scientifique, la performance analytique et, le cas échéant, la performance clinique de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit pour permettre un processus structuré et transparent qui génère des données fiables et des études solides.

L'évaluation de la validité scientifique était basée sur un examen de la littérature systématique, l'évaluation des données disponibles/récupérées/nouvelles pertinentes pour l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit et son objectif prévu et un consensus d'opinions/positions d'experts des directives internationales. Les données présentées ici démontrent la validité scientifique de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit pour son utilisation prévue.

Les performances analytiques ont été démontrées d'après les examens atteignant les indicateurs de performance requis : limite du blanc (Limit of Blank, LoB), limite de détection (Limit of Detection, LoD) et limite de quantification (Limit of quantification, LoQ), précision (répétabilité et reproductibilité), linéarité, substances interférentes, contamination croisée, précision de la PCR et test du panel JAK2 de l'OMS 16/120 (concordance, véracité et précision), plage de mesure, stabilité/manipulation des échantillons, critères d'acceptation pour la quantification de l'ADN, comparaison de l'extraction manuelle et automatique, vérification de la capacité d'utilisation, utilisation d'échantillons artificiels et vérification du profil du dosage. L'évaluation de ces sources a démontré que la performance analytique de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit convient à son utilisation prévue et assure une utilisation sûre pour l'objectif visé, l'utilisateur et la population de patients.

Les performances cliniques ont été démontrées sur la base d'un examen systématique de la littérature, d'études des performances cliniques démontrant des indicateurs des performances cliniques pour la précision/concordance : VPP, VPN, sensibilité du diagnostic, spécificité, taux de probabilité avec les données de l'étude des performances cliniques ainsi qu'OPA et PPA avec l'étude de précision analytique et les données de l'étude des performances cliniques. L'expérience tirée des tests de diagnostic de routine a également été évaluée. L'évaluation de ces sources a démontré que les performances cliniques de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit conviennent à son utilisation prévue et assure une utilisation sûre de l'utilisation prévue, l'utilisateur et la population de patients.

Le système d'évaluation post-commercialisation a pour objectif de confirmer la sécurité, les performances et la validité scientifique de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit tout au long de sa durée de vie prévue, afin d'assurer l'acceptabilité continue du rapport bénéfice/risque et de détecter les risques émergents sur la base de preuves factuelles, ainsi que de déterminer, d'appliquer et d'évaluer toute action préventive et correctrice.

Le suivi des performances post-commercialisation a pour objectif de confirmer la sécurité, les performances et la validité scientifique de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit tout au long de la durée de vie prévue du dispositif, afin d'assurer l'acceptabilité constante du rapport bénéfice/risque et de détecter les risques émergents sur la base de preuves factuelles.

L'objectif est de vérifier la sécurité clinique et les performances sur la durée de vie attendue, d'identifier les risques inconnus auparavant ou les limites des performances et les contre-indications, d'identifier et

d'analyser les risques émergents sur la base des preuves factuelles, d'assurer l'acceptabilité constante des preuves cliniques et le rapport bénéfice/risque, et d'identifier les abus systématiques possibles, les données de suivi des performances post-commercialisation suivantes seront collectées.

L'expérience clinique acquise en matière de tendance sera tirée des données générées par les études post-commercialisation (financées par l'entreprise ou initiées par l'investigateur), les registres de patients Real World Data and Evidence (RWD/RWE), le cas échéant.

Les retours des utilisateurs (professionnels de santé, leaders d'opinion cliniques et professionnels de laboratoire), des distributeurs et des importateurs issus des études, ainsi que les données publiées sur les perspectives des utilisateurs, les ventes et la formation.

Évaluation de la littérature scientifique après une recherche du dispositif et des dispositifs semblables et équivalents dans la littérature, nouvelles directives techniques ou médicales.

Informations sur les enregistrements techniques ou spécialisés, les registres, les rapports de cas examinés et évalués par QIAGEN.

Études épidémiologiques comme des études observationnelles post-commercialisation pour collecter des informations sur la performance du dispositif.

Le suivi des performances post-commercialisation sera mis à jour chaque année pour intégrer les nouveaux résultats et données, les études post-commercialisation, les références aux normes harmonisées

	<p>sur les caractéristiques standard consultées ainsi que les consignes de suivi des performances post-commercialisation pertinentes.</p> <p>Les résultats pré-spécifiés peuvent déclencher des tâches et des activités supplémentaires. Les déclencheurs pré-spécifiés pour les activités de suivi des performances post-commercialisation sont basés sur leur impact sur les demandes relatives au produit et le bénéfice/risque et peuvent inclure les plaintes des clients, l'émergence des données des publications, les programmes d'évaluation de la qualité externe, ainsi que d'autres registres.</p>												
<p>Résumé des performances analytiques</p>	<p>Limite du blanc</p> <p>La limite du blanc (LoB) a été déterminée d'après la norme CLSI/NCCLS EP17-A2 sur 30 échantillons de sang total sains, ayant un statut (WT) JAK2 de type sauvage, avec trois lots de réactifs (120 mesures/lot).</p> <p>Résumé des résultats pour la LoB</p> <table border="1" data-bbox="291 957 1019 1109"> <thead> <tr> <th></th> <th>LoB mesurée</th> <th>Limite du blanc finale</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Lot 1</td> <td>0 %</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Lot 2</td> <td>0 %</td> <td>0 %</td> </tr> <tr> <td>Lot 3</td> <td>0 %</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>Cela correspond à la valeur attendue dans une population normale avec le <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit.</p>		LoB mesurée	Limite du blanc finale	Lot 1	0 %		Lot 2	0 %	0 %	Lot 3	0 %	
	LoB mesurée	Limite du blanc finale											
Lot 1	0 %												
Lot 2	0 %	0 %											
Lot 3	0 %												

Limite de détection

La limite de détection (LoD ou sensibilité analytique) a été déterminée à partir de la « méthode probit » décrite dans la norme CLSI/NCCLS EP17-A2. Dans cette étude, 6 niveaux faibles de mutation ont été analysés pour 3 échantillons indépendants (ADN de sang total présentant le NMP inoculé dans de l'ADN de sang total de type sauvage [Wild-type, WT]), à raison de 3 lots et 60 mesures par échantillon et par mutation. Les résultats obtenus indiquaient une sensibilité analytique de 0,042 % pour la mutation JAK2 V617F.

Résumé des résultats pour la LoD

	LoD mesurée	Limite de détection finale
Lot 1	0,041%	
Lot 2	0,029%	0,042%
Lot 3	0,042%	

Limite de quantification

La définition de la limite de quantification (Limit of quantification, LoQ) et la détermination se basent sur la directive CLSI/NCCLS EP17-A2. La LoQ a été définie comme le pourcentage de mutation JAK2 V617F le plus bas pouvant être distingué avec précision de la LoD du *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit avec un intervalle de confiance de 95 % (risque $\alpha = 0,05$). Les données de l'étude de répétabilité sur un seul site ont été utilisées pour calculer la LoQ du *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. Les résultats obtenus indiquent que la LoQ est de 0,233 % pour la mutation JAK2 V617F.

Dans le contexte du suivi de la pathologie moléculaire, cela implique que si le pourcentage de mutation JAK2 V617F mesuré est inférieur à 0,233 % à un moment donné, une réduction de l'incidence de l'allèle JAK2 V617F ne peut pas être quantifiée de manière fiable au moment suivant.

Linéarité

La linéarité de la quantification de la mutation JAK2 chez des patients atteints de NMP a été évaluée conformément à la norme CLSI/NCCLS EPO6AE, avec un lot du *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit et en testant 11 niveaux de mutation pour cinq entrées d'ADN différentes. La quantification de la charge mutationnelle JAK2 dans les échantillons de NMP est linéaire, c.-à-d. que l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit est capable de quantifier des échantillons de la valeur de la LoD jusqu'à 100 %, ce qui correspond aux valeurs attendues dans la population concernée, pourvu que la concentration de l'échantillon quantifié soit proche de 10 ng/ μ l (entre 5 et 20 ng/ μ l).

Répétabilité et reproductibilité

La conception de l'étude de précision sur un seul site répond aux exigences de la norme CLSI/NCCLS EP5-A3. Le test a été effectué sur 11 niveaux de mutation, de 0,07 % à 72,67 % avec des dilutions en série d'un échantillon clinique d'un patient atteint de NMP. Pour chaque niveau de mutation, 108 mesures ont été obtenues par trois opérateurs sur 27 jours (deux réplicats par cycle et deux cycles par jour) avec trois lots d'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit et trois instruments Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM. La précision pour le niveau de 100 % est exprimée par comparaison avec la précision déterminée pour le niveau 72,67 %, sur la base d'analyses des tendances étayées par les données supplémentaires obtenues avec un échantillon JAK2 V617F à 100 % constitué d'ADN de la lignée cellulaire MUTZ-8 (38 mesures).

Résultats de l'étude de précision : répétabilité (étude sur un seul site)

Échantillon	Pourcentage moyen de la mutation JAK2	É.-T. _{R+}	É.-T. _{RUN++}	É.-T. _{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%

É-T : Écart-type

R+ : répétabilité.

RUN++ : précision entre les cycles.

TOTAL+++ : précision totale (dont la précision interappareils, interopérateurs et interlots).

CV_{TOTAL} : coefficient de variation de la précision totale en pourcentage.

ND : non déterminé

La conception de l'étude de précision interlaboratoires répond aux exigences de la norme EP5-A3 CLSI/NCCLS. L'étude incluait quatre sites (France, Allemagne et deux sites aux États-Unis). Le test a été effectué sur sept niveaux de mutation, de 1,21 % à 67,64 %, avec des dilutions de la lignée cellulaire MUTZ-8 dans le sang total de donneurs sains (c.-à-d. échantillons artificiels). Chaque site a effectué trois cycles d'extraction de l'ADN avec l'instrument QIASymphony SP et un lot unique du QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Chaque extrait d'ADN a été testé dans huit cycles de qPCR (deux cycles par jour et par site sur quatre jours non consécutifs) avec un lot unique de *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, donnant 96 mesures attendues par échantillon sur tous les sites.

L'échantillon L2 était non valide dans un cycle d'extraction, donnant un nombre total de 88 tests de qPCR au lieu de 96. De plus, un cycle de qPCR n'était pas valide, donnant trois tests non valides pour tous les échantillons (sauf L2, c.-à-d. 2 résultats non valides). En outre, les échantillons L7 n'étaient pas valides dans un cycle qPCR et L4 n'était pas valide dans deux cycles de qPCR, donnant deux tests non valides supplémentaires.

La précision pour le niveau de 100 % est exprimée par comparaison avec la précision déterminée pour le niveau 67,64%, sur la base d'analyses des tendances étayées par les données supplémentaires obtenues avec un échantillon JAK2 V617F à 100 % constitué d'ADN de la lignée cellulaire MUTZ-8 (38 mesures).

Résultats de l'étude de précision : reproductibilité (étude interlaboratoire)

Échantillon	Total de tests	Total de tests non valides	Moyenne JAK2%MT	ET au sein d'un cycle, %CV	ET entre les cycles le jour, %CV	Entre différents jours, ET, %CV	Entre différents sites, ET, %CV	ET total, %CV
L0	S.o.	S.o.	100	S.o.	S.o.	S.o.	S.o.	≤ 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 : Pourcentage de mutation de JAK2 ; **ET** : écart type ; **CV** : coefficient de variation en pourcentage ; **S.o.** : sans objet.

Une étude interlaboratoires supplémentaire a été réalisée sur trois sites de test (un en Europe et deux aux États-Unis), sur quatre échantillons de sang total de patients atteints d'un NMP. Chaque site a effectué trois cycles d'extraction d'ADN. Chaque extrait d'ADN a été testé dans 12 cycles de qPCR (un réplicat par cycle par échantillon, deux cycles par jour et par opérateur dans chaque site – deux opérateurs étaient impliqués par site – sur trois jours non consécutifs) sur un instrument Rotor-Gene Q MDx avec un seul lot de *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. 36 mesures ont été obtenues pour chaque échantillon.

Résultats d'études interlaboratoires supplémentaires

Échantillon	N	Moyenne JAK2%MT	ET au sein d'un cycle, %CV	ET entre les cycles le jour, %CV	ET entre les jours, %CV	ET entre les sites, %CV	ET total, %CV
Échantillon 1	36	95,19	0,995, 1,04	0,000, 0,00	0,541, 0,57	0,000, 0,00	1,130, 1,19
échantillon 2	36	22,83	3,988 ; 17,47	0,000, 0,00	1,707 ; 7,48	1,552, 6,80	4,501 ; 19,72
Échantillon 3	36	14,44	2,257 ; 15,63	1,398, 9,68	0,000 ; 0,00	1,422, 9,84	2,890 ; 20,01
Échantillon 4	36	4,03	0,186, 4,63	0,835, 20,74	0,000 ; 0,00	0,608, 15,09	0,922 ; 22,91

Moyenne JAK2% MT : Pourcentage de mutation de JAK2 ; **N** : nombre de mesures, **ET** : écart type ; **CV** : coefficient de variation en pourcentage.

Substances interférentes

Le plan de l'étude répond aux exigences de la norme EP7-A3 du NCCLS « Interference Testing in clinical Chemistry » (Tests d'interférence en chimie clinique). Un total de 19 substances potentiellement présentes dans des échantillons de sang ont été choisies pour leurs effets potentiels sur la PCR (busulfan, bromhydrate de citalopram, chlorhydrate de paroxétine semi-hydraté, chlorhydrate de sertraline, chlorhydrate de fluoxétine, acétaminophène [paracétamol], bilirubine non conjuguée,

potassium 2K EDTA et 3K EDTA, sodium EDTA, Hgb [humaine], triglycérides, lisinopril dihydraté, hydroxyurée, acide acétylsalicylique, acide salicylique, thiotepa, anagrélide, interféron alpha 2b).

Les substances du processus d'extraction d'ADN ont également été évaluées (QSL1, QSB1, QSW1, QSW2 et PK du QIAAsymphony DSP DNA Blood Mini Kit ; QIAGEN Protease, éthanol, AW1 et AW2 du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit).

Les résultats obtenus n'ont montré aucun effet perturbateur pour ces substances.

Substances interférentes

Substance testée	Concentration testée
Bilirubine non conjuguée	150,3 µg/mL
Hémoglobine [humaine]	2000 µg/mL
Triglycérides	30 000 µg/mL
Busulfan	38,4 µg/mL
Bromhydrate de citalopram	0,75 µg/mL
Chlorhydrate hémihydrate de paroxétine	1,14 µg/mL
Chlorhydrate de sertraline	0,67 µg/mL
Chlorhydrate de fluoxétine	3,87 µg/mL
Acétaminophène [paracétamol]	200,7 µg/mL
Lisinopril dihydraté	0,33 µg/mL
Hydroxyurée	28,2 µg/mL
Aide acétylsalicylique	651,6 µg/mL
Substance testée	Concentration testée
Acide salicylique	0,6 µg/mL
Thiotepa	48 µg/mL
Anagrélide	6 µg/mL

Interféron alpha 2b*	1,8 MU/L
Potassium EDTA (2K-EDTA)	2X (3 600 µg/ml)
Potassium EDTA (3K-EDTA) **	1X (1 800 µg/ml), 3X (5 400 µg/ml)
Sodium EDTA (2Na-EDTA) **	1X (3 000 µg/ml), 3X (9 000 µg/ml)
QSL1	2 % du volume d'échantillon total
QSB1	2 % du volume d'échantillon total
QSW1	2 % du volume d'échantillon total
QSW2	2 % du volume d'échantillon total
Protéinase K (PK) †	2 % du volume d'échantillon total
Protéinase K (PK) †	2x le volume restant attendu après le processus d'extraction 3x le volume restant attendu après le processus d'extraction
QIAGEN Protease	1,29 E-05 % du volume d'échantillon total
Éthanol (EtOH)	1,29 E-03 % du volume d'échantillon total
Buffer AW1	1,00 E-01 % du volume d'échantillon total
Buffer AW2	1,00 % du volume d'échantillon total

* Le dosage recommandé pour les patients atteints de MV est de 3 MU, qui devrait être distribué dans 5 L de sang (personne de 80 kg), donnant une concentration de 0,6 MU/L. Selon les recommandations de la norme NCCLS EP7-A2, le triple de cette concentration a été testé, c.-à-d. 1,8 MU/L.

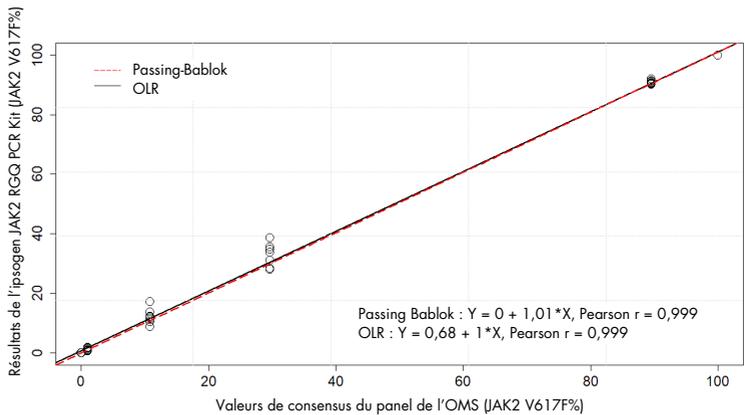
** 1X concentration selon le fournisseur

† La PK cause une interférence quand elle est testée à 2 % du volume d'échantillon total (improbable) ; les tests supplémentaires confirmant la PK sont supprimés pendant le processus d'extraction : aucune interférence n'est attendue dans des conditions d'utilisation normales.

Test du panel de référence international de l'OMS pour JAK2 V617F génomique (NIBSC, code de panel 16/120)

Le 1^{er} panel de référence international de l'OMS pour JAK2 V617F génomique conçu par le National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC, code de panel 16/120) a été testé avec trois lots du ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit (trois répliques par niveau du panel de

référence et par lot de réactif). Les expériences ont été réalisées sur trois jours par un opérateur avec un instrument Rotor-Gene Q 5plex HRM. La concordance entre les résultats de l'ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit et les valeurs de consensus publiées dans les instructions d'utilisation du panel de référence a été évaluée à l'aide d'une régression linéaire ordinaire (pente : 1,003, IC 95 % [0,997 ; 1,010] – ordonnée : 0,677, IC 95 % [0,212 ; 1,289]) et une régression de Passing-Bablok (pente : 1,01, IC 95 % [1,00 ; 1,021] – ordonnée : 0,00, IC 95 % [-0,02 ; 0,010]). La concordance est confirmée, ce qui démontre l'aptitude du kit à fournir des données de JAK2 V617F en accord avec les autres techniques de diagnostic courantes.



Concordance entre les résultats de l'ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit et les valeurs de consensus du panel de référence international de l'OMS pour JAK2 V617F génomique (NIBSC, code de panel 16/120).

La concordance a été évaluée avec une régression linéaire ordinaire (OLR) et une régression de Passing-Bablok.

Le panel comporte sept niveaux de JAK2 V617F : 100 %, 89,5 %, 29,6 %, 10,8 %, 1,00 %, 0,03 % et 0 %. Les valeurs de consensus de l'OMS ont été déterminées avec diverses techniques courantes dans le cadre d'une étude collaborative internationale ; les valeurs de référence attribuées à chaque niveau de JAK2 V617F% sont des valeurs médianes (plus d'informations sur <https://www.nibsc.org>).

Véracité et justesse

La véracité de la mesure est inversement proportionnelle à l'erreur de mesure systématique (ES ou biais). Le biais a été calculé selon les instructions de la directive EP09c NCCLS, pour chaque niveau de JAK2 V617F% du panel de référence, pour chaque lot de réactifs ainsi que pour tous les lots de réactifs, avec les données de l'étude susmentionnée. Les valeurs de biais les plus élevées ont été obtenues avec le *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit lot 2.

La justesse indique le degré de correspondance entre un résultat de test et la valeur de référence acceptée (dans ce cas, la valeur attribuée à chaque niveau de JAK2 V617F% du panel de l'OMS). La justesse tient compte de l'exactitude et de la précision et est inversement proportionnelle à l'erreur totale, calculée comme indiqué dans le tableau ci-dessous.

Biais et erreur de mesure

Panel de l'OMS Code d'ampoule Valeur de référence	Lot du <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit	Biais (ES)	Biais (ES)	Erreur totale (Précision)
		Par lot [IC à 95 %]	Général [IC à 95 %]	
15/172	1	0,000 [S.o.]	0,001	0,010
0 %	2	0,003 [-0,011 ; 0,018]	[-0,001 ; 0,004]	

		3	0,000 [S.o.]		
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	1		-0,017 [-0,031 ; -0,002]	-0,017 [-0,021 ; -0,013]	≤ 5,450
100 %	2		-0,020 [S.o.]		
	3		-0,013 [-0,028 ; 0,001]		

ES : erreur systématique ou biais, c.-à-d. la différence entre la moyenne des mesures individuelles obtenues avec l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit ($\bar{V}_{\text{JAK2 Kit}}$) et la valeur de consensus du panel de référence de l'OMS (V_{Ref}).

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

L'erreur totale (Total Error, TE) est calculée selon $TE = \sqrt{s^2 + SE^2}$, où s est l'écart-type (erreur aléatoire).

IC à 95 % : Intervalle de confiance de 95 %

S.o. : sans objet

Justesse analytique

L'objectif de cette étude était de valider la justesse analytique de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit dans des conditions d'utilisation normales avec des échantillons cliniques de sujets suspectés d'avoir des néoplasmes myéloprolifératifs. Cette étude a été réalisée sur des échantillons d'ADNg extraits d'un total de 473 échantillons : 276 avec MV suspectée, 98 avec TE et 99 avec MFP. Le statut JAK2 V617F des échantillons de patients obtenus avec l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit a été comparé au statut JAK2 V617F obtenu avec la méthode de référence pour la détermination du statut JAK2, c.-à-d. un séquençage bidirectionnel (BDS) validé de manière indépendante. Comme la LoD de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit est de 0,042 % de JAK2 V617F, le statut JAK2 V617F d'un échantillon de patient testé avec le *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit est positif au-dessus de ou à cette limite et négatif sous cette limite. Sur les 473 échantillons, 22 échantillons étaient positifs à JAK2 avec l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit mais négatifs avec le BDS.

La concordance globale est de 95,35 % (451/473 sujets ; IC 95 % : 93,04 %, 97,06 %). La concordance positive était de 100 % (165/165 sujets ; IC 95 % : 97,79 %, 100 %) et la concordance négative était de 92,86 % (286/308 sujets ; IC 95 % : 89,39 % ; 95,47 %). Les résultats sont présentés ci-dessous.

Concordance entre l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit et le séquençage bidirectionnel Sanger dans la population atteinte d'un NMP (populations avec TE MPF et MV)

Séquençage bi-directionnel Sanger

		Positif pour JAK2 V617F	Négatif pour JAK2 V617F	Total
<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR kit	Positif pour JAK2 V617F	165	22	187
	Négatif pour JAK2 V617F	0	286	286
	Total	165	308	473

Évaluation des résultats de l'étude de la justesse analytique dans les cohortes avec NMP

Les concordances entre les résultats obtenus pour la mutation JAK2 V617F avec le *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit et avec le séquençage Sanger (BDS) chez les sujets avec TE, MPF et MV sont fournies séparément :

- Pour l'ET, la concordance globale est de 89,8 % (88/98 sujets ; IC 95 % : 82,03-95,0 %), la concordance positive est de 100 % (43/43 sujets ; IC 95 % : 91,78-100 %) et la concordance négative est de 81,82 % (45/55 sujets ; IC 95 % : 69,1-90,92 %).
- Pour la MPF, la concordance globale est de 93,94 % (93/99 sujets ; IC 95 % : 87,27-97,74%), la concordance positive est de 100 % (51/51 sujets ; IC 95 % : 93,02-100 %) et la concordance négative est de 87,5% (42/48 sujets ; IC 95 % : 74,75-95,27 %).

- Pour la MV, la concordance globale est de 97,83 % (270/276 sujets ; IC 95 % : 95,33-99,2%), la concordance positive est de 100 % (71/71 sujets ; IC 95 % : 94,94-100 %) et la concordance négative est de 97,07% (199/205 sujets ; IC 95 % : 93,74-98,92 %).

Les échantillons donnant des résultats discordants avaient des niveaux de mutation inférieurs à la capacité de détection du BDS (environ 10 %). Comme le séquençage Sanger n'est pas aussi sensible que l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit qui peut signaler des valeurs aussi petites que 0,042 % de JAK2 V617F (c.-à-d. la valeur de la LoD), une étude séparée a été menée avec une méthode de séquençage nouvelle génération (NGS) validée pour détecter l'allèle JAK2 V617F dans les 15/22 échantillons discordants (neuf TE, cinq MPF et une MV), ainsi qu'un semble aléatoire de 22 échantillons concordants positifs et négatifs à JAK2 V617F. Le statut JAK2 V617F des échantillons de patients a été déterminé par la méthode de NGS sur la base de sa limite de sensibilité analytique (c.-à-d. entre 1 % et 2 % de JAK2 V617F). Le statut JAK2 V617F d'un échantillon de patient était donc positif si la mutation JAK2 V617F était détectée par la méthode de NGS et réciproquement, le statut JAK2 V617F était négatif si la mutation JAK2 V617F n'était pas détectée.

Les 15 échantillons discordants ont été testés positifs par la NGS, en accord avec le *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit. Tous les échantillons concordants ont eu le même résultat avec le NGS et en accord avec le *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit et BDS. Les 7 autres échantillons ont été considérés comme discordants car les données de NGS ne sont pas disponibles pour eux. Conclusion de l'étude de justesse analytique.

	<p>L'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit était précis à 98,3 % pour la détection de l'allèle JAK2 V617F dans les échantillons des sujets avec des taux de JAK2 V617F $\geq 0,042$ % (c.-à-d. la valeur LoD).</p>
<p>Résumé des performances cliniques</p>	<p>La sensibilité était de 94,64 % (IC 95 % ; 85,13 %, 98,88 %), indiquant que le <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit selon les critères de diagnostic de l'OMS devait détecter la MV chez la grande majorité des sujets ayant la maladie.</p> <p>La spécificité du diagnostic de MV avec le <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit selon les critères de diagnostic de l'OMS était de 95,62 % (IC 95 % ; 91,19 %, 98,22 %), indiquant que ceci devrait aussi exclure la MV chez la grande majorité des sujets sans MV.</p> <p>Avec le <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit selon les critères de diagnostic de l'OMS, la VPP était de 88,33 % (IC 95 % ; 77,27 %, 93,57 %) * et la VPN était de 98,08 % (IC 95 % ; 94,8 %, 99,4 %).</p> <p>Le taux de probabilité d'un test négatif avec le <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit, pour le diagnostic de MV, dans les critères de diagnostic de l'OMS était de 21,61 (IC 95 % ; 10,44, 44,71), indiquant que le résultat positif de JAK2 V617F surviendra plus probablement chez les sujets ayant une MV que chez ceux sans MV.</p> <p>Le taux de probabilité d'un test positif avec le <i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit, pour le diagnostic de MV, dans les critères de diagnostic de l'OMS était de 0,06 (IC 95 % ; 0,02, 0,18), indiquant que le résultat négatif de JAK2 V617F surviendra beaucoup moins probablement chez les sujets ayant une MV que chez ceux sans MV.</p>

* La VPP dépend de la prévalence. Comme la prévalence était faible dans la population de l'étude et que la sensibilité et la spécificité ne dépendent pas de la prévalence, la sensibilité et la spécificité sont plus pertinentes.

Traçabilité métrologique

Traçabilité métrologique des valeurs attribuées

La traçabilité métrologique des valeurs attribuées aux étalons et au matériel de contrôle, y compris l'identification du matériel de référence appliqué, et/ou les procédures de mesure de référence d'ordre supérieur, ainsi que les informations relatives à la variation d'un lot à l'autre maximale (auto-admise) fournies avec les chiffres et les unités de mesure pertinents.

Le 1^{er} panel de référence international de l'OMS pour la génomique JAK2 V617F (code de panel NIBSC 16/120) a été établi en 2016 par le comité d'experts sur la normalisation biologique de l'Organisation Mondiale de la Santé.(OMS) (voir le document de l'OMS WHO/BS/2016.2293).

Le panel comprend sept échantillons d'ADN génomique humain lyophilisés produits en combinant de l'ADN génomique dérivé de JAK2 de type sauvage et de lignées cellulaires de JAK2 V617F, fournissant des normes dans une plage de niveaux de JAK2 V617F cliniquement pertinents, exprimés comme un pourcentage de JAK2 total, de 0 % à 100 %. Voir [www.nibsc.org/science_and_research/advanced_therapies/genomic_reference_materials/jak_2_v617f_\(who\).aspx](http://www.nibsc.org/science_and_research/advanced_therapies/genomic_reference_materials/jak_2_v617f_(who).aspx) et Sanzone AP et al. (2016) *Collaborative study to evaluate the proposed WHO 1st International Reference Panel for Genomic JAK2 V617F*.

Ni ce panel, ni les étalons attribués à la valeur (dérivés de ce matériel standard) ne sont inclus dans l'*ipsogen*® JAK2 RGQ PCR Kit. L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit contient du matériel de contrôle, mais celui-ci n'est pas dérivé du matériel de référence de l'OMS. Il n'y a donc pas de rapport de traçabilité métrologique.

	<p>La concordance des résultats de l'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit avec les valeurs de consensus du panel atout de même été évaluée et confirmée :</p> <p>Cette étude est décrite dans les <i>Instructions d'utilisation (manuel)</i> de l'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit.</p>
<p>Profil et formation suggérés pour les utilisateurs</p>	
<p>Profil d'utilisateur</p>	<p>L'<i>ipsogen</i> JAK2 RGQ PCR Kit est destiné à une utilisation professionnelle. Le produit est destiné à être utilisé uniquement par les professionnels ayant reçu les instructions et la formation spécialement liées aux techniques de biologie moléculaires et étant familiarisé avec la technologie de l'appareil. La procédure de l'appareil doit être exécutée dans un environnement de laboratoire de biologie moléculaire.</p>
<p>Formation de l'utilisateur</p>	<p>Le produit est destiné à être utilisé uniquement par les professionnels ayant reçu les instructions et la formation spécialement liées aux techniques de biologie moléculaires et étant familiarisé avec la technologie de l'appareil. La procédure de l'appareil doit être exécutée dans un environnement de laboratoire de biologie moléculaire.</p>

Risques et avertissements

Risques résiduels et effets indésirables

Les risques résiduels pertinents ont été identifiés et divulgués à l'utilisateur sous forme d'avertissements et précautions dans les instructions d'utilisation de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit :

- Risque de contamination
Consulter les sections « qPCR sur l'instrument Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM avec rotor à 72 tubes » et « Précautions » des instructions d'utilisation.
 - Faire preuve d'une extrême vigilance pour éviter le transfert de contamination de l'ADN ou des produits de PCR par effet mémoire, qui peuvent générer des signaux faux positifs.
 - Utiliser de nouvelles pointes de pipettes résistantes aux aérosols à toutes les étapes de pipetage pour éviter les contaminations croisées des échantillons et des réactifs.
 - Veiller à changer de pointe entre chaque tube afin d'éviter toute contamination avec une matrice non spécifique ou un mélange réactionnel, ce qui entraînerait des résultats faux positifs. Commencer par ajouter les échantillons de test, puis les standards et contrôles.
 - Faire preuve d'une extrême vigilance pour éviter la contamination des mélanges avec le matériel synthétique contenu dans les réactifs Standard Quant JAK2 MT et JAK2 WT avec les contrôles JAK2 Mutant et JAK2 WT.

	<ul style="list-style-type: none"> ● Risque de détérioration des réactifs du kit, entraînant un échec du cycle de qPCR. Consulter la section « qPCR sur l'instrument Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM avec rotor à 72 tubes » > « Procédure » > « Configurer le test de qPCR » des instructions d'utilisation. Important : l'étape de décongélation ne doit pas dépasser 30 minutes afin d'éviter toute dégradation des produits. ● Risque de position de tube incorrecte dans le rotor, donnant des résultats aberrants Consulter la section « Traitement des échantillons sur l'instrument Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM avec rotor à 72 tubes » des instructions d'utilisation. Important : les tubes doivent être insérés dans le rotor comme indiqué à la figure 6 des <i>Instructions d'utilisation de l'ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit</i> étant donné que l'analyse automatisée configurée dans le profil du dosage repose sur cette organisation. Une disposition différente risque d'entraîner des résultats aberrants.
<p>Avertissements et précautions</p>	<p>Notez qu'il peut être nécessaire de consulter la réglementation locale avant de signaler tout incident grave survenant en lien avec le produit au fabricant et/ou son représentant agréé et à l'organisme de régulation du pays de l'utilisateur et/ou du patient.</p> <p>Informations de sécurité</p> <p>Lors de la manipulation de produits chimiques, portez systématiquement une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consultez les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Elles sont disponibles en ligne au format PDF à l'adresse www.qiagen.com/safety, où il est possible de</p>

trouver, de consulter et d'imprimer les FDS de chaque kit et composant de kit QIAGEN.

- Les prélèvements et les échantillons sont potentiellement infectieux. Jeter les échantillons et les dosages usagés conformément aux procédures de sécurité locales.

ATTENTION



NE PAS ajouter d'eau de Javel ou de solutions acides directement aux déchets des échantillons ou de préparation.

Informations d'urgence

- CHEMTREC
En dehors des États-Unis et du Canada +1 703-527-3887

Précautions

- L'utilisation des tests de qPCR nécessite de bonnes pratiques de laboratoire, incluant la maintenance de l'équipement, spécifiques à la biologie moléculaire et en accord avec les réglementations applicables et les normes pertinentes.
- L'utilisation de ce kit est destinée au diagnostic *in vitro*. Les réactifs et les instructions fournis dans ce kit ont été validés pour obtenir des performances optimales.
- Le test est destiné à une utilisation avec des échantillons de sang total anti-coagulés avec du potassium EDTA (K₂-EDTA) et conservés entre 2 et 8 °C pendant au maximum 96 heures avant l'extraction de l'ADN.

- Tous les produits chimiques et biologiques sont potentiellement dangereux. Les prélèvements et échantillons sont potentiellement infectieux et doivent être traités comme du matériel présentant un risque biologique.
- Jeter les échantillons et les dosages usagés conformément aux procédures de sécurité locales.
- Les réactifs de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit sont dilués de manière optimale. N'effectuez pas de dilution supplémentaire des réactifs, cela pourrait compromettre les performances.
- Ne pas utiliser de volumes réactionnels (mélange réactionnel + échantillon) inférieurs à 25 µl.
- Tous les réactifs fournis dans l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit sont destinés à être utilisés uniquement avec les autres réactifs fournis dans le même kit. Ne pas interchanger les réactifs d'un kit avec les mêmes réactifs d'un autre *ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit, même du même lot, car cela risquerait d'en affecter les performances.
- Consulter le *manuel d'utilisation du Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*, le manuel d'utilisation du logiciel *Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application*, le manuel d'utilisation du *Gamma Plug-In* et le manuel d'utilisation de l'instrument QIA Symphony SP pour des avertissements, précautions et procédures supplémentaires.
- La modification des temps et des températures d'incubation peut entraîner l'obtention de données erronées ou discordantes.
- Ne pas utiliser de composants périmés ou mal conservés.
- Les mélanges réactionnels peuvent être altérés s'ils sont exposés à la lumière.
- Faire preuve d'une extrême vigilance pour éviter la contamination des mélanges avec le matériel synthétique contenu dans les réactifs Standard Quant JAK2 MT et JAK2 WT avec les contrôles JAK2 Mutant et JAK2 WT.

- Faire preuve d'une extrême vigilance pour éviter le transfert de contamination de l'ADN ou des produits de PCR par effet mémoire, qui peuvent générer des signaux faux positifs.
- Faire preuve d'une extrême vigilance pour éviter la contamination par la DNase, qui peut provoquer la dégradation d'ADN matriciel.
- Utiliser des pipettes individuelles dédiées pour préparer les mélanges réactionnels et ajouter les matrices.
- Ne pas ouvrir l'instrument Rotor-Gene Q MDx avant la fin de l'analyse.
- Ne pas ouvrir les tubes Rotor-Gene Q une fois l'analyse terminée.
- Rester concentré pour garantir un test correct des échantillons. Une attention toute particulière doit être accordée aux mauvaises entrées d'échantillons ainsi qu'aux erreurs de chargement ou de pipetage.
- S'assurer à tout moment de manipuler les échantillons de manière systématique afin d'assurer une identification correcte permettant de garantir leur traçabilité.

Il est par conséquent recommandé :

- D'utiliser des consommables exempts de nucléase (par ex. pipettes, pointes de pipettes, flacons) et de porter des gants lors du dosage.
- D'utiliser de nouvelles pointes de pipettes résistantes aux aérosols à toutes les étapes de pipetage pour éviter les contaminations croisées des échantillons et des réactifs.
- De préparer le pré-mélange principal pour PCR avec du matériel dédié (pipettes, pointes, etc.) dans une zone spéciale où aucune matrice d'ADN (ADN, plasmides ou produits de PCR) n'est introduite. Ajouter les échantillons dans une zone séparée (de préférence dans une autre pièce) avec du matériel spécifique (pipettes, pointes, etc.).

- Pour le dépannage et les informations de sécurité concernant les kits d'extraction QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (N° de réf. 61104) et QIASymphony DNA DSP Mini Kit (N° de réf. 937236), consulter les Instructions d'utilisation correspondantes.
- Pour des informations sur le dépannage de Rotor-Gene AssayManager v2.1, consulter le *manuel d'utilisation du Rotor-Gene AssayManager v2.1 Core Application*.

En outre, consulter les sections des *Instructions d'utilisation de l'ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit* pour :

- Section « Conservation et manipulation des réactifs » :
« Éviter les congélation et décongélation à répétition. Ne pas dépasser un maximum de cinq cycles de congélation/décongélation. »
- Section « Extraction automatisée de l'ADN génomique à l'aide du QIASymphony DSP DNA Mini Kit » :
« Si la cartouche de réactifs n'est pas vide, la sceller avec les bandelettes d'étanchéité fournies et fermer les tubes de protéinase K avec des bouchons à vis immédiatement après la fin du protocole pour éviter l'évaporation. »
- « Limitations »
 - Ce kit est réservé à un usage professionnel.
 - Le produit est destiné à être utilisé uniquement par les professionnels ayant reçu les instructions et la formation spécialement liées aux techniques de biologie moléculaires et étant familiarisé avec la technologie de l'appareil. La procédure de l'appareil doit être exécutée dans un environnement de laboratoire de biologie moléculaire.

- L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit n'est pas un dispositif automatique ; cependant, l'analyse est assistée par un logiciel dédié pour la quantification automatique des mutations.
- Ce kit doit être utilisé selon les instructions des *Instructions d'utilisation de l'ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit*, en combinaison avec un instrument validé mentionné dans « Matériel nécessaire mais non fourni ».
- Il est important de respecter les dates de péremption imprimées sur l'étiquette de la boîte et les étiquettes des tubes. Ne pas utiliser de composants périmés.
- Tous les réactifs fournis dans l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit sont destinés à être utilisés uniquement avec les autres réactifs fournis dans le même kit. Le non-respect de cette consigne risque d'affecter les performances.
- L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit est validé uniquement pour du sang total périphérique humain anti-coagulé avec du 2K-EDTA et collecté sur des patients présentant une suspicion ou un diagnostic de NMP.
- L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit n'a été validé que pour une utilisation avec le QIA Symphony DNA DSP Mini Kit (N° de réf. 937236) ou le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (N° de réf. 61104).
- L'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit n'a été validé que pour une utilisation avec les instruments Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (pour la PCR) et QIA Symphony SP (pour la préparation des échantillons).
- Toute utilisation non conforme de ce produit et/ou modification quelconque de l'un de ses composants décharge QIAGEN de toute responsabilité.

- Tous les résultats de diagnostic générés doivent être interprétés en tenant compte d'autres résultats pathologiques cliniques. L'absence de la mutation JAK2 V617F/G1849T n'exclut pas la présence d'autres mutations JAK2. Le test peut produire des résultats faux négatifs en cas de mutations additionnelles sur les nucléotides 88504 à 88622.
- L'utilisateur est responsable de la validation des performances du système pour toutes les procédures utilisées dans son laboratoire qui ne sont pas couvertes par les études de performances de QIAGEN
- « Caractéristiques de performances, Substances interférentes »
 - Le plan de l'étude répond aux exigences de la norme EP7-A3 du NCCLS « Interference Testing in clinical Chemistry » (Tests d'interférence en chimie clinique). Un total de 19 substances potentiellement présentes dans des échantillons de sang ont été choisies pour leurs effets potentiels sur la PCR (busulfan, bromhydrate de citalopram, chlorhydrate de paroxétine semi-hydraté, chlorhydrate de sertraline, chlorhydrate de fluoxétine, acétaminophène [paracétamol], bilirubine non conjuguée, potassium 2K EDTA et 3K EDTA, sodium EDTA, Hgb [humaine], triglycérides, lisinopril dihydraté, hydroxyurée, acide acétylsalicylique, acide salicylique, thiotepa, anagrélide, interféron alpha 2b).
 - Les substances du processus d'extraction d'ADN ont également été évaluées (QSL1, QSB1, QSW1, QSW2 et PK du QIASymphony DSP DNA Blood Mini Kit ; QIAGEN Protease, éthanol, AW1 et AW2 du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit).
 - Les résultats obtenus n'ont montré aucun effet perturbateur pour ces substances.

- « Guide de dépannage »

Le guide de dépannage peut aider à résoudre tout problème pouvant survenir pour les composants suivants du flux de travail :

- Traitement des échantillons et échec
- Erreur de concentration d'ADN
- L'échantillon n'est pas valide en raison d'une faible concentration
- Erreur d'utilisateur de l'*ipsogen* JAK2 RGQ PCR Kit
- Signal nul ou faible dans l'échantillon et les contrôles
- Erreurs d'opération du RGQ

Pour une assistance technique et plus d'informations, consulter notre Centre d'assistance technique à l'adresse www.qiagen.com/Support (pour nos coordonnées, visiter le site www.qiagen.com).