

Xpert[®] FFPE Lysis Kit

REF GXFFPE-LYSIS-CE-10

Návod k použití

IVD **CE**

Prohlášení o ochranných známkách, patentech a autorských právech

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2016-2022 Cepheid.

See Section 16, Revision History for a description of changes.

Cepheid[®], logo Cepheid, GeneXpert[®] a Xpert[®] jsou ochranné známky společnosti Cepheid registrované v USA a dalších zemích.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem jejich příslušných vlastníků.

NÁKUPEM TOHOTO PRODUKTU SE NA KUPUJÍCÍHO PŘEVÁDÍ NEPŘEVODITELNÉ PRÁVO PRODUKT POUŽÍVAT V SOULADU S TÍMTO NÁVODEM K POUŽITÍ. NEPŘEVÁDÍ SE ŽÁDNÁ DALŠÍ PRÁVA, A TO VÝSLOVNĚ, NEPŘÍMO ANI PODLE ZÁSADY ESTOPPEL. DÁLE SE S PRODEJEM TOHOTO PRODUKTU NEPŘEVÁDÍ ŽÁDNÁ PRÁVA NA OPAKOVANÝ PRODEJ.

© 2016-2022 Cepheid.

Popis změn viz Část 16, Historie revizí.

Xpert[®] FFPE Lysis Kit

Zdravotnický prostředek pro diagnostiku *In Vitro*

1 Účel použití

1.1 Určené použití

Souprava Xpert[®] FFPE Lysis Kit je navržena k lyzaci tkáně fixované formalínem a zalité v parafínu (FFPE) a k zachování nukleových kyselin pro následnou analýzu GeneXpert[®].

1.2 Zamýšlený uživatel/prostředí

Souprava Xpert FFPE Lysis Kit je určena k použití vyškolenými uživateli v laboratorním prostředí.

2 Princip provozu

Tkáň FFPE (z ruličky nebo sklíčka) se umístí do zkumavky společně s doporučenými objemy lyzační reagentie FFPE a proteinázy K ze soupravy Xpert FFPE Lysis Kit. Vzorek se poté inkubuje v termobloku při teplotě 80 °C po dobu přibližně 30 minut. Během této inkubace dojde k následujícímu:

1. Zahřátý roztok začne tavit parafínový vosk.
2. Lyzační reagentie rozruší zesíťování proteinů, ke kterému došlo během postupu fixace formalínem.
3. Proteináza K rozštěpí proteiny a deaktivuje nukleázy (RNázy & DNázy), které by jinak mohly degradovat DNA a RNA.

Nakonec se ke vzorku přidá etanol a doporučený objem připraveného lyzátu vzorku se přidá přímo do označené kazety GeneXpert.

3 Dodané materiály

Xpert FFPE Lysis Kit (1 souprava, postačuje na přípravu 10 lyzátů)

Každá souprava obsahuje:

- 1 sáček s 10 × 1,5ml zkumavkami
- 1 sáček s 10 × 5ml lahvičkami
- 1 lahvička se zásobou 13 ml lyzační reagentie FFPE
- 1 zkumavka se zásobou 250 µl reagentie proteinázy K

4 Požadované materiály a vybavení, které není součástí dodávky

- Mikrotom
- Jednorázové žiletky nebo skalpely (pro makrodisekci)
- Pipety a pipetovací špičky s filtrem vhodné pro přesný přenos 5 µl, 20 µl, 260 µl a 600 µl
- Termoblok, který pojme 1,5ml mikrocentrifugační zkumavky (a udrží je při teplotě 80 °C)
- Stolní vortexová míchačka
- Standardní stolní mikrocentrifuga s rotorem s pevným úhlem, který pojme 1,5ml mikrocentrifugační zkumavky

- $\geq 95\%$ etanol reagenční třídy
- Jednorázové rukavice
- Lepicí štítky nebo informace pro identifikaci vzorků

5 Varování a bezpečnostní upozornění

- Se všemi biologickými vzorky je nutné zacházet se standardními univerzálními bezpečnostními opatřeními. Se vzorky smí zacházet pouze personál vyškolený v manipulaci s biologicky nebezpečnými materiály.
- Se všemi vzorky a reagensmi soupravy zacházejte s vhodnými technikami pro prevenci a minimalizaci kontaminace RNázami a/nebo DNázami.
- Makrodisekční čepele, pipetovací špičky ani zkumavky/lahvičky nepoužívejte opakovaně, aby nedošlo ke křížové kontaminaci při manipulaci se vzorky.
- Rozlité nebo vytékající zkumavky s reagensy je nutné zlikvidovat a nesmí se používat.
- Při práci s chemikáliemi a manipulaci s biologickými vzorky dodržujte bezpečnostní postupy vašeho zdravotnického zařízení.
- Neúplné odstranění (seškrábnutí) oblasti tumoru ze sklíčka při přípravě lyzátu FFPE může vést k nedostatku materiálu pro test, což může znamenat vyšší než očekávanou míru výskytu neurčitých nebo **NEPLATNÝCH (INVALID)** výsledků s testem Xpert.
- Podrobné informace o bezpečnosti a likvidaci komponent lyzační soupravy FFPE naleznete v bezpečnostním listu Xpert FFPE Lysis Kit, který je dostupný online na webu www.cepheidinternational.com. Níže jsou uvedeny relevantní informace z bezpečnostního listu.
 - Odpad z produktu – Obsah a/nebo nádobu/nádoby zlikvidujte v souladu s místními, regionálními, národními a/nebo mezinárodními předpisy.
 - Odpad z obalu – Obsah a/nebo nádobu/nádoby zlikvidujte v souladu s místními, regionálními, národními a/nebo mezinárodními předpisy.

6 Chemická nebezpečí

H-věty: H319 Způsobuje vážné podráždění očí

P-věty:

- P264: Po manipulaci důkladně omyjte.
- P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
- P302+P351+P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
- P337+P313: Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

7 Požadavky na skladování soupravy

Souprava Xpert FFPE Lysis Kit se musí skladovat při teplotě 2–28 °C a použít před uplynutím jejího data expirace (viz označení vnější krabice). Během 8 týdnů po prvním otevření soupravy ji lze zavírat a znovu otevírat kvůli dalšímu zpracování vzorků.

8 Požadavky na tkáň FFPE

1. Pro testování pomocí jakéhokoliv testu Xpert, který vyžaduje RNA nebo DNA z tkáně FFPE, musí být vzorky fixovány výhradně 10% neutrálním pufovaným formalínem (NBF) po dobu 6 až 72 hodin.
2. Některé vzorky tkáně FFPE starší více než 10 let možná nebudou pro analýzu GeneXpert dostatečně kvalitní.
3. Patolog by měl pro testování vybrat blok tkáně/tumoru FFPE s největší oblastí viditelné přijatelné tkáně/tumoru.
4. Zpracování testem Xpert vyžaduje neobarvenou tkáň namontovanou na sklíčko. Pokud je potřeba makrodisekce, použijte přílehlé sklíčko obarvené H&E z bloku tumoru FFPE jako vodítko, které zajistí, že oblast tumoru identifikovaná na sklíčku obarveném H&E reprezentuje oblast tumoru na neobarveném sklíčku.
5. Další informace naleznete v příbalové informaci k testu Xpert.

9 Příprava sklíčka/ruličky

Příprava tkání FFPE pomocí této lyzační soupravy vyžaduje ke zpracování neobarvený namontovaný tkáňový řez nebo řezy či ruličku nebo ruličky a přilehlé sklíčko ze stejného tkáňového bloku obarvené H&E.

1. Na mikrotomu připravte řez o tloušťce 4 až 5 μm pro barvení H&E.
2. Připravte přilehlý řez (nebo ruličku) o tloušťce 4 až 5 μm pro použití s lyzační soupravou FFPE.
 - U vzorků, u kterých je pro splnění minimálních požadavků testu Xpert potřeba více než jedno sklíčko/rulička, je potřeba zpracovat všechna sklíčka/ruličky najednou.
3. Při přípravě tkáňového řezu nebo řezů postupujte podle standardních histologických technik.
 - Tkáňové řezy musí být zcela suché.
 - Tkáňové řezy pro lýzu FFPE musí být skladovány při teplotě 2 °C až 8 °C a zpracovány do dvou týdnů od přípravy. Čerstvě připravené řezy však poskytnou nejlepší kvalitu a nejspolehlivější výsledky, protože na řezech na sklíčku vystavených vzduchu degraduje mRNA rychleji než v blocích FFPE.
4. Tkáňovou ruličku nebo ruličky připravte podle níže uvedených kroků.
 - Vložte ruličku nebo ruličky do dodané 1,5ml lyzační zkumavky. Označte zkumavku pro každý vzorek, který chcete zpracovat.
 - Ruličky v 1,5ml zkumavce musí být skladovány při teplotě 2 °C až 8 °C a zpracovány do 2 týdnů od přípravy.

10 Odstranění tkáně ze sklíčka

1. Označte 1,5ml lyzační zkumavku (součást dodávky) pro každý vzorek, který chcete zpracovat.
2. Pokud není nutná makrodisekce:
 - a. Novou žiletkou nebo skalpelem pro každý vzorek tkáně, který chcete zpracovat, zcela odstraňte (seškrábněte) celý tkáňový řez ze sklíčka a přeneste ho do označené 1,5ml lyzační zkumavky.
 - b. Řezy v 1,5ml zkumavce musí být skladovány při teplotě 2 °C až 8 °C a zpracovány do 2 týdnů.
3. Pokud je nutná makrodisekce:
 - a. Posuďte sklíčko obarvené H&E (patolog). Určete (a načrtněte) plochu tumoru pro test. Potřebný počet sklíček nebo minimální požadavky na buňky tumoru naleznete v příbalové informaci k testu Xpert.
 - b. Připravte se na makrodisekci (patolog). Na zadní stranu neobarveného sklíčka nebo sklíček načrtněte plochu tumoru, kterou chcete použít pro test, tím způsobem, že sklíčko vyrovnáte s odpovídajícím sklíčkem obarveným H&E a přenesete načrtnutou oblast.
 - c. Proveďte makrodisekci (patolog nebo technik). Novou žiletkou nebo skalpelem pro každý vzorek tkáně, který chcete zpracovat, zcela odstraňte (seškrábněte) načrtnutou tkáň invazivního tumoru ze sklíčka (viz obrázek 1) a přeneste ji do označené 1,5ml lyzační zkumavky.
 - d. Řezy po makrodisekci v 1,5ml zkumavce musí být skladovány při teplotě 2 °C až 8 °C a zpracovány do 2 týdnů.



Obrázek 1. Příklady vhodného (doporučovaného) a nevhodného (nedoporučovaného) odstranění tkáně ze sklíčka

A	Referenční sklíčko obarvené H&E
B	Nedoporučované (odstraněn nedostatek tkáně)
C	Doporučované

11 Zpracování tkáně FFPE

1. Přidejte 1 200 µl (1,2 ml) lyzační reagentie FFPE a 20 µl proteinázy K do zkumavky obsahující vzorek FFPE a poté ji uzavřete víčkem.
2. Vortexujte vzorek po dobu minimálně 10 sekund a poté vzorek krátce pulzně odstřed'te (aby se tekutina odstranila z víčka).
3. Inkubujte vzorek po dobu alespoň 30 minut v termobloku předehřátém na 80 °C.
4. Po inkubaci při teplotě 80 °C vortexujte vzorek po dobu minimálně 10 sekund a poté ho krátce pulzně odstřed'te.
5. Pipetou přeneste všechn vzorek (~1,2 ml) do označené 5ml lahvičky na vzorek.
6. Přidejte ke vzorku 1 200 µl > 95% etanolu a uzavřete ho víčkem.
7. Vortexujte vzorek po dobu minimálně 15 sekund.

12 Zpracování tkáně FFPE – koncentrovaný lyzát
















Pokud kvůli nedostatečnému vzorku (za který by se mělo považovat $\leq 6 \times 1 \text{ mm}^2$ plochy tumoru na seškrábnutém sklíčku) potřebujete koncentrovanější lyzát, držte se tohoto protokolu. Další informace naleznete v příbalové informaci k testu Xpert.

1. Přidejte 260 µl lyzační reagentie FFPE a 5 µl proteinázy K do označené 1,5ml zkumavky obsahující vzorek FFPE a poté ji uzavřete víčkem.
2. Vortexujte vzorek po dobu minimálně 10 sekund a poté vzorek krátce pulzně odstřed'te (aby se tekutina odstranila z víčka).
3. Inkubujte vzorek po dobu alespoň 30 minut v termobloku předehřátém na 80 °C.
4. Po inkubaci při teplotě 80 °C vortexujte vzorek po dobu minimálně 10 sekund a poté ho krátce pulzně odstřed'te.
5. Přidejte do stejné 1,5ml lyzační zkumavky 260 µl $\geq 95\%$ etanolu a uzavřete ji víčkem.
6. Vortexujte vzorek po dobu minimálně 10 sekund a poté ho krátce pulzně odstřed'te.

13 Skladování a přeprava vzorků

Pokud bude testování provedeno do 1 týdne, musí být připravený lyzát s etanolem přepraven do laboratoře při teplotě 2 °C až 8 °C. Jestliže bude test proveden později, je lyzát FFPE před testováním stabilní při skladování při teplotě ≤ -20 °C po dobu až 4 týdnů.

14 Tabulka značek

Značka	Význam
	Katalogové číslo
	Označení CE – Evropská shoda
	Obsahuje dostatečné množství pro n testů
	Výrobce
	Země výroby
	Teplovní limit
	Kód šarže
	Čtěte návod k použití
	Biologická rizika
	Zdravotnický diagnostický prostředek <i>in vitro</i>
	Zplnomocněný zástupce v Evropském společenství
	Nepoužívat opakovaně
	Upozornění
	Varování
	Datum expirace

15 Technická pomoc

Spojené státy

Telefon: + 1 888 838 3222

E-mail: techsupport@cepheid.com

Francie

Telefon: + 33 563 825 319

E-mail: support@cepheideurope.com

Kontaktní informace všech kanceláří technické podpory společnosti Cepheid jsou uvedeny na našem webu: www.cepheid.com/en/support/contact-us



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefon: + 33 563 825 300

Fax: + 33 563 825 301

Údaje o dovozci pro EU a Švýcarsko.

Cepheid Netherlands BV
1e Tochtweg 11
2913LN
Nieuwerkerk aan den IJssel
Netherlands

Cepheid Switzerland GmbH
Zurcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland

16 Historie revizí

Popis změn: 301-5224 Rev. D na 302-6233 Rev. A

Účel: Zajištění shody s požadavky nařízení (EU) 2017/746

Část	Popis změny
1	Část byla aktualizována na „Účel použití“ a byly přidány podčásti „Určené použití“ a „Zamýšlený uživatel/prostředí“
2	Byla přidána nová část „Princip provozu“
4	Část byla aktualizována
5	Byl přidán odkaz na bezpečnostní list
7	Část byla rozšířena
9	Byl aktualizován postup přípravy sklíčka/ruličky
10	Byl aktualizován postup odstranění tkáně ze sklíčka
11	Byl aktualizován postup zpracování tkáně FFPE
12	Byl aktualizován postup zpracování tkáně FFPE s koncentrovaným lyzátem
15	Byly aktualizovány informace o technické pomoci
16	Byla přidána část „Historie revizí“