

Xpert[®] FFPE Lysis Kit

REF GXFFPE-LYSIS-CE-10

Uputstvo za upotrebu

IVD **CE**

Obaveštenja o zaštitnim znakovima, patentima i autorskom pravu

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[®], Cepheid logotip, GeneXpert[®] i Xpert[®] su zaštitni znakovi kompanije Cepheid, registrovani u SAD-u i drugim zemljama.

Svi ostali zaštitni znakovi su vlasništvo njihovih vlasnika.

KUPOVINA OVOG PROIZVODA PRENOSI KUPCU NEPRENOSIVO PRAVO DA GA KORISTI U SKLADU SA OVIM UPUTSTVOM ZA UPOTREBU. NIKAKVA DRUGA PRAVA SE NE PRENOSE IZRIČITO, IMPLIKACIJOM ILI ZABRANOM. ŠTAVIŠE, NIKAKVA PRAVA NA DALJU PRODAJU SE NE DOBIJAJU KUPOVINOM OVOG PROIZVODA.

© 2016-2022 Cepheid.

Za opis promena pogledajte Odeljak 16, Istoriju revizija.

Xpert[®] FFPE Lysis Kit

Medicinsko sredstvo za *in vitro* dijagnostiku

1 Namena

1.1 Namena

Xpert[®] FFPE Lysis Kit je osmišljen za lizu tkiva koje je fiksirano u formalinu i obloženo parafinom (FFPE) i očuvanje nukleinskih kiselina za narednu GeneXpert[®] analizu.

1.2 Predviđeni korisnik/okruženje

Xpert FFPE Lysis Kit je namenjen izvođenju od strane obučениh korisnika u laboratorijskim uslovima.

2 Princip rada

Tkivo fiksirano u formalinu i obloženo parafinom (FFPE) (iz smotuljka ili stakalca) postavlja se u epruvetu zajedno sa preporučenim zapreminama reagensa za lizu fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE) i proteinaze K iz Xpert FFPE Lysis Kit. Uzorak se zatim inkubira u bloku za zagrevanje na 80°C tokom približno 30 minuta. Tokom ove inkubacije, dešava se sledeće:

1. Zagrejani rastvor počinje da topi parafinski vosak.
2. Reagens za lizu vrši reverziju unakrsnog vezivanja proteina, formiranih tokom procedure fiksiranja u formalinu.
3. Proteinaza K vrši digestiju proteina i inaktivise nukleaze (RN-aze & DN-aze) koje bi inače razložile DNK i RNK.

Na kraju se dodaje etanol u uzorak, pa se onda direktno u određenu GeneXpert patronu dodaje preporučena zapremina pripremljenog lizata uzorka.

3 Priloženi materijali

Xpert FFPE Lysis Kit (1 komplet, dovoljan za pripremu 10 lizata)

Svaki komplet sadrži:

- 1 kesu koja sadrži 10 x 1,5 ml epruveta
- 1 kesu koja sadrži 10 x 5 ml bočica
- 1 bočicu koja sadrži 13 ml doziranog reagensa za lizu fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE)
- 1 epruveta koja sadrži 250 µl doziranog reagensa za proteinazu K

4 Materijali i oprema koja je potrebna, ali nije obezbeđena

- Mikrotom
- Jednokratne britvice ili sklapeli (za makrodisekciju)
- Pipete i vrhovi filter pipete, pogodni za precizni prenos 5 µl, 20 µl, 260 µl i 600 µl
- Blok za zagrevanje, pogodan za držanje epruveta za mikrocentrifugiranje od 1,5 ml (i držanje na temperaturi od 80°C)
- Stoni vorteks mikser
- Standardna stona mikrocentrifuga sa rotorom sa fiksiranim uglom, koja odgovara epruvetama za mikrocentrifugiranje od 1,5 ml

- ≥ 95% etanol gradusa reagensa
- Jednokratne rukavice
- Samolepljive nalepnice ili informacije za identifikaciju uzorka

5 Upozorenja i mere predostrožnosti

- Svim biološkim uzorcima treba rukovati uz standardne univerzalne mere predostrožnosti. Uzorcima treba da rukuje samo osoblje obučeno za rukovanje biološki opasnim materijalom.
- Rukujte svim uzorcima i reagensima kompleta koristeći odgovarajuće tehnike kako biste sprečili kontaminaciju RN-aze i/ili DN-aze, ili to sveli na minimum.
- Nemojte ponovo koristiti britvice za makrodisekciju, vrhove pipeta ili epruvete/bočice, kako biste izbegli unakrsnu kontaminaciju tokom rukovanja uzorkom.
- Epruvete sa reagensima koje su prosute ili cure treba baciti i ne koristiti.
- Pridržavajte se sigurnosnih procedura vaše ustanove za rad sa hemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima.
- Nekompletno uklanjanje (struganje) površine tumora sa stakalca za pripremu lizata fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE) može dovesti do nedovoljno materijala za analizu, a samim tim i do veće stope neodređenosti/**NEVAŽEĆI (INVALID)** od očekivane kad se koriste Xpert analize.
- Pogledajte Xpert FFPE Lysis Kit List sa bezbednosnim podacima (SDS) koji je dostupan na mreži na www.cepheidinternational.com za detalje o bezbednosti i informacije o odlaganju komponenti kompleta za lizu fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE) u otpad. Relevantne informacije iz SDS date su u nastavku.
 - Otpad od proizvoda – Odlagati sadržaj i/ili kontejner(e) u skladu sa lokalnim, regionalnim, nacionalnim i/ili internacionalnim propisima.
 - Otpad od pakovanja – Odlagati sadržaj i/ili kontejner(e) u skladu sa lokalnim, regionalnim, nacionalnim i/ili internacionalnim propisima.

6 Opasnosti od hemikalija

Obaveštenje o opasnosti: H319 Izaziva ozbiljnu iritaciju oka

Obaveštenja o merama predostrožnosti:

- P264: Temeljno oprati nakon rukovanja
- P280: Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu oděcu/zaštitu za oči/zaštitu za lice
- P302+P351+P338: AKO DOSPE U OČI: Pažljivo ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktna sočiva, ukoliko postoje i ukoliko je to moguće učiniti. Nastaviti sa ispiranjem.
- P337+P313: Ako iritacija oka ne prolazi: Potražiti medicinski savet, mišljenje.

7 Zahtevi za čuvanje kompleta

Xpert FFPE Lysis Kit se mora čuvati na temperaturi od 2 - 28°C i iskoristiti pre njegovog isteka roka trajanja (pogledajte oznaku na spoljašnjoj kutiji kompleta). Komplet se može zatvoriti i ponovo otvoriti za dodatnu obradu uzoraka u roku od 8 nedelja nakon prvog otvaranja.

8 Zahtevi za tkivo fiksirano u formalinu i obloženo parafinom (FFPE)

1. Uzorci moraju biti fiksirani samo u 10% neutralnom puferovanom formalinu (NBF), u toku 6 do 72 sata, kako bi mogli biti testirani pomoću bilo koje Xpert analize koja zahteva RNK ili DNK iz tkiva fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE).
2. Neka tkiva fiksirana u formalinu i obložena parafinom (FFPE) starija od 10 godina možda su nedovoljnog kvaliteta za GeneXpert analizu.
3. Patolog treba da odabere blok tkiva/tumora fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE) sa najvećom površinom vidljivog prihvatljivog tkiva/tumora za analizu.

4. Xpert analiza zahteva neobojeno tkivo postavljeno na stakalcu za obradu. Ako je potrebna makrodisekcija, koristite obližnje H&E obojeno stakalce iz bloka tumora fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE) kao vodič, kako biste osigurali da je površina tumora koja je identifikovana na H&E obojenom stakalcu, reprezentativna površina tumora na neobojenom stakalcu.
5. Pogledajte uputstvo u pakovanju Xpert analize za dodatne informacije.

9 Priprema stakalca/smotuljka

Priprema tkiva fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE) pomoću ovog kompleta za lizu zahteva isečak (isečke) neobojenog tkiva postavljenog na stakalcu ili smotuljak (smotuljke) za obradu, kao i obližnje H&E obojeno stakalce iz istog bloka tkiva.

1. Pomoću mikrotoma, isecite isečak debljine 4 do 5 µm za H&E bojenje.
2. Isecite obližnji isečak debljine 4 do 5 µm, ili smotuljak, za upotrebu u kompletu za lizu fiksiranom u formalinu i obloženom parafinom (FFPE).
 - Za uzorke koji zahtevaju više stakalaca/smotuljaka kako bi ispunili minimalne zahteve za Xpert analizu, sva stakalca/smotuljci moraju se zajedno obraditi.
3. Da biste pripremili isečak/isečke tkiva, sledite standardne histološke tehnike.
 - Pobrinite se za to da iseči tkiva budu u potpunosti suvi.
 - Stakalce sa isečkom (isečcima) za lizu fiksirane u formalinu i obložene parafinom (FFPE) treba čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i obraditi u roku od dve nedelje nakon pripreme. Međutim, sveži iseči će dati najbolji kvalitet i najpouzdanije rezultate, jer se mRNK brže razlaže na stakalcima sa isečcima koji su izloženi vazduhu, nego u blokovima fiksiranim u formalinu i obloženim parafinom (FFPE).
4. Da biste pripremili smotuljak (smotuljke) tkiva, sledite korake u nastavku.
 - Postavite smotuljak (smotuljke) u priloženu epruvetu za lizu od 1,5 ml. Obeležite epruvetu za svaki uzorak koji treba obraditi.
 - Smotuljak (smotuljci) u epruveti od 1,5 ml treba čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i obraditi u roku od 2 nedelje nakon pripreme.

10 Uklanjanje tkiva sa stakalca

1. Obeležite epruvetu za lizu od 1,5 ml (priložena) za svaki uzorak koji treba obraditi.
2. Ako makrodisekcija nije potrebna:
 - a. Pomoću nove britvice ili skalpela za svaki uzorak koji treba obraditi, u potpunosti uklonite (sastružite) ceo isečak tkiva sa stakalca i prebacite ga u obeleženu epruvetu za lizu od 1,5 ml.
 - b. Isečak (isečke) u epruveti od 1,5 ml treba čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i obraditi u roku od 2 nedelje.
3. Ako je potrebna makrodisekcija:
 - a. Pregledajte H&E obojeno stakalce (patolog). Identifikujte (i konturišite) površinu tumora za analizu. Pogledajte uputstvo u pakovanju za Xpert analizu za potreban broj stakalaca, ili zahtev za minimalnu tumorsku celularnost.
 - b. Priprema za makrodisekciju (patolog). Konturišite površinu tumora koja će se koristiti za analizu na zadnjoj strani neobojenog stakalca, tako što ćete ga poravnati sa odgovarajućim H&E obojenim stakalcem i preneti konturisanu površinu.
 - c. Obavite makrodisekciju (patolog ili tehničar). Pomoću nove britvice ili skalpela za svaki uzorak koji treba obraditi, u potpunosti uklonite (sastružite) konturisanu invazivno tumorsko tkivo sa stakalca (pogledajte Sliku 1) i prebacite ga u obeleženu epruvetu za lizu od 1,5 ml.
 - d. Makrodisektovan isečak (isečke) u epruveti od 1,5 ml treba čuvati na temperaturi od 2°C do 8°C i obraditi u roku od 2 nedelje.



Slika 1. Primeri pravilnog (preporučenog) i nepravilnog (nepreporučenog) uklanjanja tkiva sa stakalca

A	Referentno H&E obojeno stakalce
B	Nije preporučeno (uklonjeno je nedovoljno tkiva)
C	Preporučeno

11 Obrada tkiva fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE)

1. Dodajte 1200 µl (1,2 ml) reagensa za lizu fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE) i 20 µl proteinaze K u epruvetu koja sadrži uzorak fiksiran u formalinu i obložen parafinom (FFPE), a zatim zatvorite poklopac.
2. Promešajte uzorak u vorteks mešalici najmanje 10 sekundi, zatim kratko pulsirajte uzorak (da biste uklonili tečnost sa poklopca).
3. Inkubirajte uzorak najmanje 30 minuta u bloku za zagrevanje koji je prethodno zagrejan na 80°C.
4. Nakon inkubacije na 80°C, promešajte uzorak u vorteks mešalici najmanje 10 sekundi, a zatim ga kratko pulsirajte.
5. Pomoću pipete prenesite celokupan uzorak (~1,2 ml) u obeleženu bočicu za uzorak od 5 ml.
6. Dodajte 1200 µl >95% etanola u uzorak i zatvorite poklopac.
7. Promešajte uzorak u vorteks mešalici najmanje 15 sekundi.

12 Obrada tkiva fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE) – Koncentrovani lizat
















Sledite protokol ako je potrebno još koncentrovanog lizata zbog nedovoljnog uzorka (ovo treba razmotriti za površinu tumora $\leq 6 \times 1 \text{ mm}^2$ na sastruganom stakalcu). Pogledajte uputstvo u pakovanju Xpert analize za dodatne informacije.

1. Dodajte 260 µl reagensa za lizu fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE) i 5µl proteinaze K u obeleženu epruvetu od 1,5 ml, koja sadrži uzorak fiksiran u formalinu i obložen parafinom (FFPE), a zatim zatvorite poklopac.
2. Promešajte uzorak u vorteks mešalici najmanje 10 sekundi, zatim kratko pulsirajte uzorak (da biste uklonili tečnost sa poklopca).
3. Inkubirajte uzorak najmanje 30 minuta u bloku za zagrevanje koji je prethodno zagrejan na 80°C.
4. Nakon inkubacije na 80°C, promešajte uzorak u vorteks mešalici najmanje 10 sekundi, a zatim ga kratko pulsirajte.
5. Dodajte 260 µl $\geq 95\%$ etanola u istu epruvetu za lizu od 1,5 ml i zatvorite poklopac.
6. Promešajte uzorak u vorteks mešalici najmanje 10 sekundi, a zatim ga kratko pulsirajte.

13 Skladištenje i transport uzorka

Pripremljeni lizat sa etanolom treba transportovati u laboratoriju na temperaturi od 2°C do 8°C, ako testiranje treba obaviti u roku od 1 nedelje. Ako analizu treba obaviti kasnije, lizat fiksiran u formalinu i obložen parafinom (FFPE) je stabilan i može se čuvati do 4 nedelje na temperaturi od $\leq -20^\circ\text{C}$ pre testiranja.

14 Tabela simbola

Simbol	Značenje
	Kataloški broj
	CE oznaka – Evropska usklađenost
	Sadrži dovoljno za n testova
	Proizvođač
	Zemlja proizvodnje
	Ograničenje temperature
	Serijski kod
	Pogledajte uputstvo za upotrebu
	Biološki rizici
	<i>In vitro</i> dijagnostičko medicinsko sredstvo
	Ovlašćeni predstavnik u Evropskoj zajednici
	Ne koristiti ponovo
	Oprez
	Upozorenje
	Rok upotrebe

15 Tehnička pomoć

Sjedinjene Države

Telefon: + 1 888 838 3222

I-mejl: techsupport@cepheid.com

Francuska

Telefon: + 33 563 825 319

I-mejl: support@cepheideurope.com

Informacije za kontakt sa svim kancelarijama službe tehničke podrške kompanije Cepheid dostupne su na našem veb-sajtu: www.cepheid.com/en/support/contact-us



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191

Faks: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefon: + 33 563 825 300

Faks: + 33 563 825 301

Detalji o uvozniku za EU/Švajcarsku

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

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

16 Istorija revizija

Opis promena: 301-5224 Rev. D u 302-6233 Rev. A

Svrha: Usklađivanje sa zahtevima Propisa (EU) 2017/746

Odeljak	Opis promene
1	Ažuriran je odeljak „Namena” i dodati su pododeljci „Namena” i „Predviđeni korisnik/okruženje”
2	Dodat je novi odeljak „Princip rada”
4	Ažuriran je odeljak
5	Dodate su refernce u SDS
7	Proširen je odeljak
9	Ažurirana je procedura za pripremu stakalca/smotuljka
10	Ažurirana je procedura za uklanjanje tkiva sa stakalca
11	Ažurirana je procedura za obradu tkiva fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE)
12	Ažurirana je procedura za obradu tkiva fiksiranog u formalinu i obloženog parafinom (FFPE) pomoću koncentrovanog lizata
15	Ažurirane su informacije o tehnočkoj pomoći
16	Dodat je odeljak „Istorija revizija”