

Xpert[®] FFPE Lysis Kit

REF GXFFPE-LYSIS-CE-10

Gebrauchsanweisung

IVD **CE**

Marken-, Patent- und Urheberschutzangaben

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[®], das Cepheid-Logo, GeneXpert[®] und Xpert[®] sind Marken von Cepheid, die in den USA und anderen Ländern eingetragen sind.

Alle anderen Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

MIT DEM ERWERB DIESES PRODUKTS WIRD DEM KÄUFER DAS NICHT ÜBERTRAGBARE RECHT ZU SEINER VERWENDUNG ENTSPRECHEND DER VORLIEGENDEN GEBRAUCHSANWEISUNG GEWÄHRT. ES WERDEN KEINE ANDEREN RECHTE ÜBERTRAGEN, WEDER AUSDRÜCKLICH NOCH STILLSCHWEIGEND ODER DULDEND. DARÜBER HINAUS GEHT AUS DEM ERWERB DIESES PRODUKTS KEIN RECHT DES WEITERVERKAUFS HERVOR.

© 2016-2022 Cepheid.

Beschreibung der Änderungen siehe Abschnitt 16 Revisionsverlauf.

Xpert[®] FFPE Lysis Kit

In-vitro-Diagnostikum

1 Zweckbestimmung

1.1 Verwendungszweck

Das Xpert[®] FFPE Lysis Kit wurde entwickelt, um mit Formalin fixiertes und in Paraffin eingebettetes (Formalin-Fixed Paraffin Embedded, FFPE) Gewebe zu lysieren und Nukleinsäuren zur weiteren GeneXpert[®]-Analyse zu konservieren.

1.2 Vorgesehene Anwender/Umgebung

Das Xpert FFPE Lysis Kit ist zur Durchführung durch geschultes Personal im Labor vorgesehen.

2 Funktionsprinzip

FFPE-Gewebe (von einem Scroll oder Objektträger) wird zusammen mit den empfohlenen Volumina an FFPE-Lysereagenz und Proteinase K aus dem Xpert FFPE Lysis Kit in ein Röhrchen gegeben. Die Probe wird anschließend in einem Heizblock bei 80 °C etwa 30 Minuten lang inkubiert. Während dieser Inkubation geschieht Folgendes:

1. Die erwärmte Lösung beginnt, das Paraffinwachs zu schmelzen.
2. Das Lysereagenz löst die Protein-Quervernetzung, die sich während des Fixierungsverfahrens mit Formalin gebildet hat, wieder auf.
3. Die Proteinase K verdaut Proteine und inaktiviert Nukleasen (RNasen und DNasen), die andernfalls die DNA und RNA abbauen könnten.

Zuletzt wird schließlich Ethanol der Probe zugegeben und das empfohlene Volumen des hergestellten Probenlysats wird direkt in eine dafür vorgesehene GeneXpert-Kartusche gegeben.

3 Enthaltene Materialien

Xpert FFPE Lysis Kit (1 Kit, ausreichend zur Herstellung von 10 Lysaten)

Jedes Kit enthält:

- 1 Beutel mit 10 1,5-ml-Röhrchen
- 1 Beutel mit 10 5-ml-Fläschchen
- 1 Flasche mit 13 ml Bulk-FFPE-Lysereagenz
- 1 Röhrchen mit 250 µl Bulk-Proteinase-K-Reagenz

4 Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien und Ausrüstung

- Mikrotom
- Einweg-Rasierklingen oder -Skalpelle (zur Makrodissektion)
- Pipetten und Pipettenspitzen mit Filter, die sich zur genauen Übertragung von 5 µl, 20 µl, 260 µl und 600 µl eignen

- Heizblock, der sich zur Aufnahme von 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen eignet (bei gleichbleibender Temperatur von 80 °C)
- Vortex-Mixer für Labortisch
- Standardmikrozentrifuge für Labortisch mit unbeweglichem Winkelrotor für 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen
- ≥95%iges Ethanol von Reagenzienqualität
- Einweghandschuhe
- Selbstklebeetiketten oder Angaben zur Probenidentifikation

5 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Alle biologischen Proben sollten mit den üblichen allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen behandelt werden. Der Umgang mit Proben sollte Personen vorbehalten bleiben, die eine Ausbildung zum Umgang mit biologisch gefährlichen Materialien erhalten haben.
- Alle Proben- und Kitreagenzien müssen unter Anwendung geeigneter Techniken gehandhabt werden, um eine RNase- und/oder DNase-Kontamination zu vermeiden bzw. zu minimieren.
- Mikrodissektionsklingen, Pipettenspitzen und Röhrchen/Fläschchen dürfen nicht wiederverwendet werden, um eine Kreuzkontamination bei der Handhabung der Proben zu vermeiden.
- Ausgelaufene oder undichte Reagenzröhrchen sind zu entsorgen und nicht zu verwenden.
- Es sind die Sicherheitsverfahren der jeweiligen Institution für den Umgang mit Chemikalien und die Handhabung von biologischen Proben zu beachten.
- Das unvollständige Entfernen (Abschaben) des Tumoreals vom Objektträger zur Vorbereitung des FFPE-Lysats kann zu einer unzureichenden Menge an Material für den Assay und somit zu einer höheren Rate unbestimmter/als **UNGÜLTIG (INVALID)** ausgegebener Ergebnisse mit Xpert-Assays führen, als zu erwarten ist.
- Ausführliche Informationen zu Sicherheit und Entsorgung von FFPE-Lyse-Kit-Bestandteilen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt (SDB) zum Xpert FFPE Lysis Kit, das online unter www.cepheidinternational.com zur Verfügung steht. Nachstehend sind relevante Informationen aus dem SDB aufgeführt.
 - Produktabfall – Inhalte und/oder Behälter in Übereinstimmung mit den örtlichen, regionalen, nationalen und/oder internationalen Vorschriften entsorgen.
 - Verpackungsabfall – Inhalte und/oder Behälter in Übereinstimmung mit den örtlichen, regionalen, nationalen und/oder internationalen Vorschriften entsorgen.

6 Chemische Gefahren

Gefahrenhinweis: H319 Verursacht schwere Augenreizung

Sicherheitshinweise:

- P264: Nach Gebrauch gründlich waschen
- P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen
- P302+P351+P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.
- P337+P313: Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

7 Lagerbedingungen für das Kit

Das Xpert FFPE Lysis Kit muss bei 2 °C bis 28 °C aufbewahrt und vor Ablauf des Verfallsdatums (siehe Etikett außen am Kit) verwendet werden. Das Kit kann wieder verschlossen und innerhalb von 8 Wochen nach dem ersten Öffnen erneut für eine weitere Bearbeitung von Proben geöffnet werden.

8 Gewebevoraussetzungen für FFPE

1. Für Tests mit allen Xpert-Assays, bei denen RNA oder DNA aus FFPE-Gewebe gewonnen wird, müssen die Proben in nur 10%igem neutralen, gepufferten Formalin (Neutral Buffered Formalin, NBF) 6 bis 72 Stunden lang fixiert werden.
2. Die Qualität einiger FFPE-Gewebe, die älter als 10 Jahre sind, ist möglicherweise unzureichend für eine GeneXpert-Analyse.
3. Der Pathologe sollte den FFPE-Gewebe-/Tumorblock mit dem größten sichtbaren, für den Assaydurchlauf akzeptablen Bereich wählen.
4. Der Xpert-Assay erfordert ungefärbtes, auf Objektträger aufgetragenes Gewebe zur Verarbeitung. Sollte eine Makrodissektion erforderlich sein, benutzen Sie einen benachbarten, mit H&E gefärbten Objektträger des FFPE-Tumorblocks als Richtlinie, um sicherzustellen, dass der Tumorbereich auf dem mit H&E gefärbten Objektträger dem Tumorbereich auf dem ungefärbten Objektträger entspricht.
5. Zusätzliche Informationen finden Sie in der Packungsbeilage des Xpert-Assays.

9 Herstellen der Objektträger/Scrolls

Die Herstellung von FFPE-Gewebe mit dem Lyse-Kit erfordert einen oder mehrere ungefärbte, auf Objektträger aufgebrachte Gewebeschnitte bzw. einen oder mehrere Scrolls zur Verarbeitung sowie einen benachbarten mit H&E gefärbten Objektträger mit Gewebe vom selben Gewebblock.

1. Schneiden Sie einen 4–5 µm dicken Gewebeteil mit dem Mikrotom für die H&E-Färbung ab.
2. Schneiden Sie einen benachbarten 4–5 µm dicken Gewebeteil (oder Scroll) zur Verwendung im FFPE-Lyse-Kit ab.
 - Bei Proben, bei denen mehrere Schnitte/Scrolls erforderlich sind, um die Mindestbedingungen für ein Xpert-Assay zu erfüllen, müssen alle Schnitte/Scrolls zusammen verarbeitet werden.
3. Befolgen Sie zur Herstellung von Gewebeschnitten histologische Standardtechniken.
 - Vergewissern Sie sich, dass die Gewebeschnitte vollständig trocken sind.
 - Objektträgerschnitte für die FFPE-Lyse sollten bei 2 °C bis 8 °C aufbewahrt und innerhalb von zwei Wochen nach der Herstellung verarbeitet werden. Frische Schnitte weisen jedoch die höchste Qualität auf und bringen die verlässlichsten Ergebnisse, da mRNA in Schnitten auf Objektträgern, die Luft ausgesetzt sind, schneller zerfällt als in FFPE-Blocks.
4. Befolgen Sie folgende Schritte zur Herstellung von Gewebe-Scrolls.
 - Legen Sie den/die Scroll(s) in ein 1,5-ml-Lyseröhrchen (mitgeliefert). Beschriften Sie die Röhrchen für alle zu verarbeitenden Proben.
 - Scrolls in 1,5-ml-Röhrchen sollten bei 2 °C bis 8 °C aufbewahrt und innerhalb von 2 Wochen nach Herstellung verarbeitet werden.

10 Entfernung des Gewebes vom Objektträger

1. Beschriften Sie für jede zu verarbeitende Probe ein 1,5-ml-Lyseröhrchen (mitgeliefert).
2. Falls eine Makrodissektion nicht erforderlich ist:
 - a. Entfernen Sie (durch Abschaben) mit einer für jede Gewebeprobe neuen Rasierklinge bzw. einem Skalpell den gesamten Gewebeschnitt vollständig vom Objektträger und transferieren Sie ihn in ein beschriftetes 1,5-ml-Lyseröhrchen.
 - b. Schnitte in 1,5-ml-Röhrchen sollten bei 2 °C bis 8 °C aufbewahrt und innerhalb von 2 Wochen verarbeitet werden.
3. Falls eine Makrodissektion erforderlich ist:
 - a. Untersuchen Sie den mit H&E gefärbten Objektträger (Pathologe). Finden Sie den Tumorbereich auf (und konturieren sie ihn) für den Assay. Die erforderliche Anzahl Objektträger bzw. die Mindest-Tumorzelldichte finden Sie in der Packungsbeilage für den Xpert-Assay.
 - b. Bereiten Sie die Makrodissektion vor (Pathologe). Markieren Sie den für den Assay vorgesehenen Tumorbereich auf der Rückseite des/der ungefärbten Objektträger(s) durch Angleichen an den/die entsprechenden mit H&E gefärbten Objektträger und transponieren Sie den markierten Bereich.
 - c. Führen Sie eine Makrodissektion durch (Pathologe oder Laborant). Entfernen Sie (durch Abschaben) mit einer für jede Gewebeprobe neuen Rasierklinge bzw. einem Skalpell das markierte invasive Tumorgewebe vollständig vom Objektträger (siehe Abbildung 1) und transferieren Sie es in das beschriftete 1,5-ml-Lyseröhrchen.

- d. Durch Makrodissektion erhaltene Schnitte in 1,5-ml-Röhrchen sollten bei 2 °C bis 8 °C aufbewahrt und innerhalb von 2 Wochen verarbeitet werden.



Abbildung 1. Beispiele für korrekte (empfohlene) und falsche (nicht empfohlene) Gewebeentfernung vom Objektträger

A	Mit H&E gefärbter Objektträger zum Vergleich
B	Nicht empfohlen (nicht genügend Gewebe entfernt)
C	Empfohlen

11 FFPE-Gewebeverarbeitung

1. Geben Sie 1200 µl (1,2 ml) FFPE-Lysereagenz und 20 µl Proteinase K in das Röhrchen mit der FFPE-Probe und verschließen Sie das Röhrchen anschließend.
2. Vortexen Sie die Probe mindestens 10 Sekunden lang und pulsentrifugieren Sie sie anschließend kurz (um Flüssigkeit aus dem Deckel zu entfernen).
3. Inkubieren Sie die Probe mindestens 30 Minuten lang in einem auf 80 °C vorgewärmten Heizblock.
4. Vortexen Sie die Probe nach der 80-°C-Inkubation mindestens 10 Sekunden lang und pulsentrifugieren Sie sie anschließend kurz.
5. Transferieren Sie die gesamte Probe (~1,2 ml) mit einer Pipette in ein beschriftetes 5-ml-Probenfläschchen.
6. Geben Sie 1200 µl >95%iges Ethanol zur Probe und verschließen Sie das Fläschchen.
7. Vortexen Sie die Probe mindestens 15 Sekunden lang.

12 FFPE-Gewebeverarbeitung – konzentriertes Lysat
















Befolgen Sie folgendes Protokoll, falls aufgrund einer unzureichenden Probe ein konzentrierteres Lysat erwünscht ist (dies sollte bei einem Tumorbereich von $\leq 6 \times 1 \text{ mm}^2$ auf einem abgeschabten Objektträger in Erwägung gezogen werden). Zusätzliche Informationen finden Sie in der Packungsbeilage des Xpert-Assays.

1. Geben Sie 260 µl FFPE-Lysereagenz und 5 µl Proteinase K in ein beschriftetes 1,5-ml-Röhrchen mit der FFPE-Probe und verschließen Sie das Röhrchen anschließend.
2. Vortexen Sie die Probe mindestens 10 Sekunden lang und pulsentrifugieren Sie sie anschließend kurz (um Flüssigkeit aus dem Deckel zu entfernen).
3. Inkubieren Sie die Probe mindestens 30 Minuten lang in einem auf 80 °C vorgewärmten Heizblock.
4. Vortexen Sie die Probe nach der 80-°C-Inkubation mindestens 10 Sekunden lang und pulsentrifugieren Sie sie anschließend kurz.
5. Geben Sie 260 µl $\geq 95\%$ iges Ethanol in dasselbe 1,5-ml-Lyseröhrchen und verschließen Sie es.
6. Vortexen Sie die Probe mindestens 10 Sekunden lang und pulsentrifugieren Sie sie anschließend kurz.

13 Lagerung und Transport von Proben

Hergestelltes Lysat mit Ethanol sollte bei 2 °C bis 8 °C ins Labor transportiert werden, sofern der Test innerhalb von 1 Woche durchgeführt wird. Sollte der Assay später durchgeführt werden, bleibt das FFPE-Lysat bei $\leq -20 \text{ °C}$ stabil und kann so vor dem Test bis zu 4 Wochen aufbewahrt werden.

14 Symbolerklärung

Symbol	Bedeutung
	Bestellnummer
	CE-Kennzeichnung – Einhaltung der EU-Richtlinien
	Inhalt reicht aus für n Tests
	Hersteller
	Herstellungsland
	Temperaturbegrenzung
	Chargencode
	Gebrauchsanweisung beachten
	Biologische Risiken
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Nicht wiederverwenden
	Vorsicht
	Warnung
	Verfallsdatum

15 Technische Unterstützung

Vereinigte Staaten von Amerika

Telefon: + 1 888 838 3222

E-Mail: techsupport@cepheid.com

Frankreich

Telefon: + 33 563 825 319

E-Mail: support@cepheideurope.com

Die Kontaktinformationen aller Vertretungen des technischen Kundendienstes von Cepheid finden Sie auf unserer Website: 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

Angaben zum Importeur für die EU/Schweiz

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

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

16 Revisionsverlauf

Beschreibung der Änderung: Von 301-5224, Rev. D auf 302-6233, Rev. A

Zweck: Anpassung an die Anforderungen der Verordnung (EU) 2017/746

Abschnitt	Beschreibung der Änderung
1	Abschnitt wurde in „Zweckbestimmung“ geändert und Unterabschnitte „Verwendungszweck“ und „Vorgesehene Anwender/Umgebung“ wurden hinzugefügt.
2	Neuer Abschnitt „Funktionsprinzip“ wurde hinzugefügt.
4	Abschnitt aktualisiert.
5	Verweis auf SDB wurde hinzugefügt.
7	Abschnitt wurde erweitert.
9	Verfahren zur Herstellung von Objektträgern/Scrolls wurde aktualisiert.
10	Verfahren zur Entfernung von Gewebe von einem Objektträger wurde aktualisiert.
11	Verfahren zur FFPE-Gewebeverarbeitung wurde aktualisiert.
12	Verfahren zur FFPE-Gewebeverarbeitung mit konzentriertem Lysat wurde aktualisiert.
15	Informationen zur technischen Unterstützung wurden aktualisiert.
16	Abschnitt „Revisionsverlauf“ wurde hinzugefügt.