

Xpert[®] FFPE Lysis Kit

REF GXFFPE-LYSIS-CE-10

Notice d'utilisation

IVD **CE**

Déclarations sur les marques de commerce, les brevets et le droit d'auteur

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[®], le logo Cepheid, GeneXpert[®] et Xpert[®] sont des marques commerciales de Cepheid enregistrées aux États-Unis et dans d'autres pays.

Toutes les autres marques commerciales sont la propriété de leurs détenteurs respectifs.

L'ACHAT DE CE PRODUIT CONCÈDE À L'ACHETEUR LE DROIT NON TRANSFÉRABLE DE L'UTILISER CONFORMÉMENT À CETTE NOTICE D'UTILISATION AUCUN AUTRE DROIT N'EST CONCÉDÉ QUE CE SOIT EXPRESSÉMENT, DE FAÇON IMPLICITE OU PAR PRÉCLUSION. DE PLUS, AUCUN DROIT DE REVENTE N'EST CONCÉDÉ AVEC L'ACHAT DE CE PRODUIT.

© 2016-2022 Cepheid.

Voir Section 16, Historique des révisions pour une description des modifications.

Xpert[®] FFPE Lysis Kit

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

1 But prévu

1.1 Utilisation prévue

Le Xpert[®] FFPE Lysis Kit est destiné à être utilisé pour lyser des échantillons de tissu fixés au formol et inclus dans la paraffine (Formalin-Fixed Paraffin Embedded, FFPE) et préserver les acides nucléiques pour une analyse GeneXpert[®] ultérieure.

1.2 Utilisateur/environnement prévu

Le test Xpert FFPE Lysis Kit doit être réalisé par des utilisateurs qualifiés en laboratoire.

2 Principe de fonctionnement

Le tissu FFPE (à partir d'un ruban ou d'une lame) est placé dans un tube avec les volumes recommandés de réactif de lyse FFPE et de Protéinase K à partir de Xpert FFPE Lysis Kit. L'échantillon est ensuite incubé dans une enceinte chauffante à 80 °C pendant environ 30 minutes. Pendant cette incubation, les événements suivants se produisent :

1. La solution chauffée commence à faire fondre la paraffine.
2. Le réactif de lyse inverse la réticulation protéique formée au cours de la procédure de fixation au formol.
3. La protéinase K digère les protéines et inactive les nucléases (RNases et DNases) qui pourraient autrement dégrader l'ADN et l'ARN.

Enfin, de l'éthanol est ajouté ensuite à l'échantillon et le volume recommandé de lysat d'échantillon préparé est ajouté ensuite directement à une cartouche GeneXpert désignée.

3 Matériel fourni

Xpert FFPE Lysis Kit (1 kit, suffisant pour préparer 10 lysats)

Chaque kit contient :

- 1 sachet contenant 10 tubes de 1,5 ml
- 1 sachet contenant 10 flacons de 5 ml
- 1 flacon contenant 13 ml de réactif de lyse FFPE principal
- 1 tube contenant 250 µl de réactif Protéinase K principal

4 Matériel et équipement requis mais non fournis

- Microtome
- Lames de rasoir jetables ou scalpels (pour macrodissection)
- Pipettes et embouts de pipettes appropriés pour le transfert précis de volumes de 5 µl, 20 µl, 260 µl et 600 µl
- Bloc chauffant compatible avec des tubes pour microcentrifugeuse de 1,5 ml (et pouvant maintenir une température de 80 °C)
- Agitateur à vortex de paillasse

- Microcentrifugeuse de paillasse classique, avec rotor à angle fixe compatible avec des tubes pour microcentrifugeuse de 1,5 ml
- Éthanol de qualité réactif $\geq 95\%$
- Gants jetables
- Étiquettes adhésives ou informations d'identification des échantillons

5 Avertissements et mises en garde

- Les précautions universelles standard doivent être appliquées lors de la manipulation de tout échantillon biologique. Les échantillons ne doivent être manipulés que par du personnel formé à la manipulation des produits présentant un risque biologique.
- Utiliser des techniques appropriées lors de la manipulation des échantillons et des réactifs du kit pour éviter ou réduire au minimum tout risque de contamination par RNase et/ou DNase.
- Lors de la manipulation d'échantillons, ne pas réutiliser les lames de macrodissection, les embouts de pipette, les tubes ou flacons pour éviter tout risque de contamination croisée.
- Les tubes de réactif de transport renversés ou qui présentent une fuite ne peuvent pas être utilisés et doivent être éliminés.
- Les tubes de réactif ayant été renversés ou qui présentent une fuite ne doivent pas être utilisés et doivent être éliminés.
- Respecter les procédures de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Le retrait (grattage) incomplet de la région tumorale de la lame pour la préparation du lysat FFPE peut entraîner une quantité de matériel insuffisante pour le test et donc un taux de résultats indéterminés/**NON VALIDES (INVALID)** plus élevé que prévu avec les tests Xpert.
- Veuillez vous reporter à la fiche de données de sécurité Xpert FFPE Lysis Kit (FDS) disponible en ligne à l'adresse www.cepheidinternational.com pour des informations détaillées relatives à la sécurité et à l'élimination des composants du kit de lyse FFPE. Les informations pertinentes de la FDS sont fournies ci-dessous.
 - Déchets de produits - Éliminer le contenu et/ou le ou les récipients conformément aux réglementations locales, régionales, nationales, et/ou internationales.
 - Déchets d'emballage - Éliminer le contenu et/ou le ou les récipients conformément aux réglementations locales, régionales, nationales, et/ou internationales.

6 Risques chimiques

Phrase de risque: H319 - Provoque une sévère irritation des yeux

Conseils de prudence:

- P264 : Se laver soigneusement après manipulation
- P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage
- P302+P351+P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
- P337+P313 : Si l'irritation des yeux persiste : consulter un médecin.

7 Conditions de stockage du kit

Stocker le kit de lyse FFPE entre 2 °C et 28 °C. La date de péremption de tous les composants du kit de lyse figure sur l'étiquette de la boîte en carton extérieure. Le Xpert FFPE Lysis Kit doivent être stockés entre 2 et 28 °C et utilisés avant leur date de péremption (voir l'étiquette de la boîte en carton). Le kit peut être fermé et réouvert pour un traitement supplémentaire des échantillons dans les 8 semaines suivant son ouverture initiale.

8 Exigences relatives au tissu FFPE

1. Afin d'analyser l'ADN ou l'ARN provenant d'un échantillon de tissu FFPE à l'aide d'un test Xpert, l'échantillon doit avoir été fixé dans une solution de formaldéhyde 10 % neutre tamponnée pendant 6 à 72 heures.
2. La qualité de certains échantillons de tissu FFPE âgés de plus de 10 ans peut être insuffisante pour l'analyse GeneXpert.
3. L'anatomopathologiste doit sélectionner le bloc de tissu/tumeur FFPE ayant la plus grande surface de tissu/tumeur visiblement acceptable pour le test à exécuter.
4. Le tissu traité pour le test Xpert doit être monté sur lame et ne doit pas être coloré. S'il faut procéder à une macrodissection, utiliser une lame de tissu adjacent coloré à l'HE provenant du même bloc de tumeur FFPE comme référence afin de s'assurer que la zone tumorale identifiée sur la lame colorée à l'HE est représentative de la zone tumorale sur la lame non colorée.
5. Se reporter à la notice d'utilisation du test Xpert pour de plus amples informations.

9 Préparation des lames ou des rubans de coupes

Pour préparer des échantillons à partir de tissu FFPE à l'aide de ce kit de lyse, un ou plusieurs coupes montés sur lame ou rubans de coupes non colorés doivent être traités, et accompagnés d'une lame de tissu adjacent provenant du même bloc coloré à l'HE.

1. À l'aide d'un microtome, confectionner une coupe d'une épaisseur de 4 à 5 µm pour coloration HE.
2. Trancher une coupe ou un ruban adjacent(e) d'une épaisseur de 4 à 5 µm, pour une utilisation dans le kit de lyse FFPE.
 - Si, pour répondre aux exigences minimales du test Xpert, plusieurs coupes/rubans de coupes doivent être confectionnés pour un échantillon donné, tous les coupes/rubans de coupes doivent être traités ensemble.
3. Pour préparer la ou les coupes de tissu, suivre les techniques d'histologie standard.
 - S'assurer que les coupes de tissu sont complètement sèches.
 - La ou les coupes montées sur lame pour la lyse FFPE doivent être stockées entre 2 °C et 8 °C et traitées dans les deux semaines suivant leur préparation ; cependant, les coupes fraîchement coupées donneront des résultats de la plus haute qualité et les plus fiables, car l'ARNm se dégrade plus rapidement sur les sections de diapositives exposées à l'air que dans les blocs FFPE.
4. Suivre les étapes ci-dessous pour préparer les rubans de coupes.
 - Placer le ou les rubans de coupes dans un des tubes de lyse de 1,5 ml fournis. Marquer l'identité de l'échantillon à être traité sur chaque tube.
 - Les rubans de coupes dans les tubes de 1,5 ml doivent être stockés entre 2 °C et 8 °C et traités dans les 2 semaines suivant leur préparation.

10 Extraction de tissu d'une lame

1. Étiqueter un tube de lyse de 1,5 ml (fourni) pour chaque échantillon à traiter.
2. Si aucune macrodissection n'est requise :
 - a. En utilisant une lame de rasoir neuve ou un scalpel neuf pour chaque échantillon de tissu à traiter, extraire (gratter) totalement la coupe de du tissu entier de la lame et la placer dans un tube de lyse de 1,5 ml étiqueté.
 - b. La ou les coupes placées dans un tube de 1,5 ml doivent être stockées entre 2 °C et 8 °C et traitées dans les 2 semaines suivantes.
3. Si une macrodissection est requise :
 - a. Examiner la lame colorée à l'HE (anatomopathologiste). Identifier (et marquer le contour) de la zone tumorale à utiliser pour le test. Se reporter à la notice d'utilisation du test Xpert pour connaître le nombre de lames ou la cellularité tumorale minimale nécessaire.
 - b. Préparer pour la macrodissection (anatomopathologiste). Marquer la zone tumorale à utiliser pour le test sur la face arrière de la lame ou des lames non colorées en les alignant avec la lame colorée à l'HE correspondante et en y transposant le contour de la zone identifiée.
 - c. Procéder à la macrodissection (anatomopathologiste ou technicien). En utilisant une lame de rasoir neuve ou un scalpel neuf pour chaque échantillon de tissu à traiter, extraire (gratter) totalement le tissu de tumeur invasive au contour délimité de la lame (voir la figure 1) et le placer dans le tube de lyse de 1,5 ml étiqueté.
 - d. La ou les coupes prélevées par macrodissection placées dans un tube de 1,5 ml doivent être stockées entre 2 °C et 8 °C et traitées dans les 2 semaines suivantes.

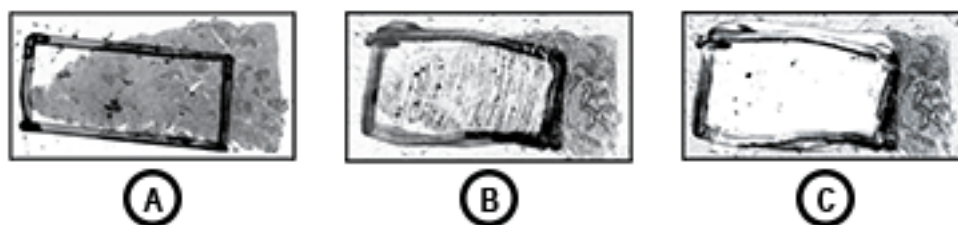


Figure 1. Exemple d'extraction de tissu correcte (recommandé) et incorrecte (non recommandé) d'une lame

A	Lame colorée à l'HE de référence
B	Non recommandé (tissu extrait insuffisant)
C	Matériel recommandé

11 Traitement des échantillons de tissu FFPE

1. Ajouter 1 200 µl (1,2 ml) de réactif de lyse FFPE et 20 µl de Protéinase K au tube contenant l'échantillon FFPE, puis fermer le bouchon.
2. Vortexer l'échantillon pendant au moins 10 secondes, puis centrifuger brièvement l'échantillon (pour éliminer le liquide du bouchon).
3. Incuber l'échantillon pendant au moins 30 minutes dans une enceinte chauffante préchauffée à 80 °C.
4. Après incubation à 80 °C, vortexer l'échantillon pendant au moins 10 secondes, puis centrifuger brièvement l'échantillon.
5. À l'aide d'une pipette, transférer la totalité de l'échantillon (~1,2 ml) dans un flacon étiqueté pour échantillon de 5 ml.
6. Ajouter 1 200 µl d'éthanol à > 95 % à l'échantillon et fermer le bouchon.
7. Vortexer l'échantillon pendant au moins 15 secondes.

12 Traitement des échantillons de tissu FFPE - lysat concentré
















Utiliser le protocole suivant si, en raison d'un échantillon peu abondant, il est nécessaire de concentrer le lysat (à envisager pour une surface de zone tumorale $\leq 6 \times 1 \text{ mm}^2$ prélevée par grattage sur la lame). Se reporter à la notice d'utilisation du test Xpert pour de plus amples informations.

1. Ajouter 260 µl de réactif de lyse FFPE et 5 µl de Protéinase K à un tube étiqueté de 1,5 ml contenant l'échantillon FFPE, puis fermer le bouchon.
2. Vortexer l'échantillon pendant au moins 10 secondes, puis centrifuger brièvement l'échantillon (pour éliminer le liquide du bouchon).
3. Incuber l'échantillon pendant au moins 30 minutes dans une enceinte chauffante préchauffée à 80 °C.
4. Après incubation à 80 °C, vortexer l'échantillon pendant au moins 10 secondes, puis centrifuger brièvement l'échantillon.
5. Ajouter 260 µl d'éthanol à $\geq 95 \%$ au même tube de lyse de 1,5 ml et fermer le bouchon.
6. Vortexer l'échantillon pendant au moins 10 secondes, puis centrifuger brièvement l'échantillon.

13 Conservation et transport des échantillons

S'il est prévu de réaliser le test dans un délai d'une semaine, le lysat préparé contenant de l'éthanol doit être transporté au laboratoire à une température entre 2 °C et 8 °C. Si le test doit être réalisé ultérieurement, le lysat FFPE est stable et peut être stocké pendant jusqu'à 4 semaines à $\leq -20 \text{ °C}$ avant la réalisation du test.

14 Tableau des symboles

Symbole	Signification
	Numéro de référence
	Marquage CE – Conformité européenne
	Quantité suffisante pour n tests
	Fabricant
	Pays de fabrication
	Limite de température
	Numéro de lot
	Consulter la notice d'utilisation
	Risques biologiques
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Mandataire dans la Communauté européenne
	Ne pas réutiliser
	Mise en garde
	Attention
	Date de péremption

15 Support technique

États-Unis

Téléphone : + 1 888 838 3222
E-mail : techsupport@cepheid.com

France

Téléphone : + 33 563 825 319
E-mail : support@cepheideurope.com

Les coordonnées de tous les bureaux du service support technique de Cepheid sont disponibles sur notre site Internet à l'adresse suivante : www.cepheid.com/en/support/contact-us



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Téléphone : + 1 408 541 4191

Fax : + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Téléphone : + 33 563 825 300

Fax : + 33 563 825 301

Détails sur les importateurs dans l'UE et en Suisse

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

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

16 Historique des révisions

Description des modifications : De 301-5224, Rév. D à 302-6233, Rév. A

But : respect des exigences du règlement (UE) 2017/746

Section	Description des modifications
1	Mise à jour de la section en « But prévu » et ajout des sous-sections « Utilisation prévue » et « Utilisateur/environnement prévu »
2	Ajout d'une nouvelle section « Principe de fonctionnement »
4	Mise à jour de la section
5	Ajout de la référence à la FDS
7	Développement de la section
9	Mise à jour de la procédure de préparation de la lame/du ruban
10	Mise à jour de la procédure de retrait du tissu de la lame
11	Mise à jour de la procédure de traitement des tissus FFPE
12	Mise à jour de la procédure de traitement des tissus FFPE avec du lysat concentré
15	Mise à jour des informations relatives à l'assistance technique
16	Ajout de la section « Historique de révision »