

# Xpert<sup>®</sup> FFPE Lysis Kit

**REF** GXFFPE-LYSIS-CE-10

Istruzioni per l'uso

**IVD** **CE**

## **Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright**

### **Trademark, Patents and Copyright Statements**

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> 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<sup>®</sup>, il logo Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> e Xpert<sup>®</sup> sono marchi di Cepheid, registrati negli USA e in altri Paesi. Tutti gli altri marchi di fabbrica sono di proprietà dei rispettivi titolari.

L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO CONCEDE ALL'ACQUIRENTE IL DIRITTO NON TRASFERIBILE DI UTILIZZARLO IN ACCORDO ALLE PRESENTI ISTRUZIONI PER L'USO. NESSUN ALTRO DIRITTO VIENE CONCESSO ESPRESSAMENTE, IMPLICITAMENTE O PER PRECLUSIONE. INOLTRE, CON L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO NON VIENE CONCESSO NESSUN DIRITTO ALLA RIVENDITA.

**© 2016-2022 Cepheid.**

Per una descrizione delle modifiche apportate, vedere Sezione 16, Cronologia delle revisioni.

# Xpert<sup>®</sup> FFPE Lysis Kit

---

Dispositivo medico diagnostico *in vitro*

## 1 Scopo previsto

### 1.1 Destinazione d'uso

Xpert<sup>®</sup> FFPE Lysis Kit è previsto per la lisi del tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE) e per la preservazione degli acidi nucleici per la successiva analisi GeneXpert<sup>®</sup>.

### 1.2 Utilizzatore/ambiente previsto

Xpert FFPE Lysis Kit deve essere eseguito in laboratorio da operatori appositamente formati.

## 2 Principio di funzionamento

Il tessuto FFPE (proveniente da un nastro o da un vetrino) viene posizionato in una provetta insieme ai volumi raccomandati di reagente per lisi FFPE e Proteinasi K da Xpert FFPE Lysis Kit. Il campione viene incubato in un termoblocco a 80 °C per circa 30 minuti. Durante l'incubazione, si verificano le seguenti condizioni:

1. La soluzione riscaldata inizia a sciogliere la paraffina;
2. il reagente di lisi inverte il cross-linking delle proteine formatosi durante la procedura di fissazione della formalina;
3. la Proteinasi K digerisce la proteina e disattiva le nucleasi (RNAsi e DNasi) che potrebbero altrimenti degradare il DNA e l'RNA.

Infine, si aggiunge etanolo al campione e il volume consigliato di lisato del campione preparato viene poi aggiunto direttamente a una cartuccia scelta di GeneXpert.

## 3 Materiali in dotazione

Xpert FFPE Lysis Kit (1 kit, sufficiente per la preparazione di 10 lisati)

Ogni kit contiene:

- 1 sacchetto contenente 10 provette da 1,5 ml
- 1 sacchetto contenente 10 flaconcini da 5 ml
- 1 flacone contenente 13 mL di reagente di lisi FFPE sfuso
- 1 provetta contenente 250 µl di reagente Proteinasi K sfuso

## 4 Materiali e apparecchiature necessari ma non forniti

- Microtomo
- Lame da rasoio monouso o bisturi (per la macrodissezione)
- Pipette e puntali con filtro idonei a trasferire accuratamente 5 µl, 20 µl, 260 µl e 600 µl
- Termoblocco in grado di accogliere provette per microcentrifuga da 1,5 ml (e di mantenere una temperatura di 80 °C)
- Miscelatore vortex da banco
- Microcentrifuga standard da banco con rotore ad angolo fisso in grado di accogliere provette per microcentrifuga da 1,5 ml

- Etanolo di grado reagente  $\geq 95\%$
- Guanti monouso
- Etichette adesive o informazioni di identificazione del campione

## 5 Avvertenze e precauzioni

- Tutti i campioni biologici devono essere trattati in base alle precauzioni universali standard. I campioni devono essere maneggiati esclusivamente da personale addestrato alla manipolazione di materiali biopercorosi.
- Maneggiare tutti i reagenti per campioni e i reagenti del kit impiegando tecniche appropriate per prevenire o ridurre al minimo la contaminazione da RNasi e/o DNasi.
- Non riutilizzare le lame per macrodissezione, i puntali o le provette/i flaconcini per evitare la contaminazione crociata durante la manipolazione dei campioni.
- Le provette con reagente che presentano fuoriuscite o perdite non devono essere usate e vanno smaltite.
- Attenersi alle procedure di sicurezza del proprio istituto per l'utilizzo e la manipolazione di sostanze chimiche e campioni biologici.
- L'asportazione incompleta (raschiamento) dell'area tumorale dal vetrino per la preparazione del lisato FFPE può rendere insufficiente il materiale per il saggio, determinando quindi un tasso più elevato del previsto di indeterminati/**NON VALIDI (INVALID)** con i saggi Xpert.
- Per le informazioni dettagliate di sicurezza e smaltimento per il kit di lisi FFPE, fare riferimento alla Xpert FFPE Lysis Kit Scheda dati di sicurezza (SDS) disponibile online all'indirizzo [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com). Le informazioni rilevanti provenienti dalla SDS sono fornite di seguito.
  - Rifiuti del prodotto - Smaltire prodotto e/o recipiente/i in conformità con normative locali, regionali, nazionali e/o internazionali.
  - Rifiuti di imballaggio - Smaltire prodotto e/o recipiente/i in conformità con normative locali, regionali, nazionali e/o internazionali.

## 6 Pericoli chimici

**Indicazioni di pericolo:** H319 – Provoca grave irritazione oculare.

**Consigli di prudenza:**

- P264: Lavare accuratamente dopo l'uso.
- P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
- P302+P351+P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
- P337+P313: Se l'irritazione degli occhi persiste: consultare un medico.

## 7 Requisiti per la conservazione dei kit

Xpert FFPE Lysis Kit deve essere conservato a 2-28 °C e utilizzato prima della data di scadenza (vedere l'etichettatura esterna del kit). Entro 8 settimane dopo l'apertura iniziale del kit, è possibile chiuderlo e riaprirlo per un ulteriore trattamento dei campioni.

## 8 Requisiti per il tessuto FFPE

1. I campioni devono essere stati fissati in soltanto il 10% di formalina neutra tamponata (NBF) per un periodo compreso fra 6 e 72 ore per poter essere analizzati con qualsiasi saggio Xpert che richieda RNA o DNA da tessuto FFPE.
2. La qualità di alcuni tessuti FFPE che risalgono a oltre 10 anni potrebbe non essere sufficiente per l'analisi GeneXpert.
3. Il patologo dovrà selezionare il blocchetto di tessuto/tumore FFPE con la più grande area di tessuto/tumore visibile accettabile per il saggio da eseguire.
4. Per eseguire il saggio Xpert è necessario disporre di tessuto non colorato montato su un vetrino. Se è necessaria la macrodissezione, utilizzare come guida un vetrino adiacente colorato con H&E appartenente al blocchetto di tumore

FFPE per assicurarsi che l'area tumorale identificata sul vetrino colorato con H&E sia rappresentativa dell'area tumorale sul vetrino non colorato.

5. Per ulteriori informazioni, consultare il foglietto illustrativo del saggio Xpert.

## 9 Preparazione dei vetrini/nastri

Per la preparazione dei tessuti FFPE con questo kit di lisi sono necessarie sezioni o nastri di tessuto non colorati montati su vetrini per il trattamento e un vetrino adiacente colorato con H&E proveniente dallo stesso blocchetto di tessuto.

1. Con un microtomo, tagliare una sezione spessa 4-5 µm per la colorazione con H&E.
2. Tagliare una sezione adiacente dello spessore di 4-5 µm, da utilizzare nel kit di lisi FFPE.
  - Per i campioni che richiedono più di una sezione/un nastro per soddisfare i requisiti minimi del saggio Xpert, tutte le sezioni/i nastri devono essere analizzati insieme.
3. Per preparare una o più sezioni di tessuto, seguire le tecniche istologiche standard.
  - Assicurarsi che le sezioni di tessuto siano completamente asciutte.
  - Le sezioni dei vetrini per la lisi FFPE devono essere conservate a 2-8 °C e trattate entro due settimane dalla preparazione; tuttavia con le sezioni tagliate di recente si otterranno i risultati più affidabili e di qualità più elevata, in quanto l'mRNA degrada più rapidamente nelle sezioni di vetrini esposte all'aria rispetto ai blocchi di FFPE.
4. Per la preparazione dei nastri di tessuto seguire i passaggi qui sotto.
  - Introdurre i nastri in una provetta di lisi da 1,5 ml fornita. Etichettare la provetta per ciascun campione da analizzare.
  - I nastri contenuti in una provetta da 1,5 ml devono essere conservati a una temperatura compresa fra 2 °C e 8 °C e analizzati entro 2 settimane dalla preparazione.

## 10 Rimozione del tessuto dal vetrino

1. Etichettare una provetta di lisi da 1,5 ml (fornita) per ciascun campione da analizzare.
2. Se la macrodissezione non è necessaria:
  - a. Con una lama da rasoio nuova o un bisturi per ciascun campione di tessuto da analizzare, rimuovere completamente (grattando) dal vetrino l'intera sezione di tessuto e trasferirla in una provetta di lisi da 1,5 ml etichettata.
  - b. Le sezioni contenute in una provetta da 1,5 ml devono essere conservate a una temperatura compresa fra 2 °C e 8 °C e analizzate entro 2 settimane.
3. Se la macrodissezione è necessaria:
  - a. Esaminare il vetrino colorato con H&E (patologo). Identificare (e tratteggiare) l'area del tumore per il saggio. Fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio Xpert per il numero richiesto di vetrini o i requisiti minimi di cellularità del tumore.
  - b. Prepararsi per la macrodissezione (patologo). Tratteggiare l'area del tumore da utilizzare per il saggio sul retro dei vetrini non colorati allineandola con il vetrino corrispondente colorato con H&E e trasponendo l'area così delineata.
  - c. Eseguire la macrodissezione (patologo o tecnico). Con una lama da rasoio nuova o un bisturi per ciascun campione di tessuto da analizzare, rimuovere completamente (grattando) dal vetrino il tessuto di tumore invasivo tratteggiato (vedere Figura 1) e trasferirlo nella provetta di lisi da 1,5 ml etichettata.
  - d. Le sezioni sottoposte a macrodissezione contenute in una provetta da 1,5 ml devono essere conservate a una temperatura compresa fra 2 °C e 8 °C e analizzate entro 2 settimane.

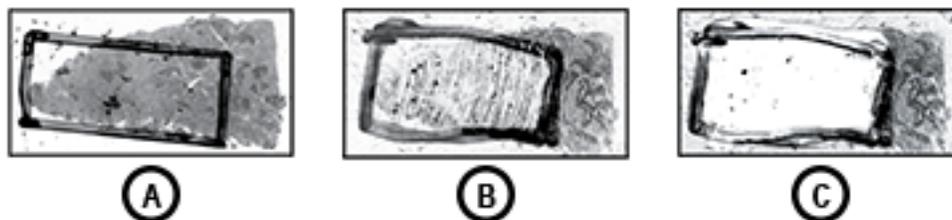


Figura 1. Esempi di rimozione adeguata (consigliato) e inadeguata (sconsigliato) di tessuto dal vetrino

<b>A</b>	<b>Fare riferimento al vetrino colorato con H&amp;E</b>
<b>B</b>	<b>Sconsigliato (tessuto rimosso insufficiente)</b>
<b>C</b>	<b>Consigliato</b>

## 11 Trattamento del tessuto FFPE

1. Aggiungere 1200 µl (1,2 ml) di reagente di lisi FFPE e 20 µl di Proteinasi K a una provetta che contiene il campione di FFPE, quindi fissare il tappo.
2. Miscelare in vortex il campione per almeno 10 secondi, quindi centrifugarlo a impulsi brevemente (per rimuovere il liquido dal tappo).
3. Incubare il campione per almeno 30 minuti in un termoblocco preriscaldato a 80 °C.
4. Dopo l'incubazione a 80 °C, miscelare in vortex il campione per almeno 10 secondi, quindi centrifugarlo a impulsi brevemente.
5. Utilizzando una pipetta, trasferire l'intero campione (~1,2 ml) in un flaconcino per campioni etichettato da 5 ml.
6. Aggiungere 1200 µl di etanolo >95% al campione e fissare il tappo.
7. Miscelare in vortex il campione per almeno 15 secondi

## 12 Trattamento del tessuto FFPE – Lisato concentrato

Seguire questo protocollo se si necessita di un lisato maggiormente concentrato a causa di un campione insufficiente (questa operazione è idonea per un'area tumorale ≤ 6 x 1 mm<sup>2</sup> su vetrino grattato). Per ulteriori informazioni, consultare il foglietto illustrativo del saggio Xpert.

1. Aggiungere 260 µl di reagente di lisi FFPE e 5 µl di Proteinasi K a una provetta etichettata da 1,5 ml che contiene il campione di FFPE, quindi fissare il tappo.
2. Miscelare in vortex il campione per almeno 10 secondi, quindi centrifugarlo a impulsi brevemente (per rimuovere il liquido dal tappo).
3. Incubare il campione per almeno 30 minuti in un termoblocco preriscaldato a 80 °C.
4. Dopo l'incubazione a 80 °C, miscelare in vortex il campione per almeno 10 secondi, quindi centrifugarlo a impulsi brevemente.
5. Aggiungere 260 µl di etanolo ≥ 95% alla stessa provetta di lisi da 1,5 ml e fissare il tappo.
6. Miscelare in vortex il campione per almeno 10 secondi, quindi centrifugarlo a impulsi brevemente.

## 13 Conservazione e trasporto dei campioni

Il lisato preparato con etanolo dovrà essere trasportato al laboratorio a una temperatura compresa fra 2 °C e 8 °C, se si prevede di eseguire l'analisi entro 1 settimana. Se invece il saggio sarà eseguito in tempi successivi, il lisato FFPE è stabile e può essere conservato per non più di 4 settimane a ≤ -20 °C prima dell'analisi.

## 14 Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Marchio CE - Conformità europea
	Contenuto sufficiente per $n$ test
	Produttore
	Paese di produzione
	Limiti di temperatura
	Codice lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Rischi biologici
	<i>Dispositivo medico diagnostico</i> in vitro
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Non riutilizzare
	Attenzione
	Avvertenza
	Data di scadenza

## 15 Assistenza Tecnica

### Stati Uniti

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

### Francia

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

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Supporto Tecnico di Cepheid sono disponibili nel sito: [www.cepheid.com/en/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us)



Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefono: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Telefono: + 33 563 825 300

Fax: + 33 563 825 301

### Dettagli relativi agli importatori per UE e Svizzera

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

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

## 16 Cronologia delle revisioni

**Descrizione delle modifiche:** da 301-5224 Rev. D a 302-6233 Rev. A

**Finalità:** conformità ai requisiti del regolamento UE 2017/746

Sezione	Descrizione della modifica
1	Aggiornamento della sezione in "Scopo previsto" e aggiunta delle sottosezioni "Destinazione d'uso" e "Utilizzatore/ambiente previsto"
2	Aggiunta della sezione "Principio di funzionamento"
4	Aggiornamento della sezione
5	Aggiunta di riferimenti alla SDS
7	Espansione della sezione
9	Aggiornamento della procedura per la preparazione del vetrino/nastro
10	Aggiornamento della procedura per la rimozione del tessuto dal vetrino
11	Aggiornamento della procedura per il trattamento del tessuto FFPE
12	Aggiornamento della procedura per il trattamento del tessuto FFPE con lisato concentrato
15	Aggiornamento delle informazioni sull'assistenza tecnica
16	Aggiunta della sezione "Cronologia delle revisioni"