

# Xpert® FFPE Lysis Kit



REF

GXFFPE-LYSIS-CE-10

IVD

In Vitro Diagnostic  
Medical Device

©2020 Cepheid

301-5224 Rev. D, September 2020

Page 1

## English

*In Vitro* Diagnostic Medical Device.

## Description

The Xpert® FFPE Lysis Kit is designed to lyse Formalin-Fixed Paraffin Embedded (FFPE) tissue and preserve nucleic acids for subsequent GeneXpert analysis.

## Materials Provided

Xpert FFPE Lysis Kit (1 kit, sufficient to prepare 10 lysates)

Each kit contains:

- 1 bag containing 10 x 1.5 mL tubes
- 1 bag containing 10 x 5 mL vials
- 1 bottle containing 13 mL of bulk FFPE Lysis Reagent
- 1 tube containing 250 µL of bulk Proteinase K Reagent

## Materials and Equipment Required But Not Provided

- Hematoxylin and Eosin (H&E)
- Positively charged glass microscope slides
- Disposable Microtome Blades
- Microtome
- Water Bath (40 °C)

- Microscope slide drying rack
- 40-45 °C oven/incubator for drying slides (optional)
- Disposable razor blades (for macrodissection)
- Pipettes and filter pipette tips suitable to accurately transfer 5  $\mu$ L, 20  $\mu$ L, 260  $\mu$ L and 1.2 mL
- Heat Block suitable to hold 1.5 mL microcentrifuge tubes (and hold at 80 °C)
- Bench top vortex mixer
- Standard bench top microcentrifuge with fixed angle rotor that fits 1.5 mL microcentrifuge tubes
- $\geq$  95% Reagent Grade Ethanol
- Disposable gloves
- Adhesive labels or sample identification information

## Warning and Precautions



- All biological samples should be treated with standard universal precautions. Samples should only be handled by personnel trained in handling biohazardous materials.

- Handle all sample and kit reagents using appropriate techniques to prevent or minimize RNase and/or DNase contamination.



- Do not reuse macrodissection blades, pipette tips or tubes/vials to avoid cross contamination during sample handling.
- Spilled or leaking reagent tubes should be discarded and not used.
- Follow your institution's safety procedures for working with chemicals and handling biological samples.
- Incomplete removal (scraping) of tumor area from the slide for preparation of the FFPE lysate may result in insufficient material for the assay and therefore a higher than expected indeterminate/**INVALID** rate with Xpert Assays.

## Chemical Hazards



**Hazard Statement:** H319 Causes serious eye irritation

**Precautionary Statements:**

P264: Wash thoroughly after handling

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection

P305+P351+P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P337+P313: If eye irritation persists: Get medical advice attention.

## Kit Storage Requirements



Store the FFPE lysis kit at (2 °C to 28 °C). The expiration date for all lysis kit components is listed on the outer box labeling for all kit components.

## FFPE Tissue Requirements

1. Specimens must have been fixed in only 10% Neutral Buffered Formalin (NBF) for 6 to 72 hours to be tested with any Xpert assay that requires RNA or DNA from FFPE tissue.
2. Some FFPE tissue greater than 10 years old may be of insufficient quality for GeneXpert analysis.
3. The pathologist should select the FFPE tissue/tumor block with the greatest area of visible acceptance tissue/tumor for the assay to run.
4. The Xpert assay requires unstained slide mounted tissue for processing. If macrodissection is required, use an adjacent H&E stained slide from the FFPE tumor block as a guide to ensure the tumor area identified on the H&E stained slide is representative of the tumor area on the unstained slide.
5. Refer to the Xpert assay package insert for additional information.

## Slide/Scroll Preparation

Preparation of FFPE tissues using this lysis kit requires unstained slide mounted tissue section(s) or scroll(s) for processing and an adjacent H&E stained slide from the same tissue block.

1. Using a microtome, cut a 4-5  $\mu\text{m}$  thick section/scroll for H&E staining.
2. Using a microtome, cut a sufficient number of 4-5  $\mu\text{m}$  thick sections/scrolls adjacent to the section designated for H&E, as determined by pathologist, for use in the FFPE Lysis kit.  
For specimens that require multiple slides/scrolls to meet minimum Xpert assay requirements, all slides/scrolls must be processed together.
3. To process tissue sections follow the sections below.
  - a. Float the section(s) in a water bath at 40 °C.
  - b. Mount the section(s), one per slide, onto positively charged glass microscope slides.
  - c. Allow slide(s) to air dry overnight or bake at 40-45 °C overnight (optional).
  - d. Slide section(s) should be stored at 2 °C to 8 °C and processed within 1 month after preparation. Freshly cut sections or unstained slides will yield highest quality and most reliable results as mRNA degrades more rapidly on slide sections exposed to air than in FFPE blocks.
4. To process tissue scroll(s) follow the steps below.
  - a. Place scroll(s) in a provided 1.5 mL lysis tube. Label the tube for each sample to be processed.
  - b. Scroll(s) in a 1.5 mL tube should be stored at 2 °C to 8 °C and processed within 2 weeks after preparation.





## Tissue Removal from Slide

1. Label a 1.5 mL lysis tube (provided) for each sample to be processed.
2. If macrodissection is not required:
  - a. Using a new razor blade or scalpel for each tissue sample to be processed, completely remove (scrape) the invasive tumor tissue section from the slide and transfer to the labeled 1.5 mL lysis tube.
  - b. Section(s) in a 1.5 mL tube should be stored at 2°C to 8°C and processed within 2 weeks.
3. If macrodissection is required:
  - a. Examine the H&E stained slide (pathologist).  
Identify (and outline) the tumor area for the assay. Refer to Xpert assay package insert for required number of slides or minimum tumor cellularity requirement.
  - b. Prepare for macrodissection (pathologist).  
Outline the tumor area to be used for the assay on the backside of the unstained slide(s) by aligning it with the corresponding H&E stained slide and transposing the outlined area.
  - c. Perform macrodissection (pathologist or technician).  
Using a new razor blade or scalpel for each tissue sample to be processed, completely remove (scrape) the outlined invasive tumor tissue from the slide (see Figure 1) and transfer to the labeled 1.5 mL lysis tube.



For Information Only - Not a Controlled Copy



**Figure 1: Examples of Proper (Recommended) and Improper (Not Recommended) Tissue Removal from Slide**



- Macrodissected section(s) in a 1.5 mL tube should be stored at 2°C to 8°C and processed within 2 weeks.

## FFPE Tissue Processing

1. Preheat heat block to 80 °C.
2. Add 1.2 mL of FFPE lysis reagent to the 1.5 mL tube containing FFPE section/scroll.
3. Add 20  $\mu$ L of Proteinase K (PK) to the same 1.5 mL lysis tube.
4. Close lid.
5. Vortex the sample continuously at a maximum setting for 5 seconds.
6. Briefly microcentrifuge the tube to remove liquid from the lid.
7. Using a heat block set at 80 °C, incubate 1.5 mL lysis tube containing sample and lysis reagent for 30 minutes.
8. Vortex the sample continuously at maximum setting for 5 seconds.
9. Briefly microcentrifuge the tube to remove liquid from the lid.
10. Using a pipette, transfer the entire contents (~1.2 mL) to a provided 5 mL sample vial.
11. Label the vial for each sample to be processed.
12. Add 1.2 mL of  $\geq$  95% ethanol to the same 5 mL sample vial.
13. Secure the cap and vortex the sample continuously at maximum setting for 15 seconds.

## FFPE Tissue Processing – Concentrated Lysate
















Follow this protocol if a more concentrated lysate is desired due to insufficient sample (This should be considered for  $\leq 6 \times 1 \text{ mm}^2$  area of tumor on scraped slide). Refer to Xpert assay package insert for additional information.

1. Preheat heat block to  $80^\circ\text{C}$ .
2. Add  $260 \mu\text{L}$  of FFPE lysis reagent to the  $1.5 \text{ mL}$  lysis tube containing the FFPE section.
3. Add  $5 \mu\text{L}$  of Proteinase K (PK) to the same  $1.5 \text{ mL}$  lysis tube.
4. Close lid.
5. Vortex the sample continuously at maximum setting for 5 seconds.
6. Briefly microcentrifuge the tube to remove liquid from the lid.
7. Using a heat block set at  $80^\circ\text{C}$ , incubate the  $1.5 \text{ mL}$  lysis tube containing sample and lysis reagent for 30 minutes.
8. Vortex the sample continuously at maximum setting for 5 seconds.
9. Briefly microcentrifuge the tube to remove liquid from the lid.
10. Add  $260 \mu\text{L}$  of  $\geq 95\%$  ethanol to the same  $1.5 \text{ mL}$  lysis tube.
11. Close lid.
12. Vortex the lysis tube continuously at maximum setting for 15 seconds.
13. Briefly microcentrifuge the tube to remove liquid from the lid.

## Sample Storage and Transport

Prepared lysate, with ethanol, should be transported to the laboratory at  $2^\circ\text{C}$  to  $8^\circ\text{C}$ , if testing is to be performed within 1 week. If assay is to be performed at a later time, the FFPE lysate is stable and may be stored up to 4 weeks at  $\leq -20^\circ\text{C}$  before testing.

## Table of Symbols

Symbol	Meaning
	Catalog number
	CE Marking - European Conformity
	Contains sufficient for <n> tests
	Manufacturer
	Country of manufacture
	Temperature limitation
	Batch code
	Consult instructions for use
	Biological Risks
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device
	Authorized Representative in the European Community
	Do not reuse
	Caution
	Warning
	Expiration Date

## Technical Assistance

<b>United States</b>	<b>France</b>
Telephone: + 1 888 838 3222	Telephone: + 33 563 825 319
Email: techsupport@cepheid.com	Email: support@cepheid europe.com

Contact information for all Cepheid Technical Support offices is available on our website: [www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).



Manufactured for Cepheid  
Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089 USA  
Phone: +1.408.541.4191  
Fax: +1.408.541.4192



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France  
Phone: +33.563.825.300  
Fax: +33.563.825.301

For Information Only - Not a Controlled Copy

# Kit de lyse Xpert® FFPE

**REF**

GXFFPE-LYSIS-CE-10

**IVD**

Dispositif médical de diagnostic in vitro

©2020 Cepheid

301-5224-FR Rév. D, Septembre 2020

Page 11

## Français

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.

## Description

Le kit de lyse Xpert® FFPE 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.

## Matériel fourni

Kit de lyse Xpert FFPE (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

## Matériel et équipement requis mais non fournis

- Hématoxyline et eosine (HE)
- Lames de microscope en verre chargé positivement
- Lames jetables pour microtome
- Microtome
- Bain-marie (40 °C)
- Portoir de séchage pour lames de microscope
- Incubateur/four à 40-45 °C pour sécher les lames (facultatif)

- Lames de rasoir jetables (pour macrodissection)
- Pipettes et embouts de pipettes appropriés pour le transfert précis de volumes de 5  $\mu$ l, 20  $\mu$ l, 260  $\mu$ l et 1,2 ml
- Bloc chauffant compatible avec des tubes pour microcentrifugeuse de 1,5 ml (et pouvant maintenir une température de 80 °C)
- Mélangeur 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

## Avertissements et mises en garde



- Les précautions universelles types 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 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.



## Risques chimiques



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

**Phrases de précaution :**


P264 : Se laver soigneusement après manipulation

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage

P305+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 oculaire persiste : consulter un médecin.

## 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.

## 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 du test Xpert pour de plus amples informations.

## 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/un ruban de coupes d'une épaisseur de 4 à 5 µm pour coloration HE.
2. À l'aide d'un microtome, confectionner un nombre suffisant de coupes ou de rubans de coupes d'une épaisseur de 4 à 5 µm adjacents à la coupe prélevée pour coloration HE, tel que déterminé par l'anatomopathologiste, pour être traités avec 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. Suivre les étapes ci-dessous pour traiter les coupes de tissu.
  - a. Déplisser la ou les coupes par flottaison dans un bain-marie à 40 °C.
  - b. Monter la ou les coupes sur une ou plusieurs lames de microscope en verre chargé positivement, à raison d'une coupe par lame.
  - c. Laisser les lames sécher à l'air pendant la nuit ou dans un incubateur à 40-45 °C (facultatif) pendant la nuit.



- d. Les coupes montées sur lame doivent être stockées entre 2 °C et 8 °C et traitées dans le mois suivant leur préparation. Les résultats les plus performants et les plus fiables seront obtenus avec des coupes ou des lames non colorées fraîchement préparées car l'ARNm se dégrade plus rapidement dans les coupes sur lame exposées à l'air que dans les blocs de tissu FFPE.

4. Suivre les étapes ci-dessous pour traiter les rubans de coupes.
- a. 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.



- b. 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.

## 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 tumeur invasive du tissu de la lame et la placer dans le 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 rapporter à la notice 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.



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



- 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.

## Traitement des échantillons de tissu FFPE

1. Préchauffer un bloc chauffant à 80 °C.
2. Ajouter 1,2 ml de réactif de lyse FFPE au tube de 1,5 ml contenant la coupe ou le ruban de coupes FFPE.
3. Ajouter 20 µl de Protéinase K (PK) au même tube de lyse de 1,5 ml.
4. Fermer le bouchon du tube.
5. Mélanger l'échantillon au vortex en continu pendant 5 secondes à vitesse maximale.

6. Centrifuger brièvement le tube dans la microcentrifugeuse pour descendre tout le liquide au fond du tube.
7. Mettre le tube de lyse de 1,5 ml contenant l'échantillon et le réactif de lyse à incuber dans un bloc chauffant réglé sur 80 °C pendant 30 minutes.
8. Mélanger l'échantillon au vortex en continu pendant 5 secondes à vitesse maximale.
9. Centrifuger brièvement le tube dans la microcentrifugeuse pour descendre tout le liquide au fond du tube.
10. À l'aide d'une pipette, transférer la totalité du contenu (~1,2 ml) dans un flacon pour échantillon de 5 ml (fourré).
11. Marquer l'identité de l'échantillon à être traité sur chaque flacon.
12. Ajouter 1,2 ml d'éthanol  $\geq 95\%$  au flacon pour échantillon de 5 ml.
13. Fermer le flacon avec le bouchon et mélanger l'échantillon au vortex en continu pendant 15 secondes à vitesse maximale.



## 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 du test [2](#) pour de plus amples informations.
















1. Préchauffer un bloc chauffant à 80 °C.
2. Ajouter 260  $\mu\text{l}$  de réactif de lyse FFPE au tube de 1,5 ml contenant la coupe FFPE.
3. Ajouter 5  $\mu\text{l}$  de Protéinase K (PK) au même tube de lyse de 1,5 ml.
4. Fermer le bouchon du tube.
5. Mélanger l'échantillon au vortex en continu pendant 5 secondes à vitesse maximale.

6. Centrifuger brièvement le tube dans la microcentrifugeuse pour descendre tout le liquide au fond du tube.
7. Mettre le tube de lyse de 1,5 ml contenant l'échantillon et le réactif de lyse à incuber dans un bloc chauffant réglé sur 80 °C pendant 30 minutes.
8. Mélanger l'échantillon au vortex en continu pendant 5 secondes à vitesse maximale.
9. Centrifuger brièvement le tube dans la microcentrifugeuse pour descendre tout le liquide au fond du tube.
10. Ajouter 260 µl d'éthanol  $\geq 95\%$  au tube de lyse de 1,5 ml.
11. Fermer le bouchon du tube.
12. Mélanger le tube de lyse au vortex en continu pendant 15 secondes à vitesse maximale.
13. Centrifuger brièvement le tube dans la microcentrifugeuse pour descendre tout le liquide au fond du tube.

## Conservation et transport des échantillons

-  S'il est prévu de réaliser le test dans un délai de 1 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  $\leq -20$  °C avant la réalisation du test.

## Tableau des symboles

Symbole	Signification
	Numéro de référence
	Marquage CE – Conformité européenne
	Quantité suffisante pour <n> tests
	Fabricant
	Pays de fabrication
	Limite de température
	N° de lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Risques biologiques
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Représentant autorisé dans la Communauté européenne
	Ne pas réutiliser
	Attention
	Avertissement
	Date de péremption

## Coordonnées de l'assistance technique

États-Unis	France
Téléphone : + 1 888 838 3222	Téléphone : + 33 563 825 319
E-mail : techsupport@cepheid.com	E-mail : support@cepheidurope.com

Les coordonnées de tous les bureaux du service d'assistance technique de Cepheid sont disponibles sur notre site Internet à l'adresse suivante :

[www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).



Fabriqué pour Cepheid  
Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089 États-Unis  
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



# Xpert® FFPE-Lyse-Kit



REF

GXFFPE-LYSIS-CE-10

IVD

In-vitro-Diagnostikum

©2020 Cepheid

301-5224-DE Rev. D, September 2020

Seite 21

## Deutsch

*In-vitro*-Diagnostikum.

## Beschreibung

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

## Mitgelieferte Materialien

Xpert FFPE Lyse-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-Lyse-Reagenz
- 1 Röhrchen mit 250 µL Bulk-Proteinase-K-Reagenz

## Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien und Ausrüstung

Hämatoxylin und Eosin (H&E)

- Positiv geladene Glasobjektträger für Mikroskopie
- Wegwerfbare Mikrotomklingen
- Mikrotom
- Wasserbad (40 °C)
- Trockenständer für Mikroskopie-Objektträger
- Ofen/Inkubator zum Trocknen der Objektträger (40-45 °C) (optional)

- Wegwerfbare Rasierklingen (zur Makrodissektion)
- Pipetten und Pipettenspitzen mit Filter, die sich zur genauen Übertragung von 5  $\mu$ L, 20  $\mu$ L, 260  $\mu$ L und 1,2 mL eignen.
- Hitzeblock, der sich zur Aufnahme von 1,5 mL Mikrozentrifugenröhrchen eignet (bei gleichbleibender Temperatur von 80 °C)
- Vortexmischer für Labortisch
- Standardmikrozentrifuge für Labortisch mit unbeweglichem Winkelrotor für 1,5 mL Mikrozentrifugenröhrchen
- $\geq 95\%$ iges Ethanol von Reagenzienqualität
- Einweghandschuhe
- Selbstklebeetiketten oder Angaben zur Probenidentifikation

## 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.
- ② • Mikrodissektionsklingen, Pipettenspitzen und Röhrchen/Fläschchen dürfen nicht wiederverwendet werden, um eine Kreuzkontamination bei der Handhabung der Proben zu vermeiden.
- Ausgelaufene oder undichte Reagenzröhrchen sollten entsorgt und nicht verwendet werden.
- 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 Tumorareals vom Objektträger zur Vorbereitung des FFPE-Lysats kann zu einer unzureichenden Menge an Material für den Assay und somit zu einer höheren Rate unbestimmter/**UNGÜLTIGER (INVALID)** Ergebnisse mit Xpert Assays führen, als zu erwarten ist.

## Chemische Gefahren




**Gefahrenhinweis:** H319 Verursacht schwere Augenreizung

**P-Sätze:**

- P264: Nach Gebrauch gründlich waschen
- P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen
- P305+P351+P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
- P337+P313: Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

## Lagerbedingungen für das Kit

 Bewahren Sie das FFPE-Lyse-Kit bei 2 °C bis 28 °C auf. Das Verfallsdatum für alle Lyse-Kit-Bestandteile finden Sie auf der jeweiligen Etikette des Außenkartons.

## 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 (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 gefärbte Objektträger dem Tumorbereich auf dem ungefärbten Objektträger entspricht.
5. Zusätzliche Informationen finden Sie in der Packungsbeilage des Xpert-Assays.

## Herstellen der Objektträger/Scrolls

Herstellen der FFPE-Gewebe mit dem Lyse-Kit erfordert einen oder mehrere ungefärbte Objektträger mit aufgetragenen Gewebeschnitten bzw. einen oder mehrere Scrolls zur Verarbeitung sowie einen benachbarten mit H&E gefärbten Objektträger mit Gewebe vom selben Gewebeblock.

1. Schneiden Sie einen 4-5 µm dicken Gewebeteil/Scroll mit dem Mikrotom für die H&E-Färbung ab.
2. Zur Verwendung mit dem FFPE-Lyse-Kit schneiden Sie eine ausreichende Anzahl 4-5 µm dicker Gewebeteile/Scrolls mit einem Mikrotom ab, die an den Bereich, der, wie von einem Pathologen bestimmt für die H&E-Färbung gewählt wurde, angrenzen. 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. Zur Verarbeitung von Gewebeschnitten befolgen Sie folgende, untenstehende Abschnitte.
  - a. Lassen Sie den/die Schnitt(e) in einem Wasserbad mit einer Temperatur von 40 °C schwimmen.
  - b. Bringen Sie jeden Schnitt auf jeweils einen positiv geladenen Glasobjektträger für Mikroskopie auf.



- c. Lassen Sie den/die Objektträger über Nacht an der Luft trocknen oder backen Sie sie über Nacht bei einer Temperatur von 40-45 °C (optional).
- d. Die Schnitte auf den Objektträgern sollten bei 2 °C bis 8 °C aufbewahrt und innerhalb eines Monats nach der Herstellung verarbeitet werden. Frische Schnitte bzw. ungefärbte Objektträger weisen die höchste Qualität auf und bringen die verlässlichsten Ergebnisse, da mRNA schneller in Schnitten auf Objektträgern, die Luft ausgesetzt sind, zerfällt, als in FFPE-Blocks.

4. Befolgen Sie folgende Schritte zur Verarbeitung des/der Gewebe-Scrolls.
- a. Den/die Scroll(s) in ein 1,5 mL Lyseröhrchen (mitgeliefert) legen. Beschriften Sie die Röhrchen für alle zu verarbeitenden Proben.
- b. Scrolls sollten in einem 1,5 mL Röhrchen bei 2 °C to 8 °C aufbewahrt und innerhalb von 2 Wochen nach Herstellung verarbeitet werden.



## Entfernung des Gewebes vom Objektträger

- Beschriften Sie für jede zu verarbeitende Probe ein 1,5 mL Lyseröhrchen (mitgeliefert).
- Falls eine Makrodissektion nicht erforderlich ist:
  - Entfernen Sie (durch Abkratzen) mit einer für jede Gewebeprobe neuen Rasierklinge bzw. einem Skalpell den Schnitt des invasiven Tumorgewebes vollständig vom Objektträger und transferieren Sie es in das beschriftete 1,5 mL Lyseröhrchen.
  - Schnitte in 1,5 mL Röhrchen sollten bei 2 °C bis 8 °C aufbewahrt und innerhalb von 2 Wochen verarbeitet werden.
- Falls eine Makrodissektion erforderlich ist:
  - Überprüfen Sie den mit H&E gefärbten Objektträger (Pathologe).

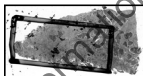


Finden Sie den Tumorbereich auf (und konturieren sie ihn) für den Assay. Die erforderliche Anzahl Objektträger bzw. die Mindest-Tumorzellichte finden Sie in der Packungsbeilage für den Xpert-Assay.

- b. Bereiten Sie die Makrodissektion vor (Pathologe).  
Konturieren 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 transferieren Sie den konturierten Bereich.
- c. Führen Sie eine Makrodissektion durch (Pathologe oder Laborant).

Entfernen Sie (durch Abkratzen) mit einer für jede Gewebeprobe neuen Rasiert Klinge bzw. einem Skalpell das konturierte invasive Tumorgewebe vollständig vom Objektträger (siehe Abbildung 1) und transferieren Sie es in das beschriftete 1,5 mL Lyseröhrchen.

Mit H&E gefärbter  
Objektträger zum  
Vergleich



Nicht empfohlen  
(nicht genügend  
Gewebe entfernt)



Empfohlen

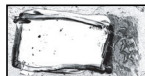


Abbildung 1: Beispiele für korrekte (empfohlene) und falsche (nicht empfohlene) Gewebeerntfernung vom Objektträger

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

## FFPE-Gewebe-Verarbeitung

1. Erhitzen Sie den Hitzeblock auf 80 °C.
2. Übertragen Sie 1,2 mL FFPE-Lysereagenz in das 1,5 mL Röhrchen, das den FFPE-Schnitt/Scroll enthält.

3. Transferieren Sie 20  $\mu\text{L}$  Proteinase K (PK) in dasselbe 1,5 mL Lyseröhrchen.
4. Befestigen Sie den Deckel.
5. Vortexen Sie die Probe kontinuierlich bei einer Maximaleinstellung von 5 Sekunden.
6. Stellen Sie das Röhrchen kurz in die Mikrozentrifuge, um Flüssigkeit vom Deckel zu entfernen.
7. Unter Verwendung eines auf 80 °C eingestellten Hitzeblocks inkubieren Sie das 1,5 mL Lyseröhrchen, das die Probe und das Lyserreagenz enthält, 30 Minuten lang.
8. Vortexen Sie die Probe kontinuierlich bei einer Maximaleinstellung von 5 Sekunden.
9. Stellen Sie das Röhrchen kurz in die Mikrozentrifuge, um Flüssigkeit vom Deckel zu entfernen.
10. Transferieren Sie den gesamten Inhalt (~1,2 mL) mit einer Pipette in ein mitgeliefertes 5 mL Probenfläschchen.
11. Beschriften Sie die Fläschchen für alle zu verarbeitenden Proben.
12. Transferieren Sie 1,2 mL  $\geq 95$  %iges Ethanol in dasselbe 5 mL Probenfläschchen.
13. Verschließen Sie es und vortexen Sie die Probe kontinuierlich bei einer Maximaleinstellung von 15 Sekunden.

## FFPE-Gewebeverarbeitung – konzentriertes Lysat

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

1. Erhitzen Sie den Hitzeblock auf 80 °C.
2. Transferieren Sie 260  $\mu\text{L}$  FFPE-Lysereagenz in das 1,5 mL Lyseröhrchen, das den FFPE-Schnitt enthält.

3. Transferieren Sie 5  $\mu\text{L}$  Proteinase K (PK) in dasselbe 1,5 mL Lyseröhrchen.
4. Befestigen Sie den Deckel.
5. Vortexen Sie die Probe kontinuierlich bei einer Maximaleinstellung von 5 Sekunden.
6. Stellen Sie das Röhrchen kurz in die Mikrozentrifuge, um Flüssigkeit vom Deckel zu entfernen.
7. Inkubieren Sie das 1,5 mL Lyseröhrchen, das die Probe und das Lysereagenz enthält, 30 Minuten lang unter Verwendung eines Hitzeblocks, der auf 80 °C eingestellt ist.
8. Vortexen Sie die Probe kontinuierlich bei einer Maximaleinstellung von 5 Sekunden.
9. Stellen Sie das Röhrchen kurz in die Mikrozentrifuge, um Flüssigkeit vom Deckel zu entfernen.
10. Transferieren Sie 260  $\mu\text{L}$   $\geq 95\%$ iges Ethanol in dasselbe 1,5 mL Lyseröhrchen.
11. Befestigen Sie den Deckel.
12. Vortexen Sie das Lyseröhrchen kontinuierlich bei einer Maximaleinstellung von 15 Sekunden.
13. Stellen Sie das Röhrchen kurz in die Mikrozentrifuge, um Flüssigkeit vom Deckel zu entfernen.
















## Lagerung und Transport von Proben



Zubereitetes Lysat mit Ethanol sollte bei 2 °C to 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 stabil und kann bis zu 4 Wochen bei  $\leq -20$  °C vor dem Test aufbewahrt werden.



## Symbolerklärung

Symbol	Bedeutung
	Bestellnummer
	CE-Kennzeichnung – Europäische Konformität
	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

**Kontaktinformationen für den technischen Kundendienst**

<b>Vereinigte Staaten</b>	<b>Frankreich</b>
Telefon: + 1 888 838 3222	Telefon: + 33 563 825 319
E-Mail: techsupport@cepheid.com	E-Mail: support@cepheideurope.com

Die Kontaktinformationen aller Vertretungen des technischen Kundendienstes von Cepheid finden Sie auf unserer Website:  
[www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).



Von für Cepheid hergestellt  
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

# Xpert® FFPE Lysis Kit

**REF****GXFFPE-LYSIS-CE-10****IVD**Dispositivo medico per uso  
diagnostico in vitro

©2020 Cepheid

301-5224 Rev. D, Settembre 2020

Pagina 31

## Italiano

Dispositivo medico per uso diagnostico *in vitro*.

## Descrizione

Xpert® 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.

## 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

## Materiali e apparecchiature necessari ma non forniti

- Ematossilina e eosina (H&E)
- Vetrini da microscopio a carica positiva
- Lame monouso per microtomo
- Microtomo
- Bagno d'acqua (40 °C)
- Rastrelliera per l'asciugatura dei vetrini da microscopio

- Forno/incubatore a 40-45 °C per l'asciugatura dei vetrini (facoltativo)
- Lame da rasoio monouso (per la macrodissezione)
- Pipette e puntali con filtro idonei a trasferire accuratamente 5 µL, 20 µL, 260 µL e 1,2 mL
- 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 usa e getta
- Etichette adesive o informazioni di identificazione del campione

## 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 biopericolosi.
- 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 di indeterminati **NON VALIDI (INVALID)** superiore al previsto con i saggi Xpert.

## 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.

P305+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.

## Requisiti per la conservazione dei kit

 Conservare il kit di lisi FFPE a una temperatura compresa fra 2 °C e 28 °C. La data di scadenza di tutti i componenti del kit di lisi è riportata sull'etichetta della confezione esterna per tutti i componenti del kit.

## 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.

## 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/un nastro spessi 4-5  $\mu\text{m}$  per la colorazione con H&E.
2. Con un microtomo, tagliare un numero sufficiente di sezioni/nastri spessi 4-5  $\mu\text{m}$  adiacenti alla sezione designata per la colorazione con H&E, come determinato dal patologo, 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 l'analisi delle sezioni di tessuto, procedere come indicato di seguito.
  - a. Fare galleggiare le sezioni in un bagno d'acqua a 40 °C.
  - b. Trasferire le sezioni, una per vetrino, su vetrini da microscopio con carica positiva.



- c. Lasciare asciugare i vetrini per tutta la notte oppure metterli nel forno a 40-45 °C per tutta la notte (facoltativo).
- d. Le sezioni di tessuto devono essere conservate a una temperatura compresa fra 2 °C e 8 °C e analizzate entro 1 mese dalla preparazione. Dalle sezioni tagliate di fresco e dai vetrini non colorati si avranno la più alta qualità e i risultati più affidabili, poiché l'mRNA si degrada con maggiore rapidità sulle sezioni esposte all'aria rispetto ai blocchi FFPE.

4. Per il trattamento dei nastri di tessuto seguire i passaggi qui sotto.



- a. Introdurre i nastri in una provetta di lisi da 1,5 mL fornita. Etichettare la provetta per ciascun campione da analizzare.
- b. 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.

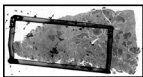
## Rimozione del tessuto dal vetrino

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 la sezione di tessuto di tumore invasivo e trasferirla alla 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.

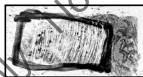


- b. Prepararsi per la macrodissezione (patologo).  
 Tratteggiare l'area del tumore da utilizzare per il saggio sul retro dei vetrini non colorati allineandola con il vetrino corrispondente colorato con H&E e trasponendo l'area così delineata.
- c. Eseguire la macrodissezione (patologo o tecnico).  
 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 alla provetta di lisi da 1,5 mL etichettata.

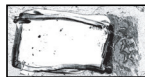
**Fare riferimento al vetrino colorato con H&E**



**Sconsigliato (tessuto rimosso insufficiente)**



**Consigliato**



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



- 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.

## **Trattamento del tessuto FFPE**

1. Preriscaldare il termoblocco a 80 °C.
2. Aggiungere 1,2 mL di reagente di lisi FFPE nella provetta da 1,5 mL contenente la sezione/il nastro FFPE.
3. Aggiungere 20 µL di Proteinasi K (PK) alla stessa provetta di lisi da 1,5 mL.
4. Chiudere il coperchio.



5. Vortexare ininterrottamente il campione all'impostazione massima per 5 secondi.
6. Microcentrifugare brevemente la provetta per asportare il liquido dal coperchio.
7. Con un termoblocco impostato a 80 °C, incubare per 30 minuti la provetta di lisi da 1,5 mL contenente il campione e il reagente di lisi.
8. Vortexare ininterrottamente il campione all'impostazione massima per 5 secondi.
9. Microcentrifugare brevemente la provetta per asportare il liquido dal coperchio.
10. Utilizzando una pipetta, trasferire l'intero contenuto (~1,2 mL) in un flaconcino per campioni da 5 mL (fornito).
11. Etichettare il flaconcino per ciascun campione da analizzare.
12. Aggiungere 1,2 mL di etanolo  $\geq 95\%$  allo stesso flaconcino per campioni da 5 mL.
13. Tappare bene il flaconcino e vortexare ininterrottamente il campione all'impostazione massima per 15 secondi.

## **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  $\leq 6 \times 1 \text{ mm}^2$  su vetrino grattato). Per ulteriori informazioni, consultare il foglietto illustrativo del saggio Xpert.

1. Preriscaldare il termoblocco a 80 °C.
2. Aggiungere 260  $\mu\text{L}$  di reagente di lisi FFPE nella provetta di lisi da 1,5 mL contenente la sezione FFPE.
3. Aggiungere 5  $\mu\text{L}$  di Proteinasi K (PK) alla stessa provetta di lisi da 1,5 mL.
4. Chiudere il coperchio.

5. Vortexare ininterrottamente il campione all'impostazione massima per 5 secondi.
6. Microcentrifugare brevemente la provetta per asportare il liquido dal coperchio.
7. Con un termoblocco impostato a 80 °C, incubare per 30 minuti la provetta di lisi da 1,5 mL contenente il campione e il reagente di lisi.
8. Vortexare ininterrottamente il campione all'impostazione massima per 5 secondi.
9. Microcentrifugare brevemente la provetta per asportare il liquido dal coperchio.
10. Aggiungere 260 µL di etanolo  $\geq 95\%$  alla stessa provetta di lisi da 1,5 mL.
11. Chiudere il coperchio.
12. Vortexare ininterrottamente la provetta di lisi all'impostazione massima per 15 secondi.
13. Microcentrifugare brevemente la provetta per asportare il liquido dal coperchio.

## 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  $\leq -20$  °C prima dell'analisi.

## Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Marcatura 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
	Dispositivo medico per uso diagnostico <i>in vitro</i>
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Non riutilizzare
	Attenzione
	Avvertenza
	Data di scadenza

## Per contattare l'assistenza tecnica

Stati Uniti	Francia
Telefono: + 1 888 838 3222	Telefono: + 33 563 825 319
E-mail: techsupport@cepheid.com	E-mail: support@cepheideurope.com

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Assistenza Tecnica di Cepheid sono disponibili nel sito:

[www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).



Prodotto per Cepheid  
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

# Kit de lisis Xpert® FFPE



REF

GXFFPE-LYSIS-CE-10

IVD

Producto sanitario para diagnóstico in vitro

©2020 Cepheid

301-5224 Rev. D, Septiembre de 2020 **Página 41**

## Español

Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*.

## Descripción

El kit de lisis Xpert® FFPE está diseñado para lisar tejido incluido en parafina (Formalin-Fixed Paraffin Embedded, FFPE), preservando los ácidos nucleicos para el análisis GeneXpert posterior.

## Materiales suministrados

Kit de lisis Xpert FFPE (1 kit, suficiente para preparar 10 lisados)

Cada kit contiene:



- 1 bolsa con 10 tubos x 1,5 ml
- 1 bolsa con 10 viales x 5 ml
- 1 frasco con 13 ml de reactivo de lisis FFPE a granel
- 1 tubo con 250 µl de reactivo de proteinasa K a granel

## Materiales y equipo requerido pero no suministrado

- Hematoxilina y eosina (H&E)
- Portaobjetos de vidrio para microscopía cargados positivamente
- Hojas de microtomo desechables
- Microtomo
- Baño de agua (40 °C)
- Gradilla para secar los portaobjetos
- Horno/incubadora a 40-45 °C para secar los portaobjetos (opcional)

- Cuchillas desechables (para macrodissección)
- Pipetas y puntas de pipeta con filtro para transferir con exactitud 5  $\mu$ l, 20  $\mu$ l, 260  $\mu$ l y 1,2 ml
- Bloque calefactor para tubos de microcentrífuga de 1,5 ml (que mantenga 80 °C)
- Mezclador vórtex de sobremesa
- Microcentrífuga estándar de sobremesa con rotor de ángulo fijo que admita tubos de microcentrífuga de 1,5 ml
- Etanol de calidad analítica  $\geq 95$  %
- Guantes desechables
- Etiquetas adhesivas o información de identificación de la muestra

## Advertencias y precauciones

- Todas las muestras biológicas deberán tratarse con las precauciones universales estándar. Las muestras solamente deberá manipularlas personal con formación en la manipulación de materiales biopeligrosos.



- Manipule todas las muestras y los reactivos del kit utilizando las técnicas adecuadas para evitar o minimizar la contaminación con ARNasa o ADNasa.
- No reutilice las cuchillas de macrodissección, las puntas de pipeta ni los tubos/viales para evitar la contaminación cruzada durante la manipulación de las muestras.



- Los tubos de reactivo derramados o con filtraciones deben desecharse y no utilizarse.
- Siga los procedimientos de seguridad del centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- La extracción incompleta (raspado) del área del tumor del portaobjetos para la preparación del lisado FFPE podría dar lugar a material insuficiente para el ensayo y, por consiguiente, a una tasa de resultados indeterminados/**NO VÁLIDO (INVALID)** mayor de lo previsto con los ensayos Xpert.


## Peligros químicos

**Declaración de peligro:** H319: Provoca irritación ocular grave

**Declaraciones de precaución:**



P264: Lavarse concienzudamente tras la manipulación

P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección

 P305+P351+P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P337+P313: Si persiste la irritación ocular, consultar a un médico.

## Requisitos de almacenamiento del kit

 Conservar el kit de lisis FFPE a una temperatura de 2 °C a 28 °C.  
 La fecha de caducidad de todos los componentes del kit de lisis se indica en la etiqueta de la caja exterior correspondiente.

## Requisitos del tejido FFPE

1. Las muestras deben haberse fijado solo en formalina tamponada neutra (NBF) al 10 % durante 6 a 72 horas para analizarse con cualquier ensayo Xpert que requiera ARN o ADN del tejido FFPE.
2. La calidad de algunos tejidos FFPE con una antigüedad superior a 10 años puede ser insuficiente para el análisis GeneXpert.
3. El anatomopatólogo debe seleccionar el bloque de tumor/tejido FFPE que tenga la mayor superficie visible de tumor/tejido aceptable para realizar el ensayo.
4. El ensayo Xpert requiere tejido montado en portaobjetos y sin teñir para el procesamiento. Si se requiere macrodissección, utilice un portaobjetos adyacente teñido con H&E del bloque de tumor FFPE como guía para confirmar que el área del tumor identificada en el portaobjetos teñido con H&E es representativa del área del tumor en el portaobjetos no teñido.
5. Consulte el prospecto del ensayo Xpert para obtener información adicional.

## Preparación del portaobjetos/ corte curvado

La preparación de los tejidos FFPE con este kit de lisis requiere cortes de tejido montados en portaobjetos o cortes curvados, sin teñir, para el procesamiento, y un portaobjetos adyacente teñido con H&E procedente del mismo bloque de tejido.

1. Con un microtomo, obtenga un corte plano o curvado de 4-5  $\mu\text{m}$  de grosor para la tinción con H&E.
2. Con un microtomo, obtenga un número suficiente de cortes planos o curvados de 4-5  $\mu\text{m}$ , adyacentes al corte seleccionado por el anatomopatólogo para teñir con H&E, para utilizar con el kit de lisis FFPE.

En el caso de las muestras que requieran varios cortes planos/ curvados para cumplir los requisitos mínimos del ensayo Xpert, todos los cortes deben procesarse juntos.

3. Para procesar los cortes de tejido, siga estos pasos:
  - a. Ponga a flotar los cortes en un baño de agua a 40 °C.
  - b. Monte los cortes, uno por portaobjetos, sobre portaobjetos de vidrio para microscopía cargados positivamente.
  - c. Deje secar los portaobjetos al aire o en una estufa a 40-45 °C (opcional) durante toda la noche.
  - d. Los cortes montados en los portaobjetos deben conservarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C, y procesarse antes de que haya transcurrido un mes desde su preparación. Los cortes recién obtenidos o los portaobjetos sin teñir proporcionan los resultados más fiables y de mayor calidad, ya que el ARNm se degrada más rápidamente en los cortes montados expuestos al aire que en los bloques FFPE.
4. Para procesar cortes curvados de tejido, siga estos pasos.
  - a. Coloque los cortes curvados en un tubo de lisis de 1,5 ml suministrado. Etiquete el tubo de cada muestra que vaya a procesar.







- b. Los cortes curvados en el tubo de 1,5 ml deben conservarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C, y procesarse antes de que haya transcurrido las 2 semanas desde su preparación.

## Eliminación de tejido del portaobjetos

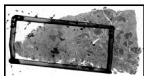
- Etiquete un tubo de lisis de 1,5 ml (suministrado) para cada muestra que vaya a procesarse.
- Si no es necesaria una macrodissección:
  - Con un bisturí o una cuchilla nuevos para cada muestra de tejido que vaya a procesarse, elimine (rasque) completamente el corte de tejido del tumor invasivo del tejido del portaobjetos y transfiera el corte a un tubo de lisis de 1,5 ml etiquetado.
  - Los cortes colocados en un tubo de 1,5 ml deben conservarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C, y procesarse en las 2 semanas siguientes a su preparación.
- Si es necesaria una macrodissección:
  - Examine el portaobjetos teñido con H&E (anatomopatólogo). Identifique (y delimite) el área del tumor para el ensayo. Consulte en el prospecto del ensayo Xpert el número necesario de portaobjetos o el requisito mínimo de células tumorales.
  - Prepáre la macrodissección (anatomopatólogo).

En la parte posterior del portaobjetos sin teñir, delimite el área del tumor que se utilizará en el ensayo, alineándola con el portaobjetos teñido con H&E y transponiendo el área delimitada.
  - Realice la macrodissección (anatomopatólogo o técnico).

Con un bisturí o una cuchilla nuevos para cada muestra de tejido que vaya a procesarse, elimine (rasque) completamente el tejido del tumor invasivo delimitado del portaobjetos (vea la Figura 1) y transfiera el tejido a un tubo de lisis de 1,5 ml etiquetado.



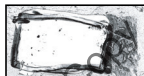
**Portaobjetos teñido  
con H&E de  
referencia**



**No recomendado  
(tejido insuficiente  
eliminado)**



**Recomendado**



**Figura 1. Ejemplos de eliminación de tejido correcta (recomendado) e incorrecta (no recomendado) del portaobjetos**

- Los cortes macrodisecados colocados en un tubo de 1,5 ml deben conservarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C y procesarse en las 2 semanas siguientes a su preparación.

## Procesamiento del tejido FFPE

1. Precaliente el bloque calefactor a 80 °C.
2. Añada 1,2 ml de reactivo de lisis FFPE al tubo de 1,5 ml que contiene el corte plano o curvado FFPE.
3. Añada 20 µl de proteinasa K (PK) al mismo tubo de lisis de 1,5 ml.
4. Cierre la tapa.
5. Agite la muestra continuamente en el mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 5 segundos.
6. Centrifugue brevemente el tubo en la microcentrífuga para desprender el líquido de la tapa.
7. Incube el tubo de lisis de 1,5 ml que contiene la muestra y el reactivo de lisis durante 30 minutos en el bloque calefactor ajustado a 80 °C.
8. Agite la muestra continuamente en el mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 5 segundos.
9. Centrifugue brevemente el tubo en la microcentrífuga para desprender el líquido de la tapa.
10. Con una pipeta, transfiera todo el contenido (~1,2 ml) a un tubo de 5 ml (suministrado).
11. Etiquete el vial de cada muestra que vaya a procesar.

12. Añada 1,2 ml de etanol  $\geq 95\%$  al mismo vial de muestra de 5 ml.
13. Ajuste la tapa y agite la muestra continuamente en el mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 15 segundos.

## Procesamiento del tejido FFPE – Lisado concentrado















Siga este protocolo si desea utilizar un lisado más concentrado debido a una cantidad de muestra insuficiente (esto debe considerarse para un área de tumor  $\leq 6 \times 1 \text{ mm}^2$  en el portaobjetos rascado). Consulte el prospecto del ensayo Xpert para obtener más información.

1. Precaliente el bloque calefactor a  $80^\circ\text{C}$ .
2. Añada 260  $\mu\text{l}$  de reactivo de lisis FFPE al tubo de lisis de 1,5 ml que contiene el corte FFPE.
3. Añada 5  $\mu\text{l}$  de proteinasa K (PK) al mismo tubo de lisis de 1,5 ml.
4. Cierre la tapa.
5. Agite la muestra continuamente en el mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 5 segundos.
6. Centrifugue brevemente el tubo en la microcentrífuga para desprender el líquido de la tapa.
7. Incube el tubo de lisis de 1,5 ml que contiene la muestra y el reactivo de lisis durante 30 minutos en el bloque calefactor ajustado a  $80^\circ\text{C}$ .
8. Agite la muestra continuamente en el mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 5 segundos.
9. Centrifugue brevemente el tubo en la microcentrífuga para desprender el líquido de la tapa.
10. Añada 260  $\mu\text{l}$  de etanol  $\geq 95\%$  al mismo tubo de lisis de 1,5 ml.
11. Cierre la tapa.
12. Agite el tubo de lisis continuamente en el mezclador vórtex a la velocidad máxima durante 15 segundos.
13. Centrifugue brevemente el tubo en la microcentrífuga para desprender el líquido de la tapa.

## Conservación y transporte de muestras

El lisado preparado, con etanol, debe transportarse al laboratorio a una temperatura de 2 °C a 8 °C, si se va a realizar el ensayo en las 1 semana siguientes. Si el ensayo se va a realizar después de este tiempo, el lisado FFPE es estable y puede conservarse hasta 4 semanas a  $\leq -20$  °C antes de realizar las pruebas.

### Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Marca CE – Conformidad europea
	Contiene una cantidad suficiente para <n> pruebas
	Fabricante
	País de fabricación
	Límites de temperatura
	Código de lote
	Consultar las instrucciones de uso
	Riesgos biológicos
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	No volver a utilizar
	Precaución
	Advertencia

<b>Símbolo</b>	<b>Significado</b>
	Fecha de caducidad

## Assistência Técnica

<b>Estados Unidos</b>	<b>Francia</b>
Teléfono: + 1 888 838 3222	Teléfono: + 33 563 825 319
Correo electrónico: techsupport@cepheid.com	Correo electrónico: support@cepheideurope.com

La información de contacto de todas las oficinas del servicio técnico de Cepheid está disponible en nuestro sitio web:

[www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).



Fabricado para Cepheid  
 Cepheid  
 904 Caribbean Drive  
 Sunnyvale, CA 94089 EE. UU.  
 Tel.: +1.408.541.4191  
 Fax: +1.408.541.4192



Cepheid Europe SAS  
 Vira Solelh  
 81470 Maurens-Scopont  
 France.  
 Tel.: +33.563.825.300  
 Fax: +33.563.825.301

For Information Only - Not a Controlled Copy

# Kit de lise Xpert® FFPE



REF

GXFFPE-LYSIS-CE-10

IVD

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

©2020 Cepheid

301-5224 Rev. D, Setembro de 2020

Página 51

## Português

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

## Descrição

O kit de lise Xpert® FFPE foi concebido para realizar a lise de tecidos fixados em formalina e embebidos em parafina (FFPE) e para preservar ácidos nucleicos para posterior análise com GeneXpert.

## Materiais fornecidos

Kit de lise Xpert FFPE (1 kit, suficiente para preparar 10 lisados)

Cada kit contém:

- 1 saco com 10 tubos de 1,5 mL
- 1 saco com 10 frascos de 5 mL
- 1 frasco com 13 mL de reagente de lise FFPE em bruto
- 1 tubo com 250 µL de reagente de proteinase K em bruto

## Materiais e equipamento necessários, mas não fornecidos

- Hematxilina e eosina (H&E)
- Lâminas de vidro para microscópio com carga positiva
- Lâminas para micrótomo descartáveis
- Micrótomo
- Banho de água (40 °C)
- Suporte para secagem de lâminas de microscópio
- Forno/incubadora de 40-45 °C para secagem das lâminas (opcional)

- Lâminas de corte descartáveis (para macrodissecção)
- Pipetas e pontas de pipeta com filtro adequadas para transferir de forma precisa 5 µL, 20 µL, 260 µL e 1,2 mL
- Bloco de aquecimento adequado para suportar tubos de microcentrifuga de 1,5 mL (e manter uma temperatura de 80 °C)
- Agitador de vórtex de bancada
- Microcentrifugadora de bancada standard com rotor de ângulo fixo que acomoda tubos de microcentrifuga de 1,5 mL
- Etanol de grau de reagente  $\geq 95\%$
- Luvas descartáveis
- Etiquetas adesivas ou informação de identificação da amostra

## Advertências e precauções



- Todas as amostras biológicas devem ser tratadas com precauções universais padrão. As amostras só devem ser manuseadas por profissionais com formação no manuseamento de materiais biologicamente perigosos.

- Manuseie todas as amostras e kits de reagentes empregando técnicas adequadas para prevenir ou minimizar contaminação com RNase e/ou DNase.



- Não reutilize lâminas para macrodissecção, pontas de pipeta ou tubos/frascos para evitar contaminação cruzada durante o manuseamento da amostra.
- Os tubos de reagente com derrames ou fugas devem ser eliminados e não deverão ser utilizados.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- A remoção incompleta (raspagem) da área do tumor da lâmina para preparação do lisado FFPE pode resultar em material insuficiente para o ensaio e, por conseguinte, uma taxa indeterminada/**INVÁLIDA (INVALID)** superior ao previsto com ensaios Xpert.



## Riscos químicos



**Declaração de perigo:** H319 - Provoca irritação ocular grave

**Recomendações de prudência:**


P264: Lavar cuidadosamente após manuseamento

P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/ proteção ocular/proteção facial

P305+P351+P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se o puder fazer com facilidade. Continue a enxaguar.

P337+P313: Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

## Requisitos de conservação do kit

 Conserve o kit de lise FFPE entre 2 °C e 28 °C. A data de validade para todos os componentes do kit de lise está indicada na etiqueta da caixa exterior para todos os componentes do kit.

## Requisitos de tecido FFPE

1. As amostras devem ter sido fixadas apenas em formalina tamponada neutra (NBF) a 10% durante 6 a 72 horas para serem testadas com qualquer ensaio Xpert para o qual seja necessário RNA ou DNA de tecidos FFPE.
2. Alguns tecidos FFPE com idade superior a 10 anos poderão não ter qualidade suficiente para análise com GeneXpert.
3. O patologista deve selecionar o tecido FFPE/bloco do tumor com a maior área visível de tecido/tumor aceitável para que o ensaio seja executado.
4. Para o ensaio Xpert é necessário tecido não corado e colocado em lâminas para processamento. Se for necessária macrodissecção, utilize uma lâmina corada com H&E adjacente proveniente do bloco do tumor FFPE como guia para garantir que a área do tumor identificada na lâmina corada com H&E representa a área do tumor na lâmina não corada.

5. Consulte o folheto informativo do ensaio Xpert para obter informação adicional.

## Preparação da lâmina/tira

Para a preparação de tecidos FFPE utilizando este kit de lise são necessárias secções ou tiras de tecido colocadas em lâminas não coradas para processamento e uma lâmina corada com H&E adjacente do mesmo bloco de tecido.

1. Utilizando um micrótomo, corte uma secção/tira com 4-5  $\mu\text{m}$  de espessura para corar com H&E.
2. Utilizando um micrótomo, corte um número suficiente de secções/tiras com 4-5  $\mu\text{m}$  de espessura adjacentes à secção designada para H&E, conforme determinado por um patologista, para serem utilizadas no kit de lise FFPE.

Para amostras para as quais sejam necessárias diversas secções/tiras para cumprir os requisitos mínimos do ensaio Xpert, todas as secções/tiras devem ser processadas em conjunto.

3. Para processar secções de tecido, siga os passos abaixo.
  - a. Coloque a(s) secção(ões) em banho de água a 40 °C.
  - b. Coloque a(s) secção(ões), uma por lâmina, em lâminas de vidro para microscópio com carga positiva.
  - c. Deixe que a(s) lâmina(s) seque(m) de um dia para o outro ou deixe em banho de água entre 40-45 °C de um dia para o outro (opcional).
  - d. As secções em lâminas devem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C e processadas no espaço de 1 mês após a preparação. Secções acabadas de cortar ou lâminas não coradas irão obter a melhor qualidade e os resultados mais fiáveis, pois o mRNA degrada-se mais rapidamente em secções em lâminas expostas ao ar do que em blocos de FFPE.
4. Para processar tiras de tecido, siga os passos abaixo.
  - a. Coloque as tiras num tubo de lise de 1,5 mL fornecido. Rotule o tubo para cada amostra que será processada.



For Information Only, Not a Controlled Copy



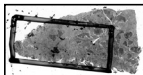
- b. As tiras num tubo de lise de 1,5 mL devem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C e processadas no espaço de 2 semanas após a preparação.

## Remoção de tecido da lâmina



1. Rotule um tubo de lise de 1,5 mL (fornecido) para cada amostra que será processada.
2. Se não for necessária macrodissecção:
  - a. Utilizando uma lâmina de corte nova ou um bisturi novo para cada amostra de tecido que será processada, retire (raspe) completamente da lâmina a secção de tecido do tumor invasivo e transfira para o tubo de lise de 1,5 mL rotulado.
  - b. A(s) secção(ões) num tubo de 1,5 mL deve(m) ser conservada(s) entre 2 °C e 8 °C e processada(s) no espaço de 2 semanas.
3. Se for necessária macrodissecção:
  - a. Examine a lâmina corada com H&E (patologista). Identifique (e delimite) a área do tumor para o ensaio. Consulte o folheto informativo do ensaio Xpert relativamente ao número necessário de lâminas ou ao requisito mínimo de celularidade do tumor.
  - b. Prepare para macrodissecção (patologista). Delimite a área do tumor que será utilizada para o ensaio na parte de trás da(s) lâmina(s) não corada(s), alinhando-a com a lâmina corada com H&E correspondente e transpondo a área delineada.
  - c. Realize a macrodissecção (patologista ou técnico). Utilizando uma lâmina de corte nova ou um bisturi novo para cada amostra de tecido que será processada, retire (raspe) completamente da lâmina o tecido delimitado do tumor invasivo (veja a Figura 1) e transfira para o tubo de lise de 1,5 mL rotulado.

Lâmina corada com H&E para referência



Não recomendada (remoção de tecido insuficiente)



Recomendada

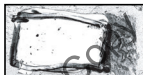


Figura 1: Exemplos de remoção correta (recomendada) e incorreta (não recomendada) de tecido da lâmina



- A(s) secção(ões) macrodissecada(s) num tubo de 1,5 mL deve(m) ser conservada(s) entre 2 °C e 8 °C e processada(s) no espaço de 2 semanas.

## Processamento de tecido FFPE

1. Pré-aqueça o bloco de aquecimento a 80 °C.
2. Adicione 1,2 mL de reagente de lise FFPE ao tubo de 1,5 mL que contém a secção/tira FFPE.
3. Adicione 20 µL de proteínaase K (PK) ao mesmo tubo de lise de 1,5 mL.
4. Feche a tampa.
5. Agite em vórtex a amostra continuamente numa definição máxima durante 5 segundos.
6. Microcentrifugue brevemente o tubo para remover o líquido da tampa.
7. Utilizando um bloco de aquecimento a 80 °C, proceda à incubação do tubo de lise de 1,5 mL contendo a amostra e o reagente de lise durante 30 minutos.
8. Agite em vórtex a amostra continuamente numa definição máxima durante 5 segundos.
9. Microcentrifugue brevemente o tubo para remover o líquido da tampa.
10. Utilizando uma pipeta, transfira todo o conteúdo (~1,2 mL) para um frasco de amostra de 5 mL fornecido.
11. Rotule o frasco para cada amostra que será processada.



12. Adicione 1,2 mL de etanol  $\geq 95\%$  ao mesmo frasco de amostra de 5 mL.
13. Aperte a tampa e agite em vórtex a amostra continuamente numa definição máxima durante 15 segundos.

## Processamento de tecido FFPE – Lisado concentrado
















Siga este protocolo se pretender um lisado mais concentrado devido a amostra insuficiente (tal deve ser considerado para uma área de tumor  $\leq 6 \times 1 \text{ mm}^2$  numa lâmina raspada). Consulte o folheto informativo do ensaio Xpert para obter informação adicional.

1. Pré-aqueça o bloco de aquecimento a  $80^\circ\text{C}$ .
2. Adicione 260  $\mu\text{L}$  de reagente de lise FFPE ao tubo de lise de 1,5 mL que contém a secção FFPE.
3. Adicione 5  $\mu\text{L}$  de proteinase K (PK) ao mesmo tubo de lise de 1,5 mL.
4. Feche a tampa.
5. Agite em vórtex a amostra continuamente numa definição máxima durante 5 segundos.
6. Microcentrifugue brevemente o tubo para remover o líquido da tampa.
7. Utilizando um bloco de aquecimento a  $80^\circ\text{C}$ , proceda à incubação do tubo de lise de 1,5 mL contendo a amostra e o reagente de lise durante 30 minutos.
8. Agite em vórtex a amostra continuamente numa definição máxima durante 5 segundos.
9. Microcentrifugue brevemente o tubo para remover o líquido da tampa.
10. Adicione 260  $\mu\text{L}$  de etanol  $\geq 95\%$  ao mesmo tubo de lise de 1,5 mL.
11. Feche a tampa.
12. Agite o tubo de lise em vórtex continuamente numa definição máxima durante 15 segundos.
13. Microcentrifugue brevemente o tubo para remover o líquido da tampa.

## Conservação e transporte das amostras

 O lisado preparado, com etanol, deve ser transportado para o laboratório entre 2 °C e 8 °C se o teste for realizado no espaço de 1 semana. Se um ensaio for realizado posteriormente, o lisado FFPE permanece estável e
  pode ser conservado até 4 semanas a  $\leq -20$  °C antes do teste.

## Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Marca CE – Conformidade Europeia
	Conteúdo suficiente para $\geq n$ testes
	Fabricante
	País de fabrico
	Limites de temperatura
	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
	Riscos biológicos
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Não reutilizar
	Cuidado
	Atenção
	Prazo de validade

## Contacto da assistência técnica

<b>Estados Unidos da América</b>	<b>França</b>
Telefone: + 1 888 838 3222	Telefone: + 33 563 825 319
E-mail: techsupport@cepheid.com	E-mail: support@cepheideurope.com

As informações de contacto para outros escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website:

[www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).



Fabricado para a Cepheid  
Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089 EUA  
Telefone: +1.408.541.4191  
Fax: +1.408.541.4192



Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France  
Telefone: +33.563.825.300  
Fax: +33.563.825.301

# Zestaw do lizy Xpert® FFPE Lysis Kit

**REF****GXFFPE-LYSIS-CE-10****IVD**Wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki *in vitro*

©2020 Cepheid

301-5224 Wer. D, wrzesień 2020 r.

Strona 60

## Polski

Wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro*.

## Opis

Zestaw do lizy Xpert® FFPE Lysis Kit jest przeznaczony do lizy próbek tkankowych utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie (Formalin-Fixed Paraffin Embedded, FFPE) i konserwacji kwasów nukleinowych do następczej analizy przy użyciu systemu GeneXpert.

## Materiały dostarczone

Zestaw do lizy Xpert FFPE Lysis Kit (1 zestaw, wystarczający do przygotowania 10 lizatów)

Każdy zestaw zawiera:



- 1 torebkę zawierającą 10 x 1,5 ml probówek
- 1 torebkę zawierającą 10 x 5 ml probówek
- 1 torebkę zawierającą 13 ml zbiorczego odczynnika do lizy FFPE
- 1 torebkę zawierającą 250 µl zbiorczej proteinyazy K

## Wymagane, lecz nie dostarczane materiały i sprzęt

- Hematoksylina i eozyna (H i E)
- Szklane szkiełka mikroskopowe o dodatnim ładunku
- Jednorazowe ostrza mikrotomu
- Mikrotom



- Łaźnia wodna (40°C)
- Statyw do suszenia szkiełek mikroskopowych
- Inkubator/cieplarka zapewniająca temperaturę 40–45°C do suszenia szkiełek (opcjonalnie)
- Jednorazowe żyłki (do makrodysekcji)
- Pipety z filtrowanymi końcówkami odpowiednimi do dokładnego odmierzenia 5 µl, 20 µl, 260 µl i 1,2 ml
- Blok cieplny mogący przechowywać 1,5 ml próbki do mikrowirówki (oraz utrzymywać temperaturę 80°C)
- Wytrząsarka typu vortex
- Standardowa mikrowirówka wolnostojąca z rotorem o stałym kącie nachylenia, w którym mieszczą się 1,5 ml próbki do mikrowirówki
- ≥ 95% alkohol etylowy o czystości odczynnika
- Jednorazowe rękawiczki
- Etykiety samoprzylepne lub dane identyfikacyjne próbek

## Ostrzeżenia i środki ostrożności



- Wszystkie próbki biologiczne należy obsługiwać z zachowaniem standardowych środków ostrożności. Probki powinny być obsługiwane wyłącznie przez pracowników przeszkolonych w obsłudze materiałów stanowiących zagrożenie biologiczne.
- Wszystkie próbki oraz odczynniki zestawu należy obsługiwać, stosując odpowiednie techniki, aby zapobiec lub zminimalizować kontaminację RNazą i/lub DNazą.
- Podczas obsługi próbek nie wolno używać ostrzy do makrodysekcji, końcówek pipet lub probówek/fiolek, aby uniknąć kontaminacji krzyżowej.



- Probówek z odczynnikami, z których wylał się odczynnik lub które są nieszczelne, nie należy używać — należy je wyrzucić.
- Przestrzegać procedur bezpieczeństwa obowiązujących w placówce w zakresie pracy z substancjami chemicznymi i obsługi próbek biologicznych.
- Niecałkowite usunięcie (zeskrobanie) obszaru nowotworu ze szkiełka w celu przygotowania lizatu FFPE może skutkować niewystarczającą ilością materiału do badania i w związku z tym wyższą niż oczekiwana liczbą wyników nieokreślonych/**NIEWAŻNY (INVALID)** uzyskanych za pomocą testów Xpert.

## Zagrożenia chemiczne



**Oświadczenie dotyczące zagrożeń:** H319 — Działa drażniąco na oczy.

### Zwroty wskazujące środki ostrożności:

P264: Dokładnie umyć po użyciu.

P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

P305+P351+P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

P337+P313: W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

## Wymagania dotyczące przechowywania zestawu



Zestaw do lizy FFPE należy przechowywać w temperaturze od 2°C do 28°C. Termin ważności wszystkich składników zestawu do lizy jest podany na etykietach zewnętrznego opakowania.

## Wymagania dotyczące tkanek FFPE

1. Próbkki muszą być utrwalone wyłącznie w 10% obojętnej, zbuforowanej formalinie (Neutral Buffered Formalin, NBF) przez okres od 6 do 72 godzin, aby mogły zostać oznaczone przy użyciu dowolnego testu Xpert wymagającego RNA lub DNA z tkanek FFPE.
2. Niektóre tkanki FFPE mające ponad 10 lat mogą mieć niewystarczającą jakość do analizy przy użyciu systemu GeneXpert.
3. Aby móc wykonać oznaczenie, patolog powinien wybrać tkanki/bloczek tkankowy FFPE o największym obszarze tkanki/zmiany nowotworowej, który jest wzrokowo dopuszczalny.
4. Test Xpert wymaga do przetworzenia niewybarwionych tkanek umieszczonych na szkiełkach mikroskopowych. Jeżeli wymagana jest makrodysekcja, należy użyć przylegającego szkiełka wybarwionego H i E z bloku ze zmianą nowotworową FFPE jako szablonu, aby upewnić się, że obszar zmiany nowotworowej zidentyfikowany na preparacie wybarwionym H i E stanowi reprezentatywną część obszaru zmiany nowotworowej na preparacie niewybarwionym.
5. Dodatkowe informacje zawiera ulotka informacyjna dołączona do pakietu testu Xpert.

## Przygotowanie preparatu/skrawka

Przygotowanie tkanek FFPE przy użyciu tego zestawu lizującego wymaga do przetworzenia niewybarwionych preparatów lub skrawków tkankowych umieszczonych na szkiełku mikroskopowym oraz przylegającego preparatu wybarwionego H i E i pochodzącego z tego samego bloczka tkankowego.

1. Używając mikrotomu, wyciąć skrawek/preparat o grubości 4–5  $\mu\text{m}$  do wybarwienia przy użyciu H i E.

2. Używając mikrotomu, wyciąć wystarczającą liczbę skrawków/preparatów o grubości 4–5  $\mu\text{m}$  przyległych do sekcji wyznaczonej na wybarwienie H i E, zgodnie z oceną patologa, do wykorzystania z zestawem do lizy FFPP Lysis.  
W przypadku preparatów wymagających wielu skrawków do spełnienia minimalnych wymagań testu Xpert, wszystkie skrawki należy przetwarzać razem.
3. Informacje dotyczące przetwarzania skrawków tkankowych opisano w poniższych sekcjach.
  - a. Zanurzyć skrawek (skrawki) w łaźni wodnej o temperaturze 40°C.
  - b. Umieścić skrawek (skrawki), po jednym na szkiełko, na szkiełku mikroskopowym o dodatnim ładunku.
  - c. Odczekać do wyschnięcia szkiełka (szkiełek) przez noc lub wyprażyć przez noc w temperaturze 40–45°C (preferowane rozwiązanie).
  - d. Preparaty ze skrawkami należy umieścić w temperaturze od 2°C do 8°C i przetworzyć w ciągu 1 miesiąca od przygotowania. Świeżo wycięte skrawki lub skrawki niewybarwione zapewniają najwyższą jakość i najbardziej rzetelne wyniki, gdyż mRNA podlega szybszemu rozpadowi w preparatach narażonych na kontakt z powietrzem niż w bloczkach FFPE.
4. Aby przetworzyć skrawek lub skrawki tkankowe, należy wykonać poniższe czynności.
  - a. Umieścić skrawek (skrawki) w dołączonej 1,5 ml probówce do lizy. Oznaczyć probówkę dla każdej przetwarzanej próbki.
  - b. Skrawki w 1,5 ml probówce należy przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C i przetworzyć w ciągu 2 tygodni od przygotowania.

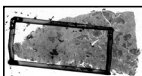


## Usuwanie tkanki ze szkiełka

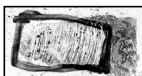
- Oznaczyć 1,5 ml probówkę do lizy (dostarczoną) dla każdej przetwarzanej próbki.
- Jeżeli makrodysekcja nie jest wymagana:
  - Używając nowej żyletki lub skalpela dla każdej przetwarzanej próbki tkankowej, zupełnie usunąć (zdrapać) skrawek tkankowy inwazyjnego nowotworu ze szkiełka i przenieść do oznaczonej 1,5 ml probówki do lizy.
  - Skrawki w 1,5 ml probówce należy przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C i przetworzyć w ciągu 2 tygodni.
- Jeżeli makrodysekcja jest wymagana:
  - Patolog powinien przeanalizować preparat wybarwiony H i E. Zidentyfikować (i oznaczyć obrys) obszaru nowotworu do wykonania testu. Informacje na temat wymaganej liczby preparatów lub minimalnej liczby komórek zmienionych nowotworowo opisano w ulotce informacyjnej dołączonej do pakietu testu Xpert.
  - Patolog powinien przygotować wszystko do makrodysekcji. Obrysować na tyle niewybarwionego preparatu obszar zmiany nowotworowej używany do testu poprzez wyrównanie preparatu z odpowiadającym preparatem wybarwionym przy użyciu H i E oraz przeniesienie obrysowanego obszaru.  
Patolog lub technik powinien wykonać makrodysekcję. Używając nowej żyletki lub skalpela dla każdej przetwarzanej próbki tkankowej, zupełnie usunąć (zdrapać) obrysowany skrawek tkankowy inwazyjnego nowotworu ze szkiełka (patrz ilustracja 1) i przenieść do oznaczonej 1,5 ml probówki do lizy.



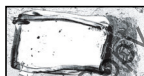
Referencyjny  
preparat  
wybarwiony H i E



Niezalecane  
(usunięto za  
mało tkanki)



Zalecane



**Ilustracja 1: Przykłady prawidłowego (zalecanego) i nieprawidłowego (niezalecanego) usuwania tkanki ze szkiełka**



- Skrawki po makrodysekcji w 1,5 ml probówce należy przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C i przetworzyć w ciągu 2 tygodni.

## Przetwarzanie tkanek FFPE

1. Wstępnie podgrzać blok cieplny do temperatury 80°C.
2. Dodać 1,2 ml odczynnika lizującego FFPE do 1,5 ml próbki zawierającej skrawek FFPE.
3. Do tej samej 1,5 ml próbki do lizy dodać 20 µl proteiny K (PK).
4. Zamknąć wieczko.
5. Wortexować próbkę z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 5 sekund.
6. Krótko odwirować próbkę w mikrowirówce, aby oddzielić płyn od wieczka.
7. Używając bloku cieplnego ustawionego na temperaturę 80°C, inkubować przez 30 minut 1,5 ml próbkę do lizy zawierającą próbkę i odczynnik lizujący.
8. Wortexować próbkę z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 5 sekund.
9. Krótko odwirować próbkę w mikrowirówce, aby oddzielić płyn od wieczka.
10. Używając pipety, przenieść całą zawartość (~1,2 ml) do dostarczonej 5 ml fiolki na próbkę.
11. Oznaczyć fiolkę dla każdej przetwarzanej próbki.
12. Dodać 1,2 ml  $\geq 95\%$  alkoholu etylowego do tej samej 5 ml fiolki na próbkę.
13. Zamknąć wieczko i wortexować próbkę z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 15 sekund.

## Przetwarzanie tkanek FFPE — stężony lizat

Jeżeli z powodu niewystarczającej ilości próbki (czyli w przypadku obszaru zmiany nowotworowej  $\leq 6 \times 1 \text{ mm}^2$  na preparacie) konieczne jest uzyskanie bardziej stężonego lizatu, należy skorzystać z poniższej procedury. Dodatkowe informacje zawiera ulotka informacyjna dołączona do pakietu testu Xpert.
















1. Wstępnie podgrzać blok cieplny do temperatury  $80^\circ\text{C}$ .
2. Dodać 260  $\mu\text{l}$  odczynnika lizującego FFPE do 1,5 ml próbówki do lizy zawierającej skrawek FFPE.
3. Do tej samej 1,5 ml próbówki do lizy dodać 5  $\mu\text{l}$  proteazy K (PK).
4. Zamknąć wieczko.
5. Worteksować próbkę z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 5 sekund.
6. Krótko odwirować próbkę w mikrowirówce, aby oddzielić płyn od wieczka.
7. Używając bloku cieplnego ustawionego na temperaturę  $80^\circ\text{C}$ , inkubować przez 30 minut 1,5 ml próbówkę do lizy zawierającą próbkę i odczynnik lizujący.
8. Worteksować próbkę z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 5 sekund.
9. Krótko odwirować próbkę w mikrowirówce, aby oddzielić płyn od wieczka.
10. Do tej samej 1,5 ml próbówki do lizy dodać 260  $\mu\text{l}$   $\geq 95\%$  alkoholu etylowego.
11. Zamknąć wieczko.
12. Worteksować próbkę do lizy z maksymalną prędkością w trybie ciągłym przez 15 sekund.
13. Krótko odwirować próbkę w mikrowirówce, aby oddzielić płyn od wieczka.

## Przechowywanie i transport próbki

Przygotowany lizat, z alkoholem etylowym, należy transportować do laboratorium w temperaturze od  $2^\circ\text{C}$  do  $8^\circ\text{C}$ , jeżeli badanie zostanie wykonane w ciągu 1 tygodnia. Jeżeli test ma zostać wykonany później, lizat FFPE zachowuje stabilność i można go przechowywać przed wykonaniem testu przez okres do 4 tygodni w przypadku temperatury przechowywania  $\leq -20^\circ\text{C}$ .



## Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Oznaczenie CE — zgodność z wymogami UE
	Zawiera ilość wystarczającą do wykonania $\leq n$ badań
	Producent
	Kraj produkcji
	Zakres temperatury
	Kod serii
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Zagrozenia biologiczne
	Wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej
	Nie używać ponownie
	Przeostroga
	Ostrzeżenie
	Termin ważności



## Pomoc techniczna

USA	Francja
Telefon: + 1 888 838 3222	Telefon: + 33 563 825 319
E-mail: techsupport@cepheid.com	E-mail: support@cepheideurope.com

Dane kontaktowe wszystkich centrów wsparcia klienta firmy Cepheid są dostępne na naszej stronie: [www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).



Wyprodukowano dla firmy Cepheid  
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  
Francja  
Telefon: +33.563.825.300  
Faks: +33.563.825.301

This Page is Intentionally Left Blank.

For Information Only - Not a Controlled Copy