

Xpert[®] FFPE Lysis Kit

REF GXFFPE-LYSIS-CE-10

Instruções de utilização

IVD **CE**

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2016-2022 Cepheid.

See Section 16, Revision History for a description of changes.

Cepheid[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®], e Xpert[®] são marcas comerciais da Cepheid, registadas nos EUA e noutros países.

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTAS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO. NENHUNS OUTROS DIREITOS SÃO ATRIBUÍDOS EXPRESSAMENTE, POR IMPLICAÇÃO OU POR PRECLUSÃO. ALÉM DISSO, NÃO SE CONFEREM NENHUNS DIREITOS DE REVENDA COM A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO.

© 2016-2022 Cepheid.

Consulte uma descrição das alterações em Secção 16, Histórico de revisões.

Xpert[®] FFPE Lysis Kit

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

1 Finalidade

1.1 Utilização prevista

O Xpert[®] FFPE Lysis Kit 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[®].

1.2 Utilizador/ambiente previsto

O Xpert FFPE Lysis Kit destina-se a ser executado por utilizadores com formação em contexto de laboratório.

2 Princípio de funcionamento

É colocado num tubo tecido FFPE (de uma tira ou lâmina) juntamente com os volumes recomendados de reagente de lise FFPE e proteinase K do Xpert FFPE Lysis Kit. A amostra é então incubada num bloco de aquecimento a uma temperatura de 80 °C durante aproximadamente 30 minutos. Durante esta incubação, ocorre o seguinte:

1. A solução aquecida começa a derreter a cera de parafina.
2. O reagente de lise inverte a ligação cruzada de proteínas formada durante o procedimento de fixação de formalina.
3. A proteinase K digere as proteínas e inativa nucleases (RNases & DNases) que de outra forma poderiam degradar o ADN e o ARN.

Por último, é adicionado etanol à amostra e o volume recomendado do lisado de amostra preparado é adicionado diretamente a um cartucho de GeneXpert designado.

3 Materiais fornecidos

Xpert FFPE Lysis Kit (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

4 Materiais e equipamento necessários, mas não fornecidos

- Micrótopo
- Lâminas de corte descartáveis ou bisturis (para macrodissecção)
- Pipetas e pontas de pipeta com filtro adequadas para transferir de forma precisa 5 µL, 20 µL, 260 µL e 600 µL
- Bloco de aquecimento adequado para suportar tubos de ultracentrifuga de 1,5 mL (e manter uma temperatura de 80 °C)
- Agitador 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

5 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.
- Consulte a ficha de dados de segurança (FDS) do Xpert FFPE Lysis Kit disponível online em www.cepheidinternational.com para obter informações detalhadas sobre segurança e eliminação dos componentes do kit de lise FFPE. Abaixo são fornecidas informações relevantes da ficha de dados de segurança (FDS).
 - Resíduos do produto - Eliminar o conteúdo e/ou recipiente(s) de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.
 - Resíduos da embalagem - Eliminar o conteúdo e/ou recipiente(s) de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

6 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
P302+P351+P338:	SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
P337+P313:	Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

7 Requisitos de conservação do kit

O Xpert FFPE Lysis Kit tem de ser conservado entre 2 °C e 28 °C e utilizado antes do prazo de validade (ver rótulo exterior do kit). O kit pode ser fechado e reaberto para processamento adicional de amostras no prazo de 8 semanas após a sua abertura inicial.

8 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 seleccionar 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.

9 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 com 4-5 µm de espessura para corar com H&E.
2. Corte uma secção adjacente com 4-5 µm de espessura, ou tira, para utilização 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 preparar secções de tecido, siga as técnicas histológicas padrão.
 - Certifique-se de que as secções de tecido estão totalmente secas.
 - As secções em lâminas devem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C e processadas no espaço de duas semanas após a preparação; contudo, 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 preparar tiras de tecido, siga os passos abaixo.
 - Coloque as tiras num tubo de lise de 1,5 mL fornecido. Rotule o tubo para cada amostra que será processada.
 - As tiras num tubo de 1,5 mL devem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C e processadas no espaço de 2 semanas após a preparação.

10 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 completa de tecido e transfira para um tubo de lise de 1,5 mL rotulado.
 - b. As secções num tubo de 1,5 mL devem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C e processadas 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.
 - d. As secções macrodissecadas num tubo de 1,5 mL devem ser conservadas entre 2 °C e 8 °C e processadas no espaço de 2 semanas.

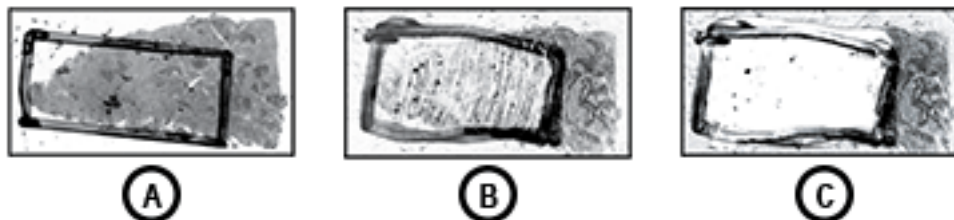


Figura 1. Exemplos de remoção correta (recomendada) e incorreta (não recomendada) de tecido da lâmina

A	Lâmina corada com H&E para referência
B	Não recomendada (remoção de tecido insuficiente)
C	Recomendada

11 Processamento de tecido FFPE

1. Adicione 1200 µL (1,2 mL) de reagente de lise FFPE e 20 µL de proteinase K ao tubo que contém a amostra FFPE, em seguida aperte a tampa.
2. Agite a amostra num agitador de vórtex durante pelo menos 10 segundos, em seguida gire brevemente a amostra (para remover o líquido da tampa).
3. Incube a amostra durante pelo menos 30 minutos num bloco de aquecimento pré-aquecido a 80 °C.
4. Após a incubação a uma temperatura de 80 °C, agite a amostra num agitador de vórtex durante pelo menos 10 segundos, em seguida gire brevemente a amostra.
5. Utilizando uma pipeta, transfira a totalidade da amostra (~1,2 mL) para um frasco de amostra de 5 mL rotulado.
6. Adicione 1200 µL de etanol >95% à amostra e aperte a tampa.
7. Agite a amostra num agitador de vórtex durante pelo menos 15 segundos.

12 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. Adicione 260 µL de reagente de lise FFPE e 5 µL de proteinase K a um tubo de 1,5 mL rotulado que contém a amostra FFPE, em seguida aperte a tampa.
2. Agite a amostra num agitador de vórtex durante pelo menos 10 segundos, em seguida gire brevemente a amostra (para remover o líquido da tampa).
3. Incube a amostra durante pelo menos 30 minutos num bloco de aquecimento pré-aquecido a 80 °C.
4. Após a incubação a uma temperatura de 80 °C, agite a amostra num agitador de vórtex durante pelo menos 10 segundos, em seguida gire brevemente a amostra.
5. Adicione 260 µL de etanol $\geq 95\%$ ao mesmo tubo de lise de 1,5 mL e aperte a tampa.
6. Agite a amostra num agitador de vórtex durante pelo menos 10 segundos, em seguida gire brevemente a amostra.

13 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 ≤ -20 °C antes do teste.

14 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Marcação CE — Conformidade Europeia
	Conteúdo suficiente para n testes
	Fabricante
	País de fabrico
	Limites de temperatura
	Código de lote
	Consultar as instruções de utilização
	Riscos biológicos
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Mandatário na Comunidade Europeia
	Não reutilizar
	Cuidado
	Atenção
	Prazo de validade

15 Assistência técnica

Estados Unidos da América

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

França

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

As informações de contacto de todos os escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: www.cepheid.com/en/support/contact-us



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em www.cepheid.com/en/support/support/order-management.

Detalhes do importador para a UE/Suíça

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

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

16 Histórico de revisões

Descrição das alterações: 301-5224 Rev. D a 302-6233 Rev. A

Finalidade: Alinhar com os requisitos do regulamento (UE) 2017/746

Secção	Descrição da alteração
1	Secção atualizada para "Finalidade" e adicionadas subsecções "Finalidade" e "Utilizador/Ambiente previsto"
2	Adicionada nova secção "Princípio de funcionamento"
4	Secção atualizada
5	Adicionada referência à FDS
7	Secção ampliada
9	Atualizado procedimento para preparação de lâmina/tira
10	Atualizado procedimento para remoção de tecido da lâmina
11	Atualizado procedimento para processamento de tecido FFPE
12	Atualizado procedimento para processamento de tecido FFPE com lisado concentrado
15	Atualizadas informações de assistência técnica
16	Adicionada secção "Histórico de revisões"