

OptiView DAB IHC Detection Kit

REF

760-700

06396500001

IVD

Σ 250

USO PREVISTO

OptiView DAB IHC Detection Kit (OptiView) es un sistema indirecto sin biotinas de detección de IgG de ratón e IgM de ratón y de anticuerpos primarios de conejo. El kit está destinado a la identificación de dianas mediante inmunohistoquímica (IHC) en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina o congelado que se tiñen con los módulos de tinción de portaobjetos automatizados VENTANA y se visualizan mediante microscopía óptica. La interpretación clínica de cualquier tinción o de la ausencia de la tinción debe estar complementada con estudios morfológicos y la evaluación de los controles correspondientes.

La interpretación de este producto debe correr a cargo de un anatomopatólogo cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

Este producto está destinado para uso diagnóstico in vitro (IVD).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La inmunohistoquímica (IHC) es una técnica de laboratorio con fines diagnósticos. La inmunohistoquímica (IHC) utiliza los anticuerpos primarios para localizar los antígenos presentes en secciones de tejido fijado o congelado y favorecer la unión entre ellos. La unión del anticuerpo al antígeno se observa mediante un método indirecto de detección. Las técnicas más habituales de métodos indirectos recurren a un anticuerpo secundario dirigido contra la especie del anticuerpo primario y una enzima con el correspondiente sistema de sustrato cromogénico. Esta combinación da lugar a un precipitado con color en el sitio de unión del anticuerpo específico. El kit OptiView DAB IHC Detection Kit, mediante un método indirecto, permite visualizar los anticuerpos específicos que se han unido a los antígenos a través del depósito de un precipitado de color marrón.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

OptiView DAB IHC Detection Kit detecta los anticuerpos primarios de ratón y conejo específicos que se unen al antígeno en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina (FFPE) o congelado. El anticuerpo específico se localiza mediante la unión de un anticuerpo secundario específico a través de un anticuerpo terciario marcado con una enzima. El complejo se puede visualizar en ese momento con sustrato de peróxido de hidrógeno y el cromógeno 3,3'-tetracloruro de diaminobencidina (DAB), que produce un precipitado de color marrón que se puede observar mediante microscopía óptica.

El protocolo de tinción está formado por diversos pasos en los que los reactivos se incuban durante periodos predeterminados y a temperaturas específicas. Al final de cada paso de incubación, el instrumento BenchMark IHC/ISH lava las secciones para eliminar todo el material que no ha ligado y aplica un cubreobjetos líquido que reduce al máximo la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos.¹ Los resultados se interpretan mediante microscopía óptica y contribuyen al diagnóstico diferencial de los procesos patofisiológicos que pueden estar asociados con un antígeno concreto o no.

Para obtener información más detallada sobre el funcionamiento del instrumento, consulte el Manual del usuario correspondiente.

En la Figura 1 se ilustra el método indirecto de detección.

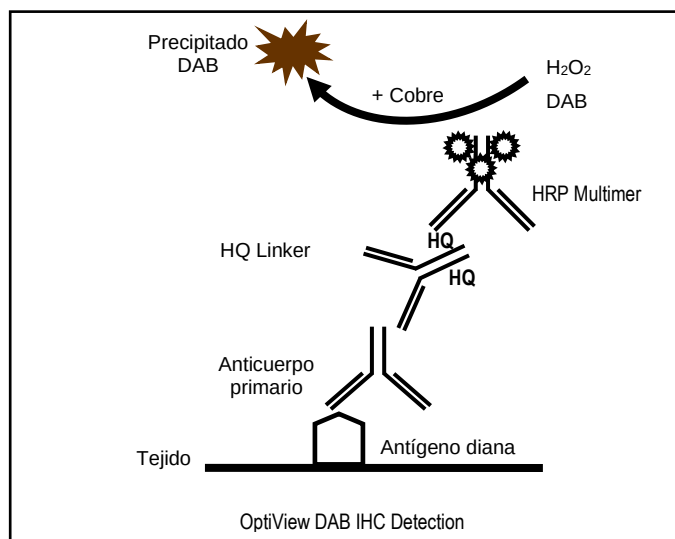


Figura 1. OptiView DAB IHC Detection Kit.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material suministrado

OptiView DAB IHC Detection Kit contiene reactivo suficiente para 250 pruebas.

Un dispensador de 25 mL de	OptiView Peroxidase Inhibitor contiene una solución de peróxido de hidrógeno al 3.0 %.
Un dispensador de 25 mL de	OptiView HQ Universal Linker contiene aproximadamente 50 µg/mL de una combinación de anticuerpos marcados con HQ (HQ es un hapteno patentado con unión covalente a los anticuerpos de cabra), como los anticuerpos de cabra anti-IgG de ratón, los anticuerpos de cabra anti-IgM de ratón y los anticuerpos de cabra anti-conejo, en un tampón con proteína y ProClin 300 al 0.05 %, un conservante.
Un dispensador de 25 mL de	de OptiView HRP Multimer contiene aproximadamente 40 µg/mL de un anticuerpo terciario monoclonal de ratón anti-HRP marcada con HQ en un tampón con proteína y ProClin 300 al 0.05 %, un conservante.
Un dispensador de 25 mL de	de OptiView DAB contiene 3,3'-tetracloruro de diaminobencidina (DAB) al 0.2 % p/v en una solución estabilizadora patentada con un conservante propio.
Un dispensador de 25 mL de	OptiView H2O2 contiene peróxido de hidrógeno al 0.04 % en una solución de tampón fosfato.
Un dispensador de 25 mL de	de OptiView Copper contiene sulfato de cobre (5.0 g/L) en un tampón acetato con un conservante propio.

Reconstitución, mezcla, dilución, titulación

El kit de detección se ha optimizado para su uso con los instrumentos BenchMark IHC/ISH. No son necesarias la reconstitución, la mezcla, la dilución ni la titulación de los reactivos del kit. Una dilución mayor puede dar lugar a una pérdida de tinción.

Materiales necesarios pero no suministrados

No se suministran reactivos de tinción como los anticuerpos primarios de VENTANA ni componentes auxiliares, incluyendo portaobjetos de control de tejido negativos y positivos.

Puede que no todos los productos que aparecen en la hoja de datos estén disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local de asistencia técnica de Roche.

No se suministran los reactivos y materiales siguientes en el kit de detección, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Anticuerpo primario
2. Reactivo de control negativo
3. Controles tisulares recomendados
4. OptiView Amplification Kit (n.º cat. 760-099 / 06396518001 [50 pruebas] o n.º cat. 860-099 / 06718863001 [250 pruebas])
5. Protease 1 (n.º cat. 760-2018 / 05266688001)
6. Protease 2 (n.º cat. 760-2019 / 05266696001)
7. Protease 3 (n.º cat. 760-2020 / 05266718001)
8. Hematoxylin (n.º cat. 760-2021 / 05266726001)
9. Hematoxylin II (n.º cat. 790-2208 / 05277965001)
10. Bluing Reagent (n.º de cat. 760-2037 / 05266769001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
12. Cell Conditioning Solution (CC1) (n.º cat. 950-124 / 05279801001)
13. Cell Conditioning Solution (CC2) (n.º cat. 950-123 / 05279798001)
14. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (n.º cat. 950-223 / 05424542001)
16. Antibody Diluent (n.º cat. 251-018 / 05261899001)
17. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
18. LCS (Predilute) (n.º cat. 650-010 / 05264839001)
19. ULTRA LCS (Predilute) (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
20. Instrumento BenchMark IHC/ISH
21. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
22. Cubreobjetos y método de cubreobjetos suficiente para cubrir el tejido
23. Equipo de laboratorio de uso general

Almacenamiento y estabilidad

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvese de 2-8°C. No lo congele. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no se especifique en la hoja de datos. Este kit de detección se puede utilizar de inmediato tras extraerlo del refrigerador.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad de cada reactivo, sustituya el tapón del dispensador después de cada uso y almacénelo inmediatamente en el refrigerador, en posición vertical.

Todos los kits de detección tienen una fecha de caducidad. Si se almacena correctamente, el producto se mantendrá estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No utilice el producto después de la fecha de caducidad del método de conservación prescrito. No existen indicios absolutamente precisos de la inestabilidad de este producto, por tanto, es necesario analizar simultáneamente controles positivos y negativos con las muestras desconocidas. Debe ponerse en contacto de inmediato con el representante local de asistencia técnica de Roche si observa el menor indicio de inestabilidad del reactivo.

Recogida y preparación de muestras para análisis

Los tejidos FFPE resultan adecuados para su uso con OptiView DAB Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH (consulte la sección Materiales necesarios pero no suministrados). El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro (NBF) al 10 %.² Es posible que se obtengan resultados variables como consecuencia del grosor de la sección de tejido, el tipo de fijación, la fijación incompleta o prolongada o bien de procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Las secciones deben cortarse con el grosor adecuado (2-5 µm) para el anticuerpo primario que se va a utilizar y colocarse en un portaobjetos de microscopio de vidrio cargado positivamente. Antes de hornearlos, los portaobjetos que contienen la sección de tejido deberían dejarse secar en posición vertical durante al menos 15 minutos a temperatura ambiente para que se drene el exceso de agua que se haya podido acumular debajo de la sección. Los portaobjetos se pueden meter al horno o calentar a una temperatura de 60 °C ± 5 °C durante una hora o dejar que se sequen al aire a 37 °C durante un máximo de 24 horas. El calentamiento y secado de portaobjetos sirve para secar el tejido una vez que se ha montado en el portaobjetos y para mejorar la adhesión

del tejido al vidrio. Consulte la hoja de datos del anticuerpo primario para conocer las limitaciones de calentamiento. El calentamiento prolongado del tejido podría dar como resultado una reducción de la disponibilidad del antígeno.

Los tejidos con expresión del antígeno que se han fijado y embebido correctamente conservarán su estabilidad si se almacenan en un lugar fresco (a entre 15 y 25 °C). En la ley Clinical Laboratory Improvement Act (CLIA) de 1988, 42CFR493.1259 (b), se exige que «El laboratorio debe conservar los portaobjetos durante al menos diez años desde la fecha de estudio y los bloques de muestras durante al menos dos años a partir de la fecha de estudio». Cada laboratorio debe validar la estabilidad del portaobjetos con el corte para sus propios procedimientos y condiciones de almacenamiento medioambiental.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. **Advertencia: posible carcinógeno.** Tanto la International Agency for Research on Cancer (IARC) como el US National Toxicology Program (NTP) han incorporado la bencidina, un compuesto estrechamente relacionado con el 3, 3'-tetracloruro de diaminobencidina (DAB), a su lista de carcinógenos humanos conocidos.
4. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
5. La solución ProClin 300 se utiliza como conservante en esta solución. Está clasificada como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel. Adopte precauciones razonables cuando la manipule. Evite el contacto de los reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa protectora y guantes.
6. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales potencialmente biopeligrosos y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.^{3,4}
7. Adopte las precauciones razonables cuando manipule los reactivos. Evite el contacto de los reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice guantes y póngase el equipo de protección personal cuando vaya a manipular material tóxico y sustancias posiblemente carcinógenas.
8. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante. Evite la inhalación de los reactivos.
9. Asegúrese de que el recipiente de residuos está vacío antes de comenzar una sesión con el instrumento. Si no toma estas precauciones, el recipiente de residuos puede llegar a rebosar y el usuario corre el riesgo de resbalar y caerse.
10. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría producir a resultados incorrectos.
11. Para obtener más información sobre el uso de este dispositivo, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark IHC/ISH y las hojas de datos de todos los componentes necesarios, que puede encontrar en navifyportal.roche.com.
12. Consulte a las autoridades locales o nacionales para conocer el método de eliminación recomendado.
13. El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del SGA de la UE. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
14. Para comunicar la sospecha de incidentes graves relacionados con este dispositivo, póngase en contacto con su representante local de servicio Roche y con las autoridades competentes del Estado o País Miembro de residencia del usuario.

Este producto contiene componentes clasificados como sigue de conformidad con el Reglamento (CE) n.º 1272/2008:

Tabla 1. Información de riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
	H350	Puede provocar cáncer.
	H412	Perjudicial para los organismos acuáticos con efectos nocivos duraderos.
	P201	Antes de utilizarlo, obtenga cualquier tipo de instrucción especial.
	P202	No lo manipule hasta haber leído atentamente las precauciones de seguridad y haberlas entendido por completo.

Riesgo	Código	Declaración
	P273	Evitar su emisión al medio ambiente.
	P280	Lleve guantes y prendas de protección, así como protección auditiva y para el rostro.
	P308 + P313	Si se sufre una exposición importante: Consultar a un médico.
	P501	Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada.

EUH208: Contiene una mezcla de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona y 2-metil-2H - isotiazol-3-ona (3:1). Puede provocar una reacción alérgica.

PROCEDIMIENTO

El kit OptiView DAB IHC Detection Kit se ha creado para su uso con los instrumentos BenchMark IHC/ISH junto con los anticuerpos primarios VENTANA y sus accesorios. Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden visualizar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario del instrumento. El instrumento contiene otros parámetros de funcionamiento predefinidos en fábrica.

Los procedimientos de tinción de los instrumentos BenchMark IHC/ISH se detallan a continuación. Si desea obtener instrucciones detalladas y opciones adicionales de protocolos, consulte el Manual del usuario. La necesidad de utilizar Cell Conditioning varía en función del anticuerpo. Consulte la hoja de datos del anticuerpo para obtener directrices al respecto.

Instrumentos BenchMark IHC/ISH

- Coloque la etiqueta de código de barras de portaobjetos que se corresponda con el protocolo que se va a llevar a cabo.
- Cargue el anticuerpo primario y los dispensadores del kit de detección correspondiente, así como el reactivo auxiliar necesario, en la bandeja de reactivos y colóquelos en el instrumento.
- Compruebe los fluidos y los vacíe los residuos.
- Cargue los portaobjetos en el instrumento.
- Inicie la sesión de tinción.
- Cuando haya finalizado la sesión, retire los portaobjetos del instrumento.
- Vaya a la sección Procedimientos de procesamiento post-instrumento recomendados.

Procedimientos de procesamiento post-instrumento recomendados

- Lave los portaobjetos con detergente lavavajillas suave para eliminar la solución cubreobjetos.
- Enjuague los portaobjetos a fondo con agua destilada para eliminar todo el detergente.
- Deshidrate los portaobjetos, aclárelos y coloque el cubreobjetos con un medio de montaje permanente.

PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD

Control de tejido positivo

Es necesario incluir un control de tejido positivo en cada sesión de procedimiento de tinción que se lleve a cabo. La práctica de laboratorio óptima consiste en incluir una sección de control positivo en el mismo portaobjetos que contiene el tejido del paciente. Esta práctica contribuye a la identificación de errores en la aplicación del anticuerpo primario y otros reactivos cruciales en el portaobjetos de la prueba del paciente. Un tejido con una tinción débil positiva es más adecuado para obtener un control de calidad óptimo. Los componentes de tinción positiva del tejido sirven para comprobar que el anticuerpo se ha aplicado y el instrumento ha funcionado correctamente. El tejido de control puede contener células o elementos de tinción tanto positiva como negativa y ambos sirven como tejidos de control positivo y negativo. El tejido de control debe ser una autopsia reciente, biopsia o cirugía, preparada o fijada con la mayor brevedad y mediante un proceso idéntico al de las secciones de prueba. Estos tejidos se utilizarán para hacer un seguimiento de todos los pasos que conlleva el proceso, desde la preparación del tejido hasta la tinción. El uso de una sección de tejido fijada o procesada de forma diferente a la muestra de la prueba actuará como control en todos los pasos de reactivo y del método, salvo en los de fijación y procesamiento de tejidos.

Los controles de tejido positivos conocidos solo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los reactivos de la prueba y de los tejidos procesados, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras del paciente. Si los controles de tejido positivos no muestran una tinción positiva, los resultados con las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

Control tisular negativo

El mismo tejido que se utiliza como control de tejido positivo puede servir como control tisular negativo. La variedad de los diferentes tipos de células presentes en la mayor parte de las secciones de tejido suele ofrecer puntos de control negativo internos, pero es necesaria su comprobación por parte del usuario. Aquellos componentes que no provocan tinción deberían presentar ausencia de tinción específica y ofrecer una indicación sobre la tinción de fondo. Si se presenta una tinción específica en los puntos de control tisular negativo, deberán considerarse no válidos los resultados en la muestra del paciente.

Discrepancias no explicadas

Las discrepancias no explicadas en los controles deberían comunicarse al representante local de asistencia técnica de Roche de forma inmediata. Si los resultados de los controles de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no serán válidos. Consulte la sección Resolución de problemas de esta hoja de datos. Identifique el problema y corríjalo; a continuación, repita las muestras del paciente.

Control de reactivo negativo

Se debe utilizar el control de reactivo negativo de cada muestra en cada sesión como ayuda para la interpretación de los resultados. Para evaluar la tinción no específica se utiliza un control de reactivo negativo en lugar del anticuerpo primario. La tinción del portaobjetos debería realizarse con Negative Control Mouse o Negative Control Rabbit Ig, según corresponda. El diluyente por sí mismo puede servir como alternativa a los controles de reactivo negativo que se han mencionado anteriormente. El periodo de incubación del control de reactivo negativo debe ser idéntico al del periodo de incubación del anticuerpo primario.

Cuando se utilizan paneles de varios anticuerpos en secciones en serie, la presencia de un control de reactivo negativo en un portaobjetos puede servir como control de fondo de unión no específica o negativa de otros anticuerpos.

Verificación del ensayo

Antes de comenzar a utilizar un anticuerpo primario o un sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, se debe comprobar la especificidad del anticuerpo primario mediante pruebas en una serie de tejidos que contengan características de rendimiento en inmunohistoquímica conocidas y que reflejen tejidos positivos y negativos conocidos (consulte la sección de Controles de tejido positivos que se encuentra en la hoja de datos del anticuerpo primario y las recomendaciones sobre control de calidad de College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist⁵ o CLSI Approved Guideline⁶ o ambos). Estos procedimientos de control de calidad se deberían repetir con cada lote nuevo de anticuerpo o siempre que se cambien los parámetros del ensayo. Los tejidos que se enumeran en la sección Características de rendimiento del anticuerpo primario son aptos para llevar a cabo la verificación del ensayo.

Interpretación de los resultados

El kit OptiView DAB IHC Detection Kit provoca que un producto de reacción con color marrón o rojo se precipite en los puntos del antígeno que localiza el anticuerpo primario. Un anatomopatólogo cualificado con experiencia en procedimientos de inmunohistoquímica debe evaluar los controles y calificar el producto con tinción antes de interpretar los resultados. La tinción de los controles negativos debe anotarse en primer lugar y hay que comparar los resultados con el material con tinción para comprobar que la señal que se ha generado no es la causa de las interacciones no específicas.

Control de tejido positivo

Debe examinarse el control de tejido positivo con tinción en primer lugar para comprobar que todos los reactivos han funcionado correctamente. La existencia de un producto de reacción con el color adecuado en las células diana indica una reactividad positiva. En función de la duración de la incubación y de la potencia de la hematoxilina que se haya utilizado, la contratinción puede dar como resultado una coloración azul oscuro, más clara o más oscura, en los núcleos celulares. Una contratinción incompleta o excesiva puede comprometer la correcta interpretación de los resultados.

Si el control de tejido positivo no muestra una tinción positiva, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

Control tisular negativo

El control tisular negativo se debe estudiar después del control de tejido positivo para comprobar el etiquetado específico del antígeno diana mediante el anticuerpo primario. La ausencia de una tinción específica en el control de tejido negativo confirma la falta de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se presenta una tinción específica en el control tisular negativo, deberán considerarse no válidos los resultados en la muestra del paciente.

De presentarse tinción no específica, tendrá una apariencia difusa. También es posible observar una tinción ligera esporádica en el tejido conjuntivo en aquellas secciones de tejido que se han fijado excesivamente con formol. Las células que quedan intactas se deben utilizar durante la interpretación de los resultados de la tinción. La tinción de las células necróticas o degeneradas suele resultar no específica.

Tejido del paciente

Las muestras del paciente se deben examinar en último lugar. La intensidad de la tinción positiva deberá evaluarse en contexto junto con la tinción de fondo no específica del control de reactivo negativo. Como ocurre en todas las pruebas de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado el antígeno en concreto, no necesariamente que este no esté presente en las células o en el tejido que se ha usado para el ensayo. Cuando lo considere oportuno, utilice un panel de anticuerpos para contribuir a la identificación de reacciones falsos negativos. Siempre que se vaya a interpretar un resultado de inmunohistoquímica, debería examinarse también la morfología de cada muestra de tejido mediante una sección de tejido con tinción de hematoxilina y eosina. La interpretación de las conclusiones morfológicas del paciente y los datos clínicos pertinentes deben dejarse en manos de un anatomopatólogo cualificado.

LIMITACIONES

Limitaciones generales

1. La inmunohistoquímica (IHC) es un proceso de diagnóstico que comprende varios pasos y requiere una formación especializada en cuanto a la correcta elección de los tejidos y los reactivos, la fijación, el procesamiento, la preparación de portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
2. La tinción del tejido depende de la manipulación y el procesamiento del tejido antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento y seccionado incorrectos o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede provocar la aparición de artefactos, el enmascaramiento de anticuerpos o resultados falsos negativos. La existencia de resultados incoherentes puede ser el resultado de la introducción de variaciones en los métodos de fijación e inclusión o puede derivarse de las irregularidades características del tejido.
3. Una contratinción incompleta o excesiva puede comprometer la correcta interpretación de los resultados.
4. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva, al igual que su ausencia, es algo que se debe evaluar en función del contexto del historial médico, la morfología y otros criterios histopatológicos. La interpretación clínica de todas las tinciones, o la ausencia de estas, se debe complementar con los estudios morfológicos y los controles correspondientes, así como con otras pruebas diagnósticas. Es responsabilidad del anatomopatólogo cualificado estar familiarizado con los anticuerpos, los reactivos y los métodos que se utilizan para interpretar la preparación de la tinción. La tinción se debe llevar a cabo en un laboratorio certificado y con licencia y bajo la supervisión de un anatomopatólogo, que será el responsable de revisar los portaobjetos teñidos y de garantizar la idoneidad de los controles positivos y negativos.
5. VENTANA proporciona anticuerpos y reactivos con una dilución óptima para su uso siempre que se respeten las instrucciones que se suministran. Cualquier diferencia en la forma de llevar a cabo los procedimientos de prueba recomendados pueden invalidar los resultados previstos. Deben emplearse los controles adecuados y documentarlos. Los usuarios que no sigan los procedimientos de prueba recomendados deberán hacerse responsables de la interpretación de los resultados de la paciente.
6. Los reactivos pueden mostrar reacciones imprevistas en tejidos que no se hayan probado previamente. Existe la posibilidad, aunque sea remota, de encontrarse con reacciones no previstas incluso en los grupos de tejidos probados no se puede eliminar por completo, dada la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasias u otros tejidos anatomopatológicos.^{7,8} Póngase en contacto con su

representante local de asistencia técnica de Roche si cuenta con reacciones imprevistas documentadas.

7. En los tejidos de pacientes contagiados con el virus de la hepatitis B o que contienen antígeno de superficie de hepatitis b (HBsAg) es posible que se presente una tinción no específica con la peroxidasa de rábano.⁹
8. Cuando se utilizan en los pasos de bloqueo, el suero normal de la misma fuente animal que el antisuero secundario pueden dar lugar a resultados de tinción falsos positivos o falsos negativos debido a la existencia de autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
9. Como ocurre en todas las pruebas de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado el antígeno, no necesariamente que este no esté presente en las células o en el tejido que se ha usado para el ensayo.

Limitaciones específicas

1. Cada uno de los pasos del procedimiento de este kit de detección se ha optimizado para su uso con instrumentos BenchMark IHC/ISH y ha quedado predefinido. Es posible que sea necesario incrementar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales por las variaciones que se dan en la fijación y el procesamiento de los tejidos. El tiempo de incubación del anticuerpo primario depende del nivel de fijación del tejido y puede oscilar entre los 4 y los 120 minutos. Para obtener más información sobre las variables de fijación, consulte «Immunohistochemistry Principles and Advances»¹⁰ o «Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist».¹¹
2. El kit de detección, cuando se utiliza junto con los anticuerpos primarios y los accesorios VENTANA, detecta el antígeno que queda una vez se han llevado a cabo el procesamiento del tejido y el corte rutinarios.
3. El kit de detección se ha optimizado para su uso con la solución de lavado Reaction Buffer, los anticuerpos primarios, los accesorios y los instrumentos BenchMark IHC/ISH. El uso de la solución de lavado Reaction Buffer es importante para que el kit de detección funcione correctamente. Los usuarios que no sigan los procedimientos de prueba recomendados deberán hacerse responsables de la interpretación de los resultados del paciente teniendo en cuenta las circunstancias.
4. El kit de detección se ha optimizado para su uso con LCS (Predilute) o ULTRA LCS (Predilute). LCS es una solución de cubreobjetos diluida previamente que sirve como barrera entre los reactivos acuosos y el aire, y también como reactivo para eliminar la parafina de las muestras de tejido durante el proceso de desparafinado. La barrera de LCS reduce la evaporación y ofrece un entorno acuoso estable para las reacciones de IHC o de hibridación in situ (ISH) que se llevan a cabo en los instrumentos BenchMark IHC/ISH.
5. Tiempos de incubación y temperaturas diferentes a los especificados pueden dar lugar a la obtención de resultados erróneos. El usuario debe validar cualquier modificación que se lleve a cabo al respecto.
6. Es posible que no todos los kits de detección estén registrados en cada instrumento. Póngase en contacto con el representante local de asistencia técnica de Roche para obtener más información.
7. El fijador recomendado para su uso con el sistema de detección OptiView es Neutral Buffered Formalin (formol tamponado neutro, NBF) al 10 %. El uso del fijador Modified Davidson puede dar lugar a resultados de tinción inaceptables.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

RENDIMIENTO DE ANÁLISIS

El rendimiento de OptiView DAB IHC Detection Kit se ha evaluado mediante estudios de reproducibilidad y de otros tipos con similar importancia. Todas las tinciones se realizaron mediante el protocolo que se indica en la hoja de datos del anticuerpo en instrumentos BenchMark IHC/ISH a menos que se especifique lo contrario.

Entre las pruebas realizadas figuraban las siguientes:

Sensibilidad y especificidad

Pruebas de especificidad para demostrar la detección específica de los anticuerpos primarios de ratón y conejo y los niveles aceptables de tinción de fondo no específica para garantizar que no se comprometía la interpretación de los resultados positivos ni negativos.

Pruebas de sensibilidad para demostrar la capacidad de detección de los anticuerpos primarios unidos a niveles bajos de antígenos con los patrones de tinción correspondientes.

Precisión

- Precisión en una sola sesión y entre sesiones
- Precisión en una sola plataforma y entre plataformas

En todos los casos se llevó a cabo la lectura de las muestras de tejido, que resultó aceptable en cuanto a la idoneidad de la tinción y a la calidad de la tinción celular morfológica. Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo presenta una tinción más débil de lo previsto, compruebe el resto de la sesión de control positivo que se han analizado en la misma sesión y el mismo instrumento para establecer si el problema se debe al anticuerpo primario o a alguno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo es negativo, debe asegurarse de que el portaobjetos lleva la etiqueta de código de barras correcta. Si se ha etiquetado correctamente el portaobjetos, compruebe el resto de los controles positivos que se han analizado en la misma sesión y el mismo instrumento para establecer si el problema se debe al anticuerpo primario o a alguno de los reactivos secundarios comunes. Es posible que los tejidos se hayan recogido, fijado o desparafinado de forma incorrecta. Siga el procedimiento apropiado para llevar a cabo la recogida, la conservación y la fijación.
3. La eliminación incompleta de la parafina puede dar lugar a la presencia de artefactos en la tinción o a la ausencia de tinción.
 - Si no se ha eliminado toda la parafina del portaobjetos, la sesión de tinción debería repetirse con una opción de desparafinado más prolongada si fuera posible.
 - También es posible llevar a cabo un desparafinado manual fuera del instrumento. Si se elige la opción manual, no seleccione el desparafinado en línea del protocolo de tinción antes de cargar los portaobjetos en el instrumento. Se deben extremar las precauciones para garantizar que los portaobjetos no se secan antes de la sesión de tinción.
4. Si la tinción de anticuerpo específica es demasiado intensa, se debe repetir la sesión reduciendo el tiempo de incubación en intervalos de 4 minutos para obtener la intensidad de tinción deseada.
5. Si las secciones de tejido se pierden en el portaobjetos, debe comprobar que los portaobjetos tienen carga positiva.
6. Si necesita llevar a cabo acciones correctivas, consulte la sección Procedimientos, el Manual del usuario del instrumento o póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche.
7. Si el dispensador del reactivo no dispensa el líquido, compruebe la cámara de cebado o el menisco por si hubiera restos de materiales extraños o partículas, como fibras o precipitados. Si se ha bloqueado el dispensador, no lo utilice y póngase en contacto con el representante local de asistencia técnica de Roche. En caso contrario, vuelva a cebar el dispensador colocándolo sobre el recipiente de residuos, retirando el tapón de la boquilla y presionando hacia abajo la parte superior del dispensador. Consulte la hoja de datos correspondiente al dispensador en línea asociado con P/N 760-700 para obtener más información sobre su correcto uso.
8. Es posible que se presente actividad peroxidasa endógena si no se selecciona Peroxidase Inhibitor (inhibidor de la peroxidasa) antes o después de la aplicación del anticuerpo primario. El ajuste predeterminado es sin aplicación. El usuario debe elegir cuándo se debe aplicar Peroxidase Inhibitor (inhibidor de la peroxidasa) al establecer el protocolo, si fuera necesario.
9. Es posible que se produzca una tinción no prevista en el plasma y los mastocitos como resultado de la digestión de proteasa. Se debe evaluar un control tisular negativo para indicar el nivel de tinción de fondo en comparación con un resultado con tinción positiva.⁸

REFERENCIAS

1. Elias JM, Gown AM, Nakamura RM, et al. Quality control in immunohistochemistry. Report of a workshop sponsored by the Biological Stain Commission. Am J Clin Pathol. 1989;92(6):836-843.
2. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
3. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.

4. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 Jun 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
5. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2009.
6. CLSI (formerly NCCLS). Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. CLSI document MM4-A (ISBN 1-56238-396-5). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
7. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
8. Hautzer NW, Wittkuhn JF, Elliott-McCaughy WT. Trypsin Digestion in Immunoperoxidase Staining. Jour of Histochem and Cytochem. 1980;28:52-53.
9. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Pathol. 1980;73(5):626-32.
10. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
11. Taylor C, Cote RJ. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. 2nd Edition. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1986.

NOTA: En este documento se ha usado el punto como separador decimal para marcar el borde entre la parte entera y la parte fraccionaria de los numerales con decimales. No se han usado separadores para las unidades de millar.

Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para USA: consulte elabdoc.roche.com/symbols para obtener más información).



Número de artículo de Global Trade

Rx only

Para USA: Precaución: Las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos.

HISTORIAL DE REVISIONES

Rev	Actualizaciones
F	Actualización de la sección Advertencias y precauciones y actualización a la plantilla actual.

PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK y OPTIVIEW son marcas comerciales de Roche. Todos los demás nombres de productos y marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.
© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

INFORMACIÓN DE CONTACTO



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, AZ 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.roche.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim
Germany
+800 5505 6606

