

**ultraView SISH DNP Detection Kit**

**REF** 800-098  
05907136001

**IVD** 100

**USO PREVISTO**

ultraView SISH DNP Detection Kit de Ventana Medical Systems Inc (Ventana) es un sistema indirecto sin biotinas destinado a la detección de las sondas marcadas con DNP. El kit está destinado a la identificación de dianas mediante hibridación in situ (ISH) con plata en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina que se han teñido con instrumentos BenchMark IHC/ISH.

La interpretación clínica de cualquier tinción o de la ausencia de la tinción debe estar complementada con estudios histológicos y la evaluación de los controles correspondientes. Debe ser un lector cualificado quien se encargue de la evaluación en el contexto de la historia clínica del paciente y las demás pruebas diagnósticas.

Este kit de detección está destinado para uso diagnóstico in vitro (IVD).

**RESUMEN Y EXPLICACIÓN**

En general, la hibridación in situ (ISH) emplea sondas marcadas para detectar las secuencias diana de ADN o ARN específicas en secciones de tejido fijadas. Las secuencias diana quedan expuestas al calentar el tejido y la solución de la sonda para desnaturalizar los ácidos nucleicos. La reacción se deja enfriar posteriormente, lo que permite que la sonda marcada de ácido nucleico hibride con la secuencia de ácido nucleico complementaria en el tejido.

La hibridación de la sonda a la secuencia diana se observa mediante un método indirecto de detección. Una de las técnicas indirectas más habituales se basa en el uso de un anticuerpo secundario dirigido contra las especies de anticuerpos primarios (anti-hapteno) y una enzima con su correspondiente sistema de sustrato cromogénico. El resultado de esta combinación es un precipitado con color en el sitio de unión de la sonda específica. El ultraView SISH DNP Detection Kit, mediante un método indirecto, permite visualizar la sonda específica que se han unido a las secuencias de ácido nucleico complementarias a través del depósito de un precipitado de color negro.

**PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO**

El ultraView SISH DNP Detection Kit detecta las sondas marcadas con dinitrofenilo (DNP) específicas que se han unido a las secuencias diana mediante la hibridación in situ con plata (SISH) en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina (FFPE). En primer lugar, la sección se hibrida con una sonda marcada con DNP, seguido de una incubación con un anticuerpo de conejo anti-DNP, que se une al hapteno DNP en la sonda. Se aplican entonces una solución de multímero y un anticuerpo secundario de cabra anti-conejo con enzima de peroxidasa de rábano (HRP) para detectar el anticuerpo anti-DNP de conejo. La visualización de la unión del anticuerpo secundario se produce con un depósito de plata catalizado mediante la enzima (HRP), que provoca un precipitado negro. Los iones de plata (Ag+) de la solución Silver ISH DNP Chromogen A (Silver A) se reducen mediante la hidroquinona de la solución Silver ISH DNP Chromogen B (Silver B) a iones metálicos de plata (Ag0). El sustrato de HRP y el peróxido de hidrógeno (Silver C) favorecen la reacción. El precipitado de plata se deposita en los núcleos y se puede observar la secuencia diana en forma de punto negro, que queda preparada para su visualización mediante microscopía óptica. A continuación es necesaria la contratinción de la muestra con Hematoxylin II para poder llevar a cabo la interpretación 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. <sup>1</sup> Los resultados se interpretan mediante microscopía óptica y contribuyen al diagnóstico diferencial de los procesos patofisiológicos.

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.

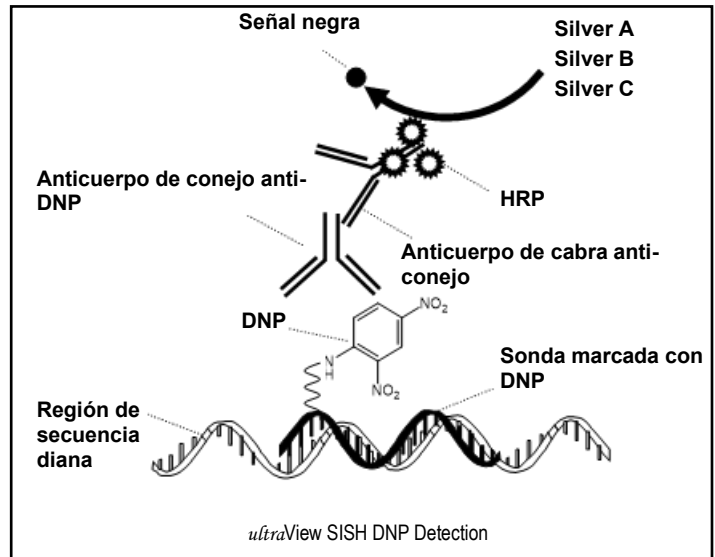


Figura 1. Reacción de *ultraView SISH DNP Detection*.

**MATERIAL Y MÉTODOS**

**Material suministrado**

ultraView SISH DNP Detection Kit contiene reactivo suficiente para 100 pruebas.

- Un dispensador de 10 ml *ultraView SISH DNP HRP* contiene un conjugado de peroxidasa de rábano (HRP) con un anticuerpo de cabra anti-conejo (aproximadamente 20 µg/mL) en un tampón con estabilizadores de proteínas y ProClin 300 al 0.05 %, un conservante.
- Un dispensador de 10 ml El anticuerpo *ultraView SISH DNP Rabbit anti-DNP Antibody* contiene aproximadamente 150 µg/mL de un anticuerpo monoclonal de conejo dirigido contra DNP diluido en un tampón que contiene una proteína transportadora y el conservante ProClin 300 al 0.05 %.
- Un dispensador de 20 mL *ultraView SISH DNP Chromogen A* contiene aproximadamente un 1 % de CH<sub>3</sub>COOAg en una solución acuosa.
- Un dispensador de 10 ml *ultraView SISH DNP Chromogen B* contiene aproximadamente un 1 % de hidroquinona en una solución de tampón citrato.
- Un dispensador de 10 ml *ultraView SISH DNP Chromogen C* contiene aproximadamente un 0.2 % de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en una solución acuosa.

**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 reactivo de tinción como los anticuerpos primarios/sondas 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, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Sonda marcada con DNP
2. Controles de tejido positivos y negativos (consulte las hojas de datos de la sonda para conocer los tipos recomendados)
3. HybReady Solution (n.º cat. 780-4409 / 05917557001)
4. ultraView Silver Wash II (n.º cat. 780-003 / 05446724001)
5. ISH Protease 2 (n.º cat. 780-4148 / 05273323001)
6. ISH Protease 3 (n.º cat. 180-4149 / 05273331001)
7. Hematoxylin II (n.º cat. 780-2208 / 05277965001)
8. Bluing Reagent (n.º de cat. 760-2037 / 05266769001)
9. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
10. SSC (10X) (n.º cat. 950-110 / 05353947001)
11. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
12. Cell Conditioning Solution (CC2) (n.º cat. 950-123 / 05279798001)
13. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (n.º cat. 950-223 / 05424542001)
14. LCS (Predilute) (n.º cat. 650-010 / 05264839001)
15. ULTRA LCS (Predilute) (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
16. Instrumento BenchMark IHC/ISH
17. Portaobjetos de microscopio Superfrost Plus (VWR con ref. 48311-703 o equivalentes)
18. Medio de montaje permanente
19. Cubreobjetos de cristal
20. Equipo de laboratorio de uso general

**Almacenamiento y estabilidad**

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvase de 2-8 °C. No lo congele. 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 sesión y almacénelo inmediatamente en el refrigerador, en posición vertical.

Todos los kits de detección tienen una fecha de caducidad. Si se almacena correctamente, los reactivos se mantendrán estables hasta la fecha indicada en la etiqueta. No se debe usar el producto después de la fecha de caducidad. 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 se obtienen resultados no previstos.

**Recogida y preparación de muestras para análisis**

Los tejidos FFPE que se procesan de forma habitual resultan adecuados para su uso con ultraView SISH DNP Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro (NBF) al 10 %.<sup>2</sup> 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 la sonda que se va a utilizar y colocarse en un portaobjetos de microscopio Superfrost Plus o equivalente. Es necesario drenar o secar los portaobjetos para eliminar cualquier resto de agua que se encuentre entre el portaobjetos y el tejido. Los portaobjetos se pueden calentar para aumentar la adhesión del tejido al vidrio. Consulte la hoja de datos de la sonda para conocer las limitaciones de calentamiento.

En las secciones cuyo grosor supere los 4 µm puede ser necesario un tratamiento de proteasa más fuerte que el que se recomienda en las condiciones; además, puede presentar un burbujeo mayor en el núcleo que las secciones con menos grosor debido al exceso de parafina en el tejido. El burbujeo se observa en forma de burbujas pequeñas o grandes o vacuolas en el núcleo. Este artefacto, por lo general, no empuja las señales de plata a la periferia del núcleo ni las distorsiona y, por lo tanto, no interfiere con el recuento de las señales. No obstante, existen casos de burbujeo más graves que pueden distorsionar las señales de plata del núcleo de forma que no sea posible llevar a cabo el recuento. Es posible que sea necesario llevar a cabo el desparafinado de estas muestras en soluciones de alcohol y xileno antes de realizar la tinción en el instrumento. El burbujeo en el núcleo puede producirse también cuando la fijación es insuficiente (de 1 a 3 horas con formol), aunque en este caso es, por lo general, menos discreto. En el caso de los tejidos que se han fijado durante tres horas, es posible corregirlo mediante la

modificación del tratamiento de acondicionamiento celular o de proteasa, pero en los tejidos que se han fijado durante una hora es probable que no haya manera de corregirlo. Los tejidos con expresión de ARN y ADN 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. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
4. 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 guantes y ropa de protección.
5. 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.<sup>3,4</sup>
6. 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.
7. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante. Evite la inhalación de los reactivos.
8. 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.
9. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría producir a resultados incorrectos.
10. 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](http://navifyportal.roche.com).
11. Consulte a las autoridades locales o nacionales para conocer el método de eliminación recomendado.
12. 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.
13. 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
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	H319	Provoca irritación grave en los ojos
	P261	Evite inhalar la niebla o los vapores
	P280	Lleve guantes de protección, así como protección ocular y para el rostro.
	P333 + P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
	P337 + P313	Si la irritación no mejora, consulte con un médico.
	P362 + P364	Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

Riesgo	Código	Declaración
	P501	Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada.

EUH208: Contiene hidroquinona. Puede provocar una reacción alérgica.

Este producto contiene CAS n.º 55965-84-9, masa reactiva de: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).

**PROCEDIMIENTO**

ultraView SISH DNP Detection Kit se ha creado para su uso con los instrumentos BenchMark IHC/ISH junto con los reactivos auxiliares VENTANA. Los protocolos de tinción se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento que se describe 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 más detalladas y opciones adicionales de protocolos, consulte el Manual del usuario o la hoja de datos de la sonda correspondiente.

**Instrumentos BenchMark IHC/ISH**

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

**Procedimientos de procesamiento post-instrumento recomendados**

Nota: Para garantizar la deshidratación total, es necesario cambiar las soluciones de etanol periódicamente y se puede añadir una tercera solución de etanol al 100 %.

1. Para eliminar la solución Liquid Coverslip, lave de forma secuencial los portaobjetos en dos soluciones de detergente lavavajillas suave (no debe utilizarse detergente desarrollado para lavavajillas automáticos).
2. Enjuague bien los portaobjetos con agua destilada durante aproximadamente un minuto. Retire el exceso de agua.
3. Transfiera los portaobjetos a una solución de etanol al 80 % durante aproximadamente 1 minuto.
4. Transfiera los portaobjetos a una solución de etanol al 90 % durante aproximadamente 1 minuto.
5. Transfiera los portaobjetos a una solución de etanol al 100 % durante aproximadamente 1 minuto.
6. Transfiera los portaobjetos a una segunda solución de etanol al 100 % durante aproximadamente 1 minuto.
7. Sumerja los portaobjetos 10 veces en acetona al 100 % (de un solo uso, sustituya la acetona después de cada sesión de tinción). No deje los portaobjetos en acetona.
8. Transfiera los portaobjetos a la primera solución de xileno durante unos 30 segundos.
9. Transfiera los portaobjetos a la segunda solución de xileno durante unos 30 segundos.
10. Coloque el cubreobjetos en el portaobjetos.

**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. Los componentes de tinción positiva del tejido sirven para comprobar que se han aplicado los reactivos y el instrumento ha funcionado correctamente. Este tejido 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 muestra de autopsia, biopsia o cirugía, preparada o fijada mediante un proceso idéntico al de las secciones de prueba. El uso de secciones de tejido fijadas o procesadas de forma diferente a la muestra de la prueba actuará como control de comparación en todos los pasos de reactivo y del método en los que influyen la fijación y el 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 positivo no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

Consulte la hoja de datos de la sonda correspondiente para obtener más información sobre las recomendaciones específicas sobre el control de tejido positivo.

**Control tisular negativo**

Consulte la hoja de datos de la sonda correspondiente, si fuera oportuno.

**Control de reactivo positivo**

Consulte la hoja de datos de la sonda correspondiente, si fuera oportuno.

**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. Identifique el problema y corríjalo; a continuación, repita las muestras del paciente.

**Verificación del ensayo**

Antes de comenzar a utilizar una sonda o un sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, se deben comprobar la especificidad de la sonda mediante pruebas en una serie de tejidos que contengan características de rendimiento en ISH conocidas (consulte la hoja de datos de la sonda) y las recomendaciones sobre control de calidad de College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist<sup>5</sup>, o de CLSI Approved Guideline<sup>6</sup> o todos ellos. Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse para cada nuevo lote o reactivo, o cuando se produzca un cambio en los parámetros del ensayo.

**Interpretación de los resultados**

El ultraView SISH DNP Detection Kit provoca que un producto de reacción con color negro se precipite en la secuencia de ácido nucleico que ha hibridado la sonda. Un anatomopatólogo cualificado con experiencia en procedimientos de ISH 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.

**LIMITACIONES**

**Limitaciones generales**

1. La ISH es una metodología que comprende varios pasos y requiere una formación especializada en cuanto a la correcta elección de los reactivos, el procesamiento y la preparación de las muestras, la preparación de los portaobjetos y la interpretación de los resultados.
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 corte incorrectos o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede provocar la aparición de artefactos, que los reactivos queden atrapados en el tejido o la obtención de resultados falsos negativos y falsos positivos. La existencia de resultados incoherentes puede ser consecuencia de la introducción de variaciones en los métodos de fijación e inclusión o puede derivarse de las irregularidades características del tejido.
3. Una contratación 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. Es responsabilidad del anatomopatólogo cualificado estar familiarizado con los reactivos y los métodos que se utilizan para preparar 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 con tinción y de garantizar la idoneidad de los controles.

- VENTANA proporciona 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.
- 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, dada la variabilidad biológica de los tejidos.<sup>7</sup> Póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche si cuenta con reacciones imprevistas documentadas.

### Limitaciones específicas

- 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 periodo de hibridación en muestras individuales por las variaciones que se dan en la fijación y el procesamiento de los tejidos. Para obtener más información sobre las variables de fijación, consulte «Immunohistochemistry Principles and Advances»<sup>8</sup> o «Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist».<sup>9</sup>
- El kit de detección, cuando se utiliza junto con las sondas y los accesorios VENTANA, detecta secuencias de ácido nucleico que permanecen una vez se han llevado a cabo la fijación en formol, el procesamiento del tejido y el corte rutinarios.
- Como ocurre en cualquier otra prueba, un resultado negativo significa que no se ha detectado una secuencia de ácido nucleico concreta, y no necesariamente que esta no esté presente en las células o en el tejido que se han usado para el ensayo.
- El kit de detección se ha optimizado para su uso con la solución de lavado Reaction Buffer, las sondas, 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.
- 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 tanto como barrera entre los reactivos acuosos y el aire como de reactivo para eliminar la parafina de las muestras de tejido durante el proceso de desparafinado. La barrera del LCS reduce la evaporación y ofrece un entorno acuoso estable para las reacciones de IHC o ISH que se llevan a cabo en los instrumentos BenchMark IHC/ISH.
- 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.

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El rendimiento de ultraView SISH DNP Detection Kit se ha evaluado mediante estudios de precisión y de otros tipos con similar importancia. Las tinciones se realizaron mediante el protocolo que se indica en la hoja de datos de la sonda en instrumentos BenchMark IHC/ISH a menos que se especifique lo contrario.

- Se evaluó la precisión intermedia de ultraView SISH DNP Detection Kit junto con INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail en cinco casos diferentes de carcinoma de mama humano (en los que se representaba el rango dinámico del estado del gen HER2) y HER2 Dual ISH 3-in-1 Xenograft Slides durante cinco días no consecutivos en seis instrumentos (dos instrumentos BenchMark, dos BenchMark XT y dos BenchMark ULTRA). El número medio de copias de HER2 y del Chromosome 17 que se obtuvieron de cada instrumento (en las tres plataformas) en cada una de las cinco sesiones. Un porcentaje superior al 95 % de los portaobjetos teñidos y se evaluaron en el estudio (un total de 506) se consideró apto en cuanto a la idoneidad del portaobjetos y dio como resultado la presencia de números de copia de HER2 y Chromosome 17 reproducibles con porcentajes de coeficiente de variación (% CV) < 10 % en todos los días y las plataformas que se probaron.
- La repetibilidad entre lotes de ultraView SISH DNP Detection Kit se determinó analizando cada uno de los tres lotes de INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail con tres lotes de ultraView SISH DNP y ultraView Red ISH DIG Detection Kit en portaobjetos duplicados de tres casos de carcinoma de mama humano y HER2 Dual ISH 3-in-1 Xenograft Slides. Todos los portaobjetos (100 %) pasaron la

prueba de adecuación de portaobjetos y fueron enumeradas por un lector cualificado para copias sin procesar de HER2 y del Chromosome 17 en 20 núcleos/muestras. Los datos se sometieron a un análisis de componentes de la variación basado en un modelo de efectos aleatorios y los resultados confirman que se cumplieron todos los criterios de aceptación en el estudio. Los % CV del lote de sondas, el lote de kits de detección y en una sola sesión fueron todos < 11 %.

- La sensibilidad y especificidad clínicas se determinaron mediante un estudio de comparación entre el ensayo INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail, en el que los números de copia de HER2 y el Chromosome 17 se determinan a través de un solo portaobjetos con ultraView SISH DNP Detection Kit y la detección Red ISH con el ensayo INFORM HER2 DNA Probe, en el que los números de copia de HER2 y el Chromosome 17 se determinan a través de portaobjetos independientes mediante una sola detección SISH. La concordancia general entre los dos ensayos fue del 90.6 % en la determinación del estado de HER2.

### RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

- Consulte la sección sobre Resolución de problemas o la hoja de datos de la sonda correspondiente.
- 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.
- Si las secciones de tejido se pierden en el portaobjetos, debe comprobar que los portaobjetos tienen carga positiva. Consulte la sección Recogida y preparación de muestras para análisis.
- Si las secciones de tejido con un grosor superior a 4 µm presentan burbujeo en el núcleo por el exceso de parafina, seleccione la opción «desparafinado ampliado» durante el procedimiento de tinción.
- Si necesita llevar a cabo acciones correctivas, consulte la sección Procedimiento, el Manual del usuario del instrumento o póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche.
- 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 asociada con 800-098 correspondiente del dispensador en línea asociado para obtener más información sobre su correcto uso.

### REFERENCIAS

- 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.
- Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
- College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
- 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.
- Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
- Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology. 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

9. 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 en todo momento 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.

El resumen de los aspectos de seguridad y rendimiento se puede ver a continuación:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

### 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](http://elabdoc.roche.com/symbols) para obtener más información).



Número mundial de artículo comercial

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	Se han actualizado las secciones Advertencias y precauciones y Referencias. Actualización a la plantilla actual.

### PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK y ULTRAVIEW son marcas comerciales de Roche. Todos los demás nombres de productos y marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

### INFORMACIÓN DE CONTACTO



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

[www.roche.com](http://www.roche.com)

