

## VENTANA ISH /VIEWBlue Detection Kit

**REF** 800-092

05278511001

**IVD**  200

### USO PREVISTO

VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit es un sistema indirecto con biotina y estreptavidina para la detección de sondas marcadas con fluoresceína. El kit está destinado a la identificación de dianas mediante hibridación in situ en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina que se han teñido con un instrumento BenchMark IHC/ISH.

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

En general, la hibridación in situ (ISH) emplea sondas marcadas para detectar las secuencias diana de ADN o ARN específicas en muestras 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 de ácido nucleico se observa mediante un método indirecto de detección. Una de las técnicas indirectas más habituales se basa en el uso de un anticuerpo secundario biotinilado dirigido contra las especies de anticuerpo primario anti-hapteno y una enzima ligada a su correspondiente sistema de sustrato cromogénico. El resultado de esta combinación es un precipitado con color en el sitio de unión del anticuerpo específico. VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit, mediante un método indirecto, permite visualizar las secuencias de ácido nucleico complementarias a través del depósito de un precipitado de color azul.

### PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit detecta las sondas específicas marcadas con fluoresceína que se han unido a secuencias específicas en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina (FFPE). VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit contiene un anticuerpo primario anti-fluoresceína de ratón que detecta las sondas marcadas con fluoresceína ligadas a la secuencia diana. Tras la detección del anticuerpo anti-fluoresceína tiene lugar la unión de un anticuerpo secundario biotinilado de cabra anti-IgG de ratón. A continuación, se añade el conjugado enzimático de fosfatasa alcalina (AP) con estreptavidina, que se une a la biotina presente en el anticuerpo secundario. En ese momento es posible visualizar el complejo con 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato (BCIP) y el cromógeno nitroazul de tetrazolio (NBT), que da lugar a un precipitado de color azul que se puede detectar mediante microscopía óptica.

A diferencia de la peroxidasa de rábano, la fosfatasa alcalina no se ve afectada por la actividad peroxidasa endógena y, por tanto, es más eficaz a la hora de marcar las muestras que tienen una gran infiltración de neutrófilos y eosinófilos. El nitroazul de tetrazolio tiñe el tejido de color azul y una de sus ventajas es que cuenta con un elevado coeficiente de extinción, lo que da como resultado una reacción de color más intenso en los sitios en los que interactúan la sonda y la diana.

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 el material que no se ha ligado y aplica un cubreobjetos líquido que minimiza la evaporación de los reactivos acuosos del portaobjetos. Los resultados se interpretan mediante microscopía óptica y contribuyen al diagnóstico diferencial de los procesos patofisiológicos, que pueden estar asociados con la tinción positiva de la sonda o no.

Para obtener información más detallada sobre el funcionamiento del instrumento, consulte el Manual del usuario correspondiente. En Figura 1 se ilustra el método indirecto de detección.

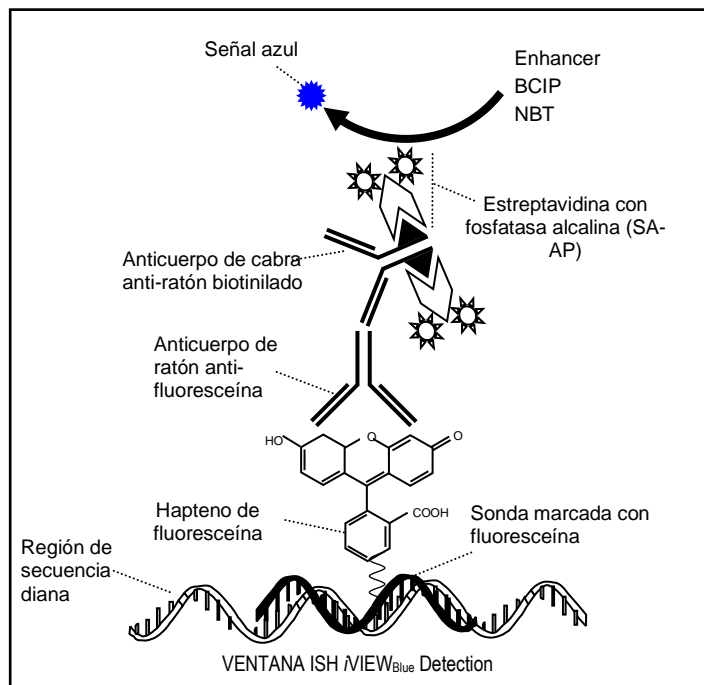


Figura 1. Reacción de VENTANA ISH /VIEW Blue Detection

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Material suministrado

VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit contiene reactivo suficiente para 200 pruebas.

Un dispensador de 20 mL	VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit contiene aproximadamente 0.5 µg/mL de un anticuerpo monoclonal de ratón anti-fluoresceína en un tampón fosfato salino con estabilizador de proteína y ProClin 300 al 0.10 %, un conservante.
Un dispensador de 20 mL	VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit Biotinylated Ig contiene aproximadamente 10 µg/mL de un anticuerpo de cabra anti-IgG de ratón purificado por afinidad en un tampón fosfato salino con estabilizador de proteína y ProClin 300 al 0.10 %, un conservante.
Un dispensador de 20 mL	VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit Streptavidin Alkaline Phosphatase contiene aproximadamente un 1 % de fosfatasa alcalina con estreptavidina en un tampón Tris con MgCl <sub>2</sub> y ZnCl <sub>2</sub> y ProClin 300 al 0.10 %, un conservante.
Un dispensador de 20 mL	VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit Enhancer contiene aproximadamente un 11 % v/v de una solución de MgCl <sub>2</sub> y ProClin 300 al 0.10 %, un conservante.
Un dispensador de 20 mL	VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit NBT contiene nitroazul de tetrazolio (0.5 g/L) en dimetilformamida aproximadamente al 1 % v/v.
Un dispensador de 20 mL	VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit BCIP contiene 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato (0.5 g/L) en un tampón Tris.

#### Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

El kit de detección se ha optimizado para su uso con un instrumento 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 kits de detección 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. Sonda de HIS
2. Controles de tejido positivos y negativos (consulte las hojas de datos de la sonda para conocer los tipos recomendados)
3. ISH Protease 1 (n.º cat. 780-4147 / 05273315001)
4. ISH Protease 2 (n.º cat. 780-4148 / 05273323001)
5. ISH Protease 3 (n.º cat. 780-4149 / 05273331001)
6. Red Counterstain II (n.º cat. 780-2218 / 05272017001)
7. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
8. Negative Control Probe (n.º cat. 800-2847 / 05278716001)
9. SSC (10X) (n.º cat. 950-110 / 05353947001)
10. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
11. Cell Conditioning Solution (CC1) (n.º cat. 950-124 / 05279801001)
12. Cell Conditioning Solution (CC2) (n.º cat. 950-123 / 05279798001)
13. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
14. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (n.º cat. 950-223 / 05424542001)
15. LCS (Predilute) (n.º cat. 650-010 / 05264839001)
16. ULTRA LCS (Predilute) (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
17. Instrumento BenchMark IHC/ISH
18. Medio de montaje permanente
19. Cubreobjetos en cantidad suficiente para cubrir los tejidos
20. Montador automático
21. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
22. Equipo de laboratorio de uso general.

### Almacenamiento y estabilidad

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvelo entre 2 y 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 VENTANA ISH /VIEW Blue 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 %.<sup>1</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 de preparaciones de médula ósea.

Las secciones deben cortarse con el grosor adecuado (de entre 2 y 5 µm) para la sonda que se va a utilizar y colocarse en un portaobjetos de microscopio de vidrio cargado positivamente. 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

Blue ISH 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 en el núcleo más graves que pueden distorsionar el núcleo o las señales Blue ISH de forma que no sea posible llevar a cabo la enumeración. Puede que sea necesario llevar a cabo un desparafinado de estas muestras con soluciones de xileno y alcohol antes de repetir la tinción con el instrumento o que el usuario deba seleccionar la opción ampliada de desparafinado en el procedimiento de tinción (consulte la sección Resolución de problemas). El burbujeo en el núcleo puede producirse también cuando la fijación es insuficiente (de 1 a 3 horas con formol), aunque en este caso se produce, por lo general, un burbujeo menos discreto. En el caso de los tejidos que se han fijado durante tres horas, es posible corregirlo mediante la modificación del acondicionamiento celular o el tratamiento 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». En cada laboratorio se deberá validar la estabilidad del corte del portaobjetos en función de sus propios procedimientos y de sus condiciones del entorno de conservación.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. **PRECAUCIÓN:** En Estados Unidos, las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos. (Rx Only)
4. **Advertencia: el producto contiene formamida.** La formamida es una sustancia química tóxica cuando se inhala y moderadamente tóxica cuando se ingiere. Tiene la capacidad de irritar la piel, los ojos y las membranas mucosas y se absorbe a través de la piel. Riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto. Adopte las precauciones oportunas cuando manipule los reactivos. Utilice guantes y póngase el equipo de protección personal cuando vaya a manipular material tóxico y sustancias posiblemente carcinógenas. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
5. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
6. 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.
7. 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>2,3</sup>
8. 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.
9. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante. Evite la inhalación de los reactivos.
10. 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.
11. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría producir a resultados incorrectos.
12. 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 [naviportal.roche.com](http://naviportal.roche.com).
13. Consulte a las autoridades locales o nacionales para conocer el método de eliminación recomendado.
14. 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.
15. 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.

**Tabla 1.** Información de riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	H360D	Puede ocasionar daños en el feto
	H412	Perjudicial para los organismos acuáticos con efectos nocivos duraderos.
	P201	Antes de utilizarlo, obtenga cualquier tipo de instrucción especial
	P261	Evite inhalar la niebla o los vapores.
	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.
	P333 + P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

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

## PROCEDIMIENTO

VENTANA ISH /VIEW Blue 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

- Coloque la etiqueta de código de barras de portaobjetos que se corresponda con el protocolo que se va a llevar a cabo.
- Cargue los dispensadores de la sonda y los dispensadores del kit de detección correspondiente, así como los dispensadores de reactivo auxiliar necesarios, 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.
- Continúe con 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 %.

- 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).
- Enjuague bien los portaobjetos con agua destilada durante aproximadamente un minuto. Retire el exceso de agua.
- Transfiera los portaobjetos a una solución de etanol al 80 % durante aproximadamente 1 minuto.
- Transfiera los portaobjetos a una solución de etanol al 90 % durante aproximadamente 1 minuto.
- Transfiera los portaobjetos a una solución de etanol al 100 % durante aproximadamente 1 minuto.
- Transfiera los portaobjetos a una segunda solución de etanol al 100 % durante aproximadamente 1 minuto.

- 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.
- Transfiera los portaobjetos a la primera solución de xileno durante unos 30 segundos.
- Transfiera los portaobjetos a la segunda solución de xileno durante unos 30 segundos.
- 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. 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. Los controles tisulares internos se usan a discreción del investigador o anatomopatólogo principales. 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

Es necesario incluir un control negativo de la muestra en cada sesión de procedimiento de tinción que se lleve a cabo. Su objetivo es llevar a cabo un seguimiento de la reactividad cruzada imprevista de la sonda con los componentes celulares. La misma muestra que se utiliza como control positivo de la muestra puede servir como control negativo de la muestra. La variedad de los diferentes tipos de células presentes en la mayor parte de las muestras 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 inaceptable en los puntos de la muestra de control negativo, deberán considerarse no válidos los resultados en la muestra del paciente.

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

### Control de reactivo positivo

El control de reactivo positivo debería analizarse durante la verificación del ensayo y la resolución de problemas, dado que la accesibilidad al ADN y al ARN puede variar en función del método de fijación y del tratamiento previo de la muestra.

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

### Control de reactivo negativo

El control de reactivo negativo debería reemplazarse de la sonda de HIS con cada muestra teñida para contribuir a la interpretación del resultado de cada uno de los pacientes. Todo ello indica la tinción de fondo no específica en cada portaobjetos. En lugar de con la sonda de ISH, tñe el portaobjetos con Negative Control Probe. El periodo de incubación de los controles debe corresponderse con el de la sonda.

El control negativo es particularmente importante si se descubre que la forma intestinal de la fosfatasa alcalina se puede encontrar en células que no sean las del borde en cepillo de las células epiteliales intestinales.<sup>4</sup> Además, las enzimas con capacidad de reducir el nitroazul de tetrazolio se pueden conservar durante la fijación.<sup>5,6</sup>

### 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 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 debe 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>7</sup> o de CLSI Approved Guideline<sup>8</sup> o todos ellos). Estos procedimientos de control de calidad se deberían repetir con cada lote o reactivo nuevo o siempre que se cambien los parámetros del ensayo.

### Interpretación de los resultados

VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit provoca que un producto de reacción con color azul 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 se ha producido por 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 del manejo y el procesamiento de tejidos antes de llevar a cabo 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 contratinción excesiva o incompleta puede poner en riesgo la interpretación correcta 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.
5. Los reactivos VENTANA se proporcionan con una dilución óptima para su uso siempre que se respeten las instrucciones que se suministran. Una dilución mayor puede dar lugar a una pérdida de la tinción adecuada. 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. No es posible descartar totalmente la posibilidad de observar reacciones no previstas incluso en los grupos de tejidos probados, dada la variabilidad biológica de los tejidos. Póngase en contacto con el representante local de asistencia técnica de Roche y documente las reacciones imprevistas.

#### 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 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>6</sup> o «Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist».<sup>9</sup>

2. El kit de detección, cuando se utiliza junto con las sondas y los accesorios VENTANA, detecta la secuencia de ácido nucleico que permanece una vez que se han llevado a cabo la fijación en formol, el procesamiento de tejidos y el corte rutinarios.
3. 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.
4. 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.
5. 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 ISH que se llevan a cabo en los instrumentos BenchMark IHC/ISH.
6. Es posible observar tinción nuclear y/o citoplasmática en células epiteliales de tejido gastrointestinal cuando se trabaja con sondas marcadas con fluoresceína y VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit. Es necesario el uso de Negative Control Probe para detectar esta tinción.
7. Es posible que no todos los kits de detección estén registrados en cada instrumento. Póngase en contacto con el representante local de servicio Roche para obtener más información.

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El rendimiento de VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit se ha evaluado mediante estudios de reproducibilidad y de otros tipos con similar importancia.

Se han desarrollado varias sondas VENTANA para su uso con VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit. Se demostraron las siguientes características de rendimiento de VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit como parte de las pruebas de los ensayos:

1. Precisión en la misma sesión, entre días, entre instrumentos y entre plataformas de los instrumentos BenchMark IHC/ISH.
2. Sensibilidad y especificidad de la tinción en un rango de tipos de tejidos normales y neoplásicos y tejidos con dianas específicas del ensayo.

Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

### RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Consulte la sección sobre Resolución de problemas o la hoja de datos de la sonda correspondiente.
2. 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.
3. Si las secciones de tejido se pierden en el portaobjetos, debe comprobar que los portaobjetos tienen carga positiva. Consulte la sección sobre Recogida y preparación de muestras para análisis.
4. 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.
5. Si necesita tomar acciones correctivas, consulte el Manual del usuario del instrumento o póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche.
6. 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 del dispensador en línea asociado para obtener más información sobre su correcto uso.

**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.

#### REFERENCIAS

1. Carson FL, Cappellano C. Histotechnology; A Self-Instructional Text, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
2. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
3. 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.
4. Doria M, Lloyd D, Thistlethwaite JR, Franklin WA. Immunohistochemical detection of antibody in tissue sections of non-perfused and ex vivo-perfused organs using a tetrazolium alkaline phosphatase substrate. Histochemistry. 1988;89(5):443-446.
5. True LD. Atlas of Diagnostic Immunohistopathology. J.B. Lippincott Co., Philadelphia, PA, 1990.
6. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
7. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2001.
8. 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.
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.

#### Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para EE. UU.: consulte [elabdoc.roche.com/symbols](http://elabdoc.roche.com/symbols) para obtener más información al respecto).



Número mundial de artículo comercial



Identificador único del dispositivo



Indica la entidad que ha importado el producto sanitario en la Unión Europea

#### HISTORIAL DE REVISIONES

Rev.	Actualizaciones
G	Se ha actualizado la sección Materiales necesarios pero no suministrados.

#### PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

#### INFORMACIÓN DE CONTACTO



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

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



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

