

VENTANA Kappa and Lambda Dual ISH mRNA Probe Cocktail

REF 800-6054
08507023001

IVD Σ 30

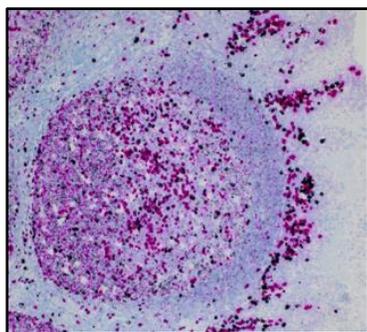


Figura 1. Patrones de la expresión de ARNm Kappa y lambda en amígdala.

y neoplasias de plasmocitos.

La interpretación de los resultados del ensayo 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 evaluación de la capacidad de clonación de los linfocitos B resulta útil para contribuir al diagnóstico cuando hay sospecha de la presencia de neoplasias de linfocitos B y plasmocitos. Un método habitual para la determinación de la capacidad de clonación de los linfocitos B consiste en evaluar la expresión de las cadenas ligeras kappa y lambda en tejido FFPE. Sin embargo, los niveles de expresión de las cadenas ligeras kappa y lambda en los linfocitos B normales y los linfocitos B en neoplasias varían significativamente en función de la etapa de diferenciación y varios estudios disponibles ven reducida su utilidad debido a una sensibilidad deficiente en los intervalos inferiores de expresión.

VENTANA Kappa and Lambda Dual ISH mRNA Probe Cocktail (VENTANA K/L Probe Cocktail) se ha concebido para ofrecer una detección sensible y dinámica de ambas cadenas ligeras del ARNm, kappa y lambda, en un solo portaobjetos FFPE, lo que amplía la utilidad clínica de los linfocitos B en todas las etapas de maduración y sus contrapartes neoplásicas.

VENTANA K/L Probe Cocktail consiste en una combinación de sondas de digoxigenina (DIG) y hapteno benzofurazan (BF) marcadas con oligonucleótido 2'-O-metil. Cada una de las sondas abarca unas 80 bases de la región de la cadena ligera kappa o lambda de las transcripciones del ARNm asociadas. La diana kappa se visualiza en color magenta con VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit y la diana lambda se visualiza en negro con VENTANA Silver ISH BF Detection Kit. El estado de la restricción se determina mediante la evaluación de la proporción de las señales kappa y lambda.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

VENTANA K/L Probe Cocktail se ha formulado para su uso con VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit, VENTANA Silver ISH BF Detection Kit, ISH TSA Ancillary Kit y sus reactivos auxiliares en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

El kit de detección contiene un anticuerpo primario anti-hapteno marcado con HRP, un reactivo de amplificación de tiramida marcada con hapteno y un cromógeno de plata o magenta. Durante el procedimiento de tinción de la hibridación in situ, las sondas marcadas con DIG y BF se hibridan con sus respectivas secuencias diana que hay en el tejido.

La sonda kappa marcada con DIG se detecta mediante VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit. Este sistema de detección utiliza un anticuerpo monoclonal de ratón anti-

DIG marcado con HRP y la amplificación de tiramida marcada con DIG para visualizar la diana como una señal magenta mediante la unión covalente de la tiramida marcada con sulforhodamina B al tejido (consulte la Figura 2).

La sonda lambda marcada con BF se detecta mediante VENTANA Silver ISH BF Detection Kit. Este sistema de detección utiliza un anticuerpo monoclonal de ratón anti-BF marcado con HRP y la amplificación de tiramida marcada con BF para visualizar la diana como una señal negra mediante el precipitado de la plata (consulte la Figura 3).

Consulte la hoja de datos de los reactivos de detección para obtener más información al respecto.

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 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.

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

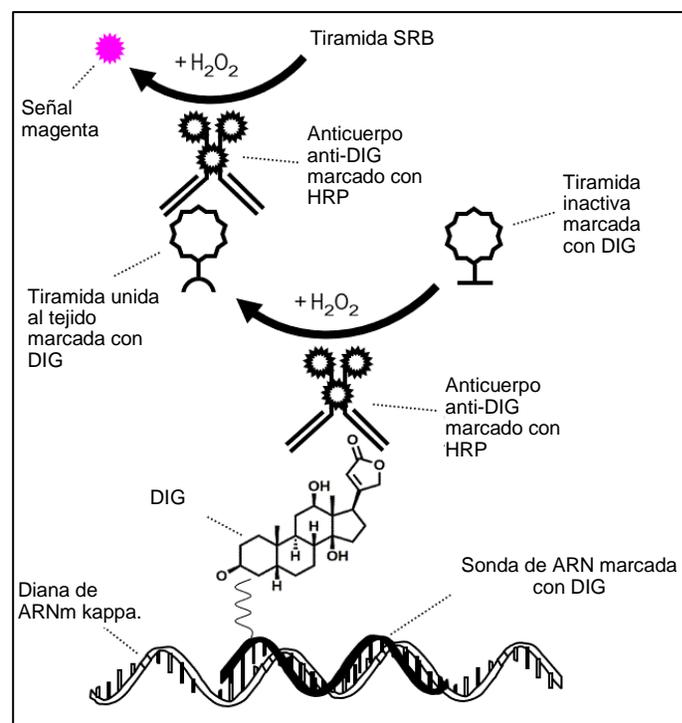


Figura 2. VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit

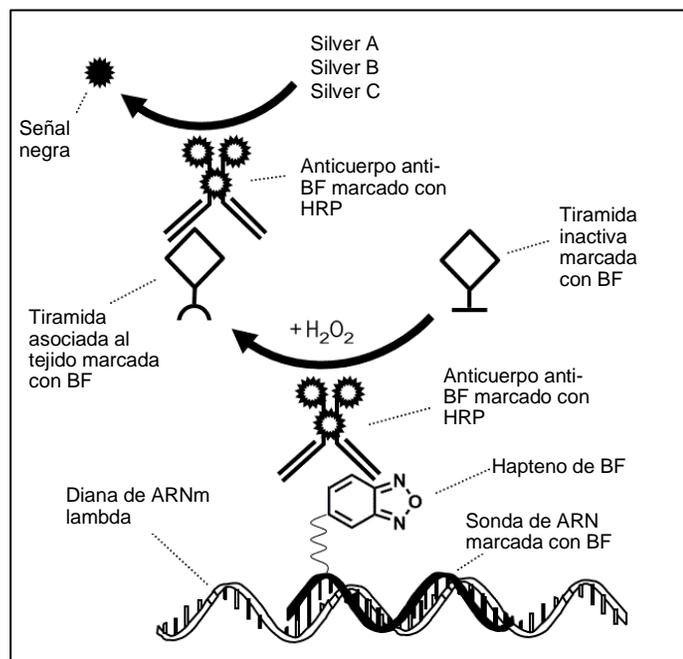


Figura 3. VENTANA Silver ISH BF Detection Kit

MATERIAL Y MÉTODOS

Material suministrado

El VENTANA K/L Probe Cocktail contiene reactivo suficiente para 30 pruebas. Un dispensador de 6 mL contiene una sonda marcada con, aproximadamente, 0.120 µg/mL en un tampón de hibridación con formamida (aproximadamente el 50 % de CH₃NO).

Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

La sonda se ha optimizado para su uso con los instrumentos BenchMark IHC/ISH. No son necesarias la reconstitución, la mezcla, la dilución ni la titulación del reactivo. Una dilución mayor puede dar lugar a una reducción de la calidad de tinción.

Materiales necesarios pero no suministrados

No se suministran reactivos de tinción como los kits de detección de VENTANA ni los componentes auxiliares. 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. VENTANA U6 BF Probe (n.º cat. 760-7062 / 08773866001)
2. ISH Negative Control (n.º cat. 780-2902 / 05272165001)
3. VENTANA Silver ISH BF Detection Kit (n.º cat. 760-513 / 08507031001)
4. VENTANA Magenta ISH DIG Detection Kit (n.º cat. 760-514 / 08507201001)
5. ISH TSA Ancillary Kit (n.º cat. 760-515 / 08507082001)
6. ISH Peroxidase Inhibitor (n.º cat. 780-5061 / 07729014001)
7. HybReady Solution (n.º cat. 780-4409 / 05917557001)
8. ISH Protease 3 (n.º cat. 780-4149 / 05273331001)
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. SSC (10X) (n.º cat. 950-110 / 05353947001)
13. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
14. ULTRA CC1 (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
15. ULTRA LCS (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
16. *ultraView* Silver Wash II (n.º cat. 780-003 / 05446724001)
17. Portaobjetos para microscopio, Superfrost™ Plus
18. Instrumento BenchMark IHC/ISH

19. 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. Esta sonda se puede utilizar de inmediato tras extraerla de la nevera.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del sonda, vuelva a poner el tapón del dispensador después de cada uso y almacene el dispensador inmediatamente en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de sondas tienen una fecha de caducidad. Si se almacena correctamente, el reactivo se mantendrá estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad.

Recogida y preparación de muestras para análisis

Los tejidos FFPE que se procesan de forma habitual resultan adecuados para su uso con VENTANA K/L Probe Cocktail. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 % (NBF) durante un periodo de entre 6 y 72 horas¹. En el caso de los tejidos que requieren un paso de descalcificación, la sonda VENTANA K/L Probe Cocktail ha demostrado compatibilidad con los reactivos de descalcificación HCl, ácido fórmico y EDTA, pero la compatibilidad varía en gran medida en función de la concentración del reactivo y del tiempo de tratamiento. No todos los reactivos de descalcificación son compatibles con la sonda. Consulte la Tabla 5 y la Tabla 6 para obtener información sobre los fijadores y los reactivos de descalcificación específicos que se han sometido a pruebas. El tiempo de tratamiento se debe validar antes de su uso.

Las muestras deben cortarse con un grosor de 4 µm y se deben colocar en portaobjetos para microscopio *Superfrost™ Plus* cargados positivamente. Es necesario drenar o secar los portaobjetos para eliminar cualquier resto de agua que se encuentre entre el portaobjetos y el tejido antes de pasar a la tinción con el instrumento BenchMark IHC/ISH. Es posible que se obtengan resultados variables como consecuencia del grosor de la sección de tejido, el tipo de fijación, una fijación incompleta/prolongada o bien de procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

Los portaobjetos deben teñirse inmediatamente, ya que la calidad de las dianas de ARN de los cortes de tejido puede disminuir con el tiempo. Se han llevado a cabo estudios internos que demuestran que los cortes de tejido que se han conservado a temperatura ambiente permanecen estables durante, al menos, 60 días.

Los portaobjetos con carga positiva pueden ser sensibles a tensiones ambientales que ocasionen una tinción inapropiada de cualquier ensayo de ISH (por ejemplo, falta de tinción o contratinción en el tejido). Solicite a su representante de servicio de Roche una copia de «Impact of Environmental Stress on various histology slide types» para comprender mejor cómo utilizar estos tipos de portaobjetos.

Se recomienda que los portaobjetos de control se ejecuten simultáneamente con las muestras de los pacientes.

Cabe destacar que las señales de plata y magenta pueden cambiar su tonalidad o ir desvaneciéndose poco a poco con el tiempo si se encuentra expuesta a la luz de forma prolongada. Este detalle no tiene por qué repercutir en las prácticas clínicas normales, pero los portaobjetos se deben conservar protegidos de una fuente de iluminación directa cuando no se están utilizando.

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. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
5. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.^{2,3}
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.
11. Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre 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
	H351	Se sospecha que puede causar cáncer
	H360D	Puede ocasionar daños en el feto.
	H373	Puede provocar daños en determinados órganos debido a la exposición prolongada o recurrente
	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.
	P260	No inhale la niebla o los vapores.
	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.	

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

VENTANA KL Probe Cocktail se ha desarrollado para su uso en un instrumento BenchMark IHC/ISH junto con los kits de detección 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 procedimiento «U Kappa Lambda DISH PRB-CKT» sirve para la tinción en los instrumentos BenchMark ULTRA y ULTRA Plus.

Tabla 2. Condiciones recomendadas para el protocolo de tinción. Se puede seleccionar la opción «Short Pre-Treatment» (tratamiento previo corto) en función de las muestras concretas o de las preferencias del lector. La opción «Short Pre-Treatment» (tratamiento previo corto) reducirá la intensidad de todas las señales específicas, incluida la del polipéptido 5 similar a la inmunoglobulina Lambda nuclear (IGLL5, consulte la sección «INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS»).

Selección de ajustes	de tinción
Tratamiento previo corto	No seleccionado

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 los dispensadores de la sonda y los dispensadores del kit de detección correspondiente, así como los reactivos auxiliares necesarios, 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 1 minuto. Retire el exceso de agua.
3. Transfiera los portaobjetos a una solución de etanol al 90 % durante aproximadamente 1 minuto.
4. Transfiera los portaobjetos a una solución de etanol al 100 % durante aproximadamente 1 minuto.
5. Transfiera los portaobjetos a la segunda solución de etanol al 100% durante aproximadamente 1 minuto.
6. Transfiera los portaobjetos a una solución de xileno durante aproximadamente 1 minuto.
7. Transfiera los portaobjetos a la segunda solución de xileno durante aproximadamente 1 minuto.
8. Coloque el cubreobjetos en el portaobjetos. Cabe destacar que ciertos medios de montaje no son compatibles con VENTANA K/L Probe Cocktail (consulte la sección Limitaciones).

PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD

Tejido de control positivo

Se recomienda la incorporación de un tejido de control de amígdala específico del laboratorio en todos los portaobjetos del paciente para garantizar que el ensayo se lleva a cabo según lo previsto. El tejido de amígdala normal presenta el intervalo completo de la expresión de kappa y lambda, mientras que el estroma sirve como elemento de tinción negativo. Una reducción notable de la señal o una tinción de fondo excesiva pueden indicar que se ha producido un error en el portaobjetos y el portaobjetos no se debería evaluar.

Tabla 3. Criterios de puntuación de la evaluación de la tinción del tejido de control de amígdala.

Elemento de tinción	Tinción aceptable	Tinción inaceptable
Positivo conocido	Tinción puntuada citoplasmática de casi todos los linfocitos B de la zona del manto, claramente visible a 10X, con una proporción fisiológica K/L (2-3:1)	Tinción notablemente reducida en la mayoría de los linfocitos B de la zona del manto, que requiere 20X para su visualización
Negativo conocido	Ausencia de tinción o tinción de nivel bajo y difuminada de forma aleatoria en el estroma	Tinción de fondo no específica excesiva del epitelio escamoso o del estroma que impide la enumeración de la proporción K/L

Marcador de integridad del ARN

El ensayo VENTANA K/L Probe Cocktail puede haber reducido el rendimiento de los tejidos en los que se ha visto afectada la integridad del ARNm. Dado que el ARN es muy susceptible a la degradación, la transcripción predominante de la expresión de U6 se emplea de forma generalizada como sucedáneo para evaluar la degradación de la diana en las muestras de tejido. Aunque no es obligatorio para llevar a cabo la interpretación del estado de restricción, es posible recurrir a VENTANA U6 BF Probe (n.º de cat. 760-7062 / 08773866001) a fin de evaluar la integridad del ARN en los casos de paciente en los que se presenta una señal deficiente en el portaobjetos de K/L. La tinción negativa con VENTANA U6 BF Probe indica que es posible que se necesite una nueva muestra del paciente.

Las muestras del paciente teñidas con VENTANA U6 BF Probe se deben procesar con el mismo procedimiento de tinción y pretratamiento que se hayan seleccionado para las pruebas con VENTANA K/L Probe Cocktail.

Control negativo de la sonda

Se puede emplear ISH Negative Control (n.º de cat. 780-2902 / 05272165001) en lugar de VENTANA K/L Probe Cocktail para evaluar la detección del fondo en una muestra de paciente. No es obligatorio el uso del control negativo de la sonda para la interpretación del estado de restricción.

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. Identifique el problema y corríjalo; a continuación, repita las muestras del paciente (consulte la sección Resolución de problemas).

Verificación del ensayo

Antes de comenzar a utilizar un reactivo en un procedimiento diagnóstico, se debe comprobar su rendimiento mediante pruebas en una serie de muestras que contengan características de rendimiento en ISH conocidas (consulte las recomendaciones sobre control de calidad de College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist⁴ y CLSI Approved Guideline⁵). Se deben repetir estos procedimientos de control de calidad en cada lote nuevo de reactivos, cuando se hacen modificaciones en los parámetros del ensayo o cuando hay cambios en la preparación de muestras.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Un anatomopatólogo cualificado con experiencia en la interpretación mediante microscopía de muestras anatomopatológicas debe evaluar los controles antes de interpretar los resultados. Consulte la «Guía de interpretación de VENTANA Kappa and Lambda Dual ISH mRNA Probe Cocktail para linfomas de linfocitos B y neoplasias de plasmocitos» (n.º de cat. 102202118ES) para obtener información sobre recursos adicionales que pueden contribuir a la evaluación de la tinción de los controles y las muestras del paciente. La interpretación de las conclusiones morfológicas del paciente y los datos clínicos pertinentes deben dejarse en manos de un anatomopatólogo cualificado.

Con este ensayo, la tinción de las dianas kappa será de color magenta y la de las dianas lambda, de color negro. El patrón normal de tinción positiva de los linfocitos B es una tinción citoplasmática anillo parcial o completa, mientras que en los plasmocitos se observa habitualmente un llenado completo del citoplasma debido a la presencia de abundante ARNm.

El patrón de tinción se interpreta como la relación entre las células con expresión kappa y lambda a fin de determinar el estado de restricción. La respuesta inmunitaria normal produce, por lo general, una población policlonal con gran cantidad de kappa de una proporción aproximada de 2-3:1 entre kappa y lambda. En el caso de VENTANA K/L Probe Cocktail, una relación superior a 4:1 se interpreta como con restricción de kappa y una relación inferior a 1:2 se interpreta como con restricción de lambda (consulte la Tabla 4 y la 0).

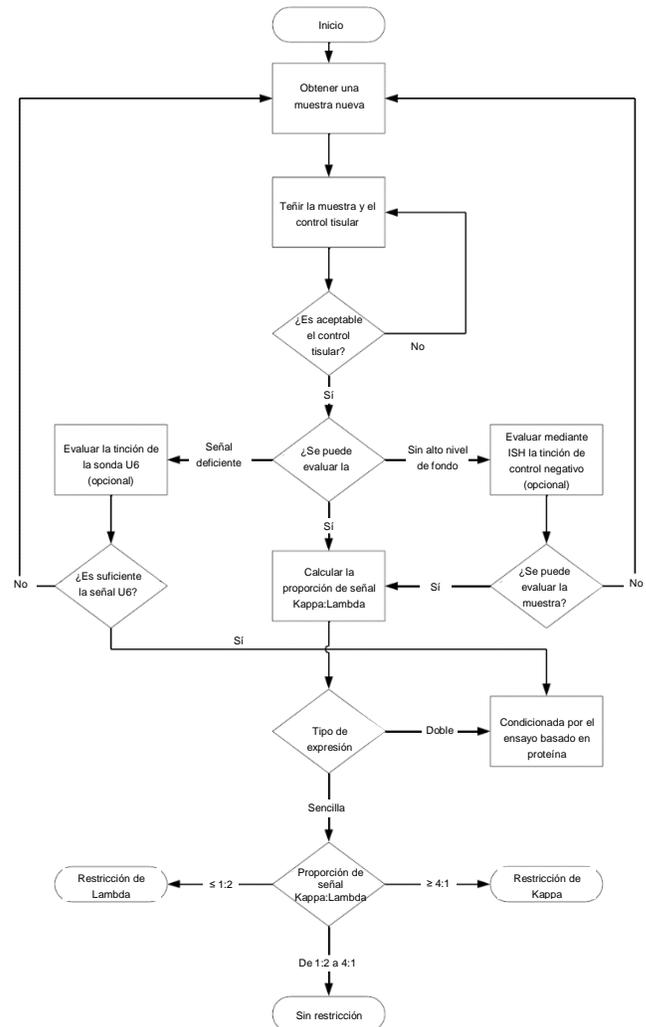
La transcripción de IGLL5 es 100 % homóloga a la de la secuencia de cadena ligera lambda. Debido a esta homología, es posible que VENTANA K/L Probe Cocktail tinte el ARNm IGLL5. La expresión de IGLL5 es principalmente nuclear y su señal se ve en forma de puntos de color negro. Según las pruebas internas, la señal dominante de IGLL5 se observa en aproximadamente el 15 % de los casos y no se debe interpretar en la determinación del estado de restricción.

Según las pruebas internas, aproximadamente el 5 % de los casos de linfoma y de mieloma presentan ARNm tanto kappa como lambda en el citoplasma de las mismas células. La capacidad de clonación no se puede determinar mediante ISH en estos casos y se debe llevar a cabo una prueba condicionada por el ensayo basado en la proteína. La expresión conjunta de la señal no se observa en los tejidos sin restricciones.

Tabla 4. Criterios de puntuación para la determinación del estado de restricción.

Estado clínico	Proporción Kappa:Lambda
Restricción de Kappa	Mayor o igual que 4:1
Sin restricción	Menor que 4:1 y mayor que 1:2
Restricción de Lambda	Menor o igual que 1:2

Figura 4. Árbol de decisión de la interpretación de la tinción con VENTANA K/L Probe Cocktail en los controles y los casos de pacientes.



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 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 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 obtención 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.
- Una contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación adecuada de los resultados.
 - La interpretación clínica de cualquier tinción se debe evaluar en función del contexto de la historia clínica, 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 teñidos 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. 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

- No todos los fijadores son compatibles con el ensayo VENTANA K/L Probe Cocktail. El fijador recomendado por Ventana es NBF al 10 % durante un periodo de 6 a 72 horas. Consulte la Tabla 5 para obtener información sobre los fijadores que se han sometido a pruebas. El tiempo de fijación se debe validar antes de su uso.
- La sonda VENTANA K/L Probe Cocktail ha demostrado compatibilidad con los reactivos de descalcificación HCl, ácido fórmico y EDTA, pero la compatibilidad varía en gran medida en función de la concentración del reactivo y del tiempo de tratamiento. No todos los reactivos de descalcificación son compatibles con la sonda. Consulte la Tabla 6 para obtener información sobre los reactivos específicos que se han sometido a pruebas. El tiempo de descalcificación se debe validar antes de su uso.
- VENTANA K/L Probe Cocktail no está indicado para su uso en el diagnóstico de linfomas de linfocitos B ni procesos reactivos de linfocitos B en núcleos de médula ósea debido a la degradación que sufre el ARNm con una gran cantidad de soluciones habituales de descalcificación.
- Según las pruebas internas, aproximadamente el 5 % de los casos de linfoma y de mieloma presentan ARNm tanto kappa como lambda en el citoplasma de las mismas células. La capacidad de clonación no se puede determinar mediante ISH en estos casos y se debe llevar a cabo una prueba condicionada por el ensayo basado en la proteína.
- El ensayo VENTANA K/L Probe Cocktail se ha desarrollado para su uso con tejidos que se han cortado en secciones de 4 µm de grosor. En las secciones con un grosor inferior o superior puede presentarse una tinción no adecuada y puede haber pérdida de tejido.
- Los tejidos se deben teñir en un plazo de 60 días a partir del seccionado. Es posible que se observe pérdida de la tinción en tejidos que se hayan teñido una vez transcurridos los 60 días.
- No todos los fijadores son compatibles con los cromógenos del ensayo VENTANA K/L Probe Cocktail. Concretamente, puede producirse una oxidación, un desvanecimiento o la desaparición de las señales de plata debido al uso de determinadas marcas de los medios de montaje. Consulte la Tabla 7 para obtener información sobre los medios de montaje que se han sometido a pruebas.
- Los portaobjetos teñidos se deben conservar en un lugar oscuro cuando no se utilicen para evitar que el color del cromógeno de plata y magenta se desvanezca o cambie de tonalidad.
- El sonda, cuando se utiliza junto con los kit de detección y los accesorios VENTANA, detecta la secuencia de ácido nucleico que permanece una vez se han llevado a cabo la fijación en formol, el procesamiento de tejidos y el corte rutinarios. Como ocurre en cualquier otra prueba, un resultado negativo significa que no se ha detectado una diana concreta en la muestra de tejido, no necesariamente que esta no esté presente en el tejido original sin fijación.

- Debido a variaciones en el procesamiento de la muestra o a las preferencias del anatomopatólogo, puede que sea necesario seleccionar la opción «Short Pre-Treatment» (tratamiento previo corto) en el protocolo. El usuario debe validar este cambio. Los usuarios que no sigan el procedimiento de prueba recomendados deberán hacerse responsables de la interpretación de los resultados del paciente teniendo en cuenta las circunstancias.
- La sonda se ha optimizado para su uso con los reactivos VENTANA en los instrumentos BenchMark IHC/ISH. 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.
- Es posible que todos los ensayos no esté registrado en todos los instrumentos. Póngase en contacto con el representante local de asistencia técnica de Roche para obtener más información.

Tabla 5. Compatibilidad de los fijadores.

Fijador	¿Es compatible?
Formol tamponado neutro al 10 %	Sí
Formol tamponado neutro al 20 %	Sí
Formol sin tamponar al 10 %	Sí
Bouin	Sí
Formol Zinc	Sí
Alcohol-formol-ácido acético	No
Prefer	No
Formol con alcohol	No
Diff-Quik	No

Tabla 6. Compatibilidad de los reactivos de descalcificación sometidos a pruebas.

Descalcificador	Fabricante	Tipo	¿Es compatible?
Decal Decalcifier	StatLab	HCl/EDTA	Sí
Decalcifying Solution B	Fisher Scientific	HCl/EDTA	Sí
Formical 2000	StatLab	Ácido fórmico/EDTA	Sí
Immunocal	StatLab	Ácido fórmico	Sí

Tabla 7. Compatibilidad de los medios de montaje.

Medios de montaje	Fabricante	¿Es compatible?
Acrytol	Electron Microscopy Sciences	Sí
Consul-Mount	Epredia	Sí
Cytoseal XYL	Richard Allan Scientific	Sí
Cytoseal 60	Richard Allan Scientific	Sí
Dako Mounting Medium	Dako	Sí
Diamount	Diapath	Sí
DPX Mountant	CDH	Sí
Entellan	Merck	Sí
Glycergel	Dako	Sí
HE600	Roche	Sí
HistoCore Spectra CV X1	Leica	Sí
Histomount	National Diagnostics	Sí
MicroMount	Leica	Sí
Canada Balsam	Elabscience	Sí
Permunt	Electron Microscopy Sciences	Sí

Medios de montaje	Fabricante	¿Es compatible?
Pertex	Histolab	Si
Epredia Synthetic Mountant	Epredia	Si
Sub-X Mounting	Leica	Si
Tissue-Tek Film	Sakura	Si
Entellan New	Merck	No
Eukitt	Merck	No

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se evaluó el rendimiento de VENTANA K/L Probe Cocktail mediante estudios clínicos y analíticos. Todas las tinciones se llevaron a cabo mediante el protocolo VENTANA K/L Probe Cocktail, tal y como se muestra en la Tabla 2, en instrumentos BenchMark IHC/ISH, a menos que se especifique lo contrario.

RENDIMIENTO CLÍNICO

Estudio de comparación de métodos sobre el rendimiento del ensayo VENTANA Kappa/Lambda Dual ISH mRNA Probe Cocktail, tal y como se ha llevado a cabo en el instrumento BenchMark ULTRA con los kit de detección VENTANA Silver ISH BF y Magenta ISH DIG, relativo a la citometría de flujo para la determinación del estado de restricción de Kappa/Lambda

Se llevó a cabo un estudio externo en múltiples sitios a fin de evaluar la concordancia entre el ensayo VENTANA K/L Probe Cocktail y la citometría de flujo a la hora de determinar el estado de restricción de la cadena ligera en muestras de l muestras linfáticas y de médula ósea. Tres sitios clínicos hicieron un cribado de un total de 1019 casos para su posible inscripción en el estudio. Los sitios clínicos tiñeron 869 de estos casos con VENTANA K/L Probe Cocktail en un instrumento BenchMark ULTRA y 811 de los 869 casos teñidos obtuvieron resultados de H y E aceptables y el anatomopatólogo del cribado los pudo evaluar en cuanto a la tinción de K/L. Se inscribieron en el estudio un total de 742 casos que cumplían los criterios de inscripción y hasta cuatro anatomopatólogos de cada sitio evaluaron todos los casos inscritos.

El rendimiento del ensayo VENTANA K/L Dual ISH se evaluó como porcentaje de concordancia entre el ensayo ISH y los resultados de flujo históricos de cada categoría de restricción (con restricción de kappa, con restricción de lambda o sin restricciones) y como porcentaje de concordancia global (OPA) de todos los casos.

Tabla 8. Concordancia del estado de restricción entre VENTANA K/L Probe Cocktail y la citometría de flujo de todos los lectores agrupados.

Resultados de VENTANA K/L Dual ISH	Resultados de la citometría de flujo			
	Restricción de Kappa	Restricción de Lambda	Sin restricción	Total
Restricción de Kappa	824	16	23	863
Restricción de Lambda	16	742	18	776
Sin restricción	76	37	810	923
Total	916	795	851	2562

Tabla 9. Concordancia agrupada del estado de restricción de K/L entre el ensayo VENTANA K/L Dual ISH y la citometría de flujo (en todos los casos que se pudieron evaluar).

Categoría de la restricción	Porcentaje de concordancia (%) (n/N)	CI del 95 %
Restricción de Kappa	90.0 % (824/916)	86.7 %-93.2 %
Restricción de Lambda	93.3 % (742/795)	90.1 %-96.2 %
Sin restricción	95.2 % (810/851)	93.3 %-96.8 %
Global	92.7 % (2376/2562)	91.1 %-94.2 %

RENDIMIENTO DE ANÁLISIS

Sensibilidad y especificidad

A fin de evaluar la sensibilidad y especificidad, se tiñó con VENTANA K/L Probe Cocktail un panel de tejidos FFPE normales y neoplásicos. Un anatomopatólogo evaluó los portaobjetos con tinción para determinar el estado positivo o negativo en cuanto a la presencia de la señal kappa y lambda. No se observó ninguna tinción imprevista en ninguno de los casos teñidos.

Tabla 10. Tinción con VENTANA K/L Probe Cocktail en tejidos normales. Los tejidos marcados con un asterisco presentaron una tinción difuminada en los linfocitos B normales.

Patología	N.º de casos positivos/total
Encéfalo	0/1
Cerebro	0/3
Cerebelo	0/4
Glándula suprarrenal*	0/4
Ovario*	0/4
Páncreas*	0/4
Ganglio linfático	15/15
Glándula paratiroidea	0/3
Glándula pituitaria	0/3
Testículos*	0/4
Tiroides	0/4
Mama*	0/5
Bazo*	0/4
Amígdala	5/5
Músculo esquelético*	0/3
Nervio periférico	0/4
Vejiga	0/4
Timo*	0/4
Médula ósea	5/5
Pulmón*	0/5
Corazón	0/4
Esófago*	0/4
Estómago*	0/4
Intestino delgado*	0/4
Colon*	0/6
Hígado*	0/4
Glándula salival*	0/4
Riñón*	0/5
Próstata*	0/4
Cuello del útero	0/6

Patología	N.º de casos positivos/total
Piel	0/4
Mesotelio	0/4
Recto	0/1
Placenta	0/3
Útero*	0/4

Tabla 11. Tinción con VENTANA K/L Probe Cocktail en tejidos neoplásicos.

Patología	N.º de casos positivos/total
Astrocitoma (encéfalo)	0/1
Meningioma (encéfalo)	0/3
Adenocarcinoma (cabeza y cuello)	0/1
Melanoma (fosas nasales)	0/1
Carcinoma nasofaríngeo (nasofaríngeo)	0/1
Carcinoma de células escamosas (lengua)	0/1
Adenoma (glándula suprarrenal)	0/1
Carcinoma corticosuprarrenal (glándula suprarrenal)	0/1
Carcinoma de células en anillo de sello de colon, metastásico (ovario)	0/1
Adenocarcinoma (ovario)	0/2
Tumor de células de la granulosa (ovario)	0/1
Adenocarcinoma (páncreas)	0/1
Seminoma (testículos)	0/1
Adenoma (tiroides)	0/3
Carcinoma folicular (tiroides)	0/1
Adenocarcinoma folicular papilar (tiroides)	0/1
Carcinoma ductal invasivo (mama)	0/3
Fibroadenoma (mama)	0/2
Osteosarcoma (hueso)	0/1
Condrosarcoma (hueso)	0/1
Adenocarcinoma (pulmón)	0/1
Carcinoma de células pequeñas (pulmón)	0/1
Carcinoma de células escamosas (pulmón)	0/1
Carcinoma gastrointestinal, metastásico (pulmón)	0/1
Carcinoma de células escamosas (esófago)	0/2
Adenocarcinoma (estómago)	0/3
Adenoma (intestino delgado)	0/1
Adenocarcinoma (intestino delgado)	0/1
Adenoma (colon)	0/1

Patología	N.º de casos positivos/total
Adenocarcinoma (colon)	0/3
Adenocarcinoma de colon, metastásico (hígado)	0/1
Carcinoma hepatocelular (hígado)	0/4
Adenoma pleomórfico (glándula salival parótida)	0/1
Carcinoma quístico adenoide (glándula salival)	0/1
Carcinoma de células claras (riñón)	0/2
Adenocarcinoma (próstata)	0/2
Adenocarcinoma (útero)	0/2
Carcinoma de células escamosas (cuello uterino)	0/2
Carcinoma de células escamosas (piel)	0/1
Linfoma anaplásico de células grandes (ganglio linfático)	0/2
Linfoma linfoblástico de linfocitos T	0/1
Linfoma de linfocitos T periférico, micosis fungoide	0/1
Linfoma de linfocitos T periférico, linfoma de Lennert	0/2
Linfoma de linfocitos T asociado a enteropatía	0/5
Linfoma de linfocitos T angioinmunoblástico	0/6
Linfoma de linfocitos T, sin especificar	0/20
Linfoma de linfocitos citolíticos/linfocitos T, de tipo nasal	0/5
Linfoma de linfocitos citolíticos/linfocitos T (testículos)	0/1
Linfoma de Hodgkin	0/1
Linfoma de linfocitos B, sin especificar	1/1
Linfoma folicular	7/7
Linfoma de células del manto	4/4
Linfoma difuso de linfocitos B grandes	11/11
Neoplasia de plasmocitos	4/4
Linfoma de linfocitos B en la región marginal	3/3
Leucemia linfocítica crónica/linfoma linfocítico de células pequeñas	5/5
Carcinoma urotelial (vejiga)	0/2
Carcinoma de células escamosas, metastásico (ganglio linfático)	0/1
Adenocarcinoma (recto)	0/3

Repetibilidad dentro del análisis, precisión intermedia entre días y precisión intermedia entre instrumentos

La repetibilidad y la precisión de VENTANA K/L Probe Cocktail se evaluaron mediante la tinción de un panel de 26 casos en varios instrumentos BenchMark ULTRA. El panel de casos contenía muestras tanto normales como neoplásicas y reflejaba un intervalo completo de estados de restricción y niveles de expresión del ARNm. Los portaobjetos aleatorizados los evaluó un anatomopatólogo, que no tuvo acceso a los diagnósticos de los casos, para determinar el estado de restricción.

En el caso de la repetibilidad dentro del análisis, se tiñeron secciones duplicadas de cada muestra en siete sesiones de tinción de distintos instrumentos. Se calculó la repetibilidad

por OPA de todos los portaobjetos según lo determinado por el estado de restricción modal a nivel de caso individual.

En el caso de la precisión intermedia entre días, se tiñeron secciones duplicadas de cada una de las muestras en un solo instrumento BenchMark ULTRA a lo largo de cinco días no consecutivos. Se calculó la precisión intermedia por OPA de todos los portaobjetos según lo determinado por el estado de restricción modal a nivel de caso individual.

En el caso de la precisión intermedia entre instrumentos, se tiñeron secciones duplicadas de cada una de las muestras en tres instrumentos BenchMark ULTRA diferentes. Se calculó la precisión intermedia por OPA de todos los portaobjetos según lo determinado por el estado de restricción modal a nivel de caso individual.

Tabla 12. Resultados de las pruebas de repetibilidad y precisión intermedia en la plataforma BenchMark ULTRA.

Estudio	n/N	OPA	CI del 95 %
Repetibilidad dentro del análisis	178/178	100 %	97.9 %-100.0 %
Precisión intermedia entre días	256/256	100 %	98.5 %-100.0 %
Precisión intermedia entre instrumentos	156/156	100 %	97.6 %-100.0 %

Concordancia en la plataforma BenchMark

La concordancia en la plataforma del ensayo VENTANA K/L Probe Cocktail se evaluó mediante la tinción de un panel de 59 casos en ambos instrumentos BenchMark ULTRA y ULTRA PLUS. El panel de casos contenía muestras tanto normales como neoplásicas y reflejaba un intervalo completo de estados de restricción y niveles de expresión del ARNm. Los portaobjetos aleatorizados los evaluó un anatomopatólogo, que no tuvo acceso a los diagnósticos de los casos, para determinar el estado de restricción.

Tabla 13. Resultados de concordancia de la plataforma entre BenchMark ULTRA y ULTRA PLUS.

Estudio	n/N	OPA	CI del 95 %
Concordancia de la plataforma	59/59	100 %	93.9 %-100.0 %

Precisión del lector

La precisión intralector y entre lectores de VENTANA K/L Probe Cocktail se evaluó mediante la comparación de las evaluaciones en cuanto al estado de restricción por parte de tres anatomopatólogos de un panel de 60 portaobjetos con tinción. El panel de casos contenía muestras tanto normales como neoplásicas y reflejaba un intervalo completo de estados de restricción y niveles de expresión del ARNm. Durante el estudio, tres anatomopatólogos evaluaron portaobjetos aleatorizados para determinar el estado de restricción con los diagnósticos de los casos enmascarados. Tras un periodo de reposo de dos semanas, los portaobjetos con tinción se volvieron a aleatorizar para someterlos a una segunda evaluación, que llevaron a cabo los tres anatomopatólogos, a fin de determinar el estado de restricción.

En el caso de la precisión intralector, las lecturas de cada anatomopatólogo de las evaluaciones de la ronda 1 se compararon con las de la ronda 2. La precisión intralector se calculó por OPA de los datos de concordancia agrupada de los tres anatomopatólogos.

En el caso de la precisión entre lectores, las evaluaciones de cada anatomopatólogo se compararon con las evaluaciones de otros dos lectores. Se calculó la precisión entre lectores por OPA de todas las evaluaciones de los tres anatomopatólogos según lo determinado por el estado de restricción modal a nivel de caso individual.

Tabla 14. Resultados de las pruebas de precisión del lector.

Estudio	n/N	Porcentaje de OPA	CI del 95 %
Precisión intralector	180/180	100 %	97.9 %-100.0 %
Precisión entre lectores	352/360	97.8 %	94.4 %-100.0 %

Precisión entre lotes

La precisión entre lotes de VENTANA K/L Probe Cocktail se evaluó mediante la tinción de un panel de 26 casos con tres lotes de producción de la combinación de sondas. El panel de casos contenía muestras tanto normales como neoplásicas y reflejaba un intervalo completo de estados de restricción y niveles de expresión del ARNm. Los portaobjetos aleatorizados los evaluó un anatomopatólogo, que no tuvo acceso a los diagnósticos de los casos, para determinar el estado de restricción.

La precisión entre lotes se calculó por OPA de todos los portaobjetos según el estado de restricción modal a nivel de caso individual.

Tabla 15. Resultados de las pruebas de precisión entre lotes.

Estudio	n/N	Porcentaje de OPA	CI del 95 %
Precisión entre lotes	78/78	100 %	95.3 %-100.0 %

Reproducibilidad entre laboratorios

Se llevó a cabo un estudio de reproducibilidad entre laboratorios a fin de evaluar la reproducibilidad del ensayo VENTANA K/L Probe Cocktail a la hora de determinar el estado de restricción. Para el estudio se contó con tres laboratorios externos que tiñeron, cada uno, un panel de 28 casos durante cinco días no consecutivos en un periodo de 21 días en un instrumento BenchMark ULTRA. El panel de casos contenía muestras tanto normales como neoplásicas (8 con restricción de kappa, 8 con restricción de lambda y 12 casos sin restricción) y reflejaba un intervalo completo de estados de restricción y niveles de expresión del ARNm.

Dos anatomopatólogos por sitio (seis patólogos en total) evaluaron de forma independiente los portaobjetos aleatorizados para determinar el estado de restricción con los diagnósticos de los casos enmascarados. Los portaobjetos con tinción de VENTANA K/L Probe Cocktail se presentaron para su interpretación junto con los portaobjetos con tinción de H y E y ISH Negative Control asociados.

La reproducibilidad se evaluó como porcentaje de concordancia entre las evaluaciones individuales para determinar la restricción de cada caso y el estado de restricción del caso modal de cada caso en cada categoría de restricción (restricción global de kappa, restricción de lambda y sin restricción) y como porcentaje de concordancia global de todos los casos (Tabla 16).

Además, se incluyeron en el informe el índice medio de concordancia entre pares de cada estado de restricción entre los sitios, entre lectores y entre días (0).

Tabla 16. Resultados de concordancia entre el estado de restricción de las evaluaciones individuales y el caso modal (KRPA = porcentaje de concordancia de restricción de kappa, LRPA = porcentaje de concordancia de restricción de lambda, NRPA = porcentaje de concordancia de la categoría sin restricciones)

Categoría de la restricción	Porcentaje de concordancia (%) (n/N)	CI del 95 %
KRPA	98.8 % (237/240)	97.5 %-99.6 %
LRPA	99.6 % (239/240)	98.8 %-100.0 %
NRPA	97.5 % (351/360)	96.1 %-99.0 %
OPA	98.5 % (827/840)	97.7 %-99.2 %

Tabla 17. Resultados de concordancia global entre pares entre sitios, entre lectores y entre días del estado de restricción.

Factor de pares	Categoría de la restricción	Concordancia	CI del 95 %
Entre sitios	Restricción de Kappa	95.6 %	89.3 %-98.1 %
	Restricción de Lambda	98.8 %	96.2 %-100.0 %
	Sin restricción	96.6 %	94.2 %-98.4 %
	OPA	96.9 %	95.2 %-98.6 %
Entre lectores	Restricción de Kappa	95.5 %	89.2 %-98.1 %
	Restricción de Lambda	98.8 %	96.2 %-100.0 %
	Sin restricción	96.6 %	94.2 %-98.4 %
	OPA	96.9 %	95.1 %-98.6 %
Entre días	Restricción de Kappa	95.5 %	89.2 %-98.1 %
	Restricción de Lambda	98.8 %	96.2 %-100.0 %
	Sin restricción	96.6 %	94.2 %-98.4 %
	OPA	96.9 %	95.1 %-98.6 %

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Tabla 18. Soluciones para la resolución de problemas.

Problema	Solución
Ausencia de tinción de fondo o tinción de fondo inadecuada o débil en un tejido de control de amígdala cualificado anteriormente en el portaobjetos	<ol style="list-style-type: none"> Compruebe que el portaobjetos contiene la etiqueta con el código de barras correcta y que se ha seleccionado la sonda apropiada en el protocolo. Si el protocolo contiene la opción «Short Pre-Treatment» (tratamiento previo corto), asegúrese de que la amígdala estaba cualificada con un protocolo que incluyese la misma condición. Compruebe que la sección se ha cortado con un grosor de 4 µm y que se ha empleado un medio de montaje compatible. Asegúrese de que los dispensadores de reactivo no están obstruidos ni vacíos. Compruebe el dispensador de la prueba orientando el dispensador hacia el recipiente de residuos y presionando hacia abajo con firmeza la parte superior del cilindro y compruebe que se dispensa una sola gota. Si el dispensador está obstruido o no está dispensando correctamente, póngase en contacto con el representante local de asistencia técnica de Roche y no utilice el dispensador. Si observa que hay otros portaobjetos que se han teñido correctamente y a la vez con VENTANA K/L Probe Cocktail, es posible que se haya producido un fallo desconocido en el portaobjetos concreto. Prepare un nuevo portaobjetos y vuelva a teñirlo. Póngase en contacto con el representante local de asistencia técnica de Roche para que le ayude en caso de que haya otros portaobjetos que se hayan teñido con VENTANA K/L Probe Cocktail que se hayan procesado al mismo tiempo y de los que también se hayan obtenido tinciones incorrectas imprevistas y en los que no se haya podido identificar a primera vista el origen del fallo (p. ej., si las propiedades de tinción del bloque de tejido de amígdala cualificado han podido cambiar a medida que se iba cortando el bloque).

Problema	Solución
Ausencia de tinción o tinción débil en una muestra de paciente con tinción adecuada en el control de amígdala cualificado anteriormente en el portaobjetos	<ol style="list-style-type: none"> Compruebe que la sección se ha cortado con un grosor de 4 µm y que se ha empleado un método de fijación y/o de descalcificación compatibles para procesar la muestra. Los procesos inadecuados de descalcificación pueden dañar irreversiblemente el ARN diana. Si el portaobjetos se ha teñido con un protocolo que contuviera la opción «Short Pre-Treatment» (tratamiento previo corto) seleccionada, volver a teñir el portaobjetos con un pretratamiento normal puede producir una señal más oscura. Tiña el portaobjetos de la muestra del paciente con la sonda VENTANA U6 BF para evaluar la integridad del ARNm. Si se observa una pérdida de ARNm, se debe extraer una muestra nueva del paciente. Si no parece haberse visto afectada la integridad del ARNm, es posible que el nivel de expresión de Kappa y/o Lambda del ARNm se encuentre por debajo del umbral de detección del ensayo o que simplemente esté ausente.
Tinción de fondo inadecuada en una muestra de paciente con tinción adecuada en el control de amígdala cualificado anteriormente en el portaobjetos	<ol style="list-style-type: none"> Compruebe que la sección se ha cortado con un grosor de 4 µm y que se ha empleado un método de fijación y/o de descalcificación compatibles para procesar la muestra. Si el portaobjetos se ha teñido con el protocolo de tinción recomendado, volver a teñirla con la opción «Short Pre-Treatment» (tratamiento previo corto) seleccionada puede reducir la señal de fondo. Tiña el portaobjetos de la muestra del paciente con ISH Negative Control para evaluar la tinción de fondo asociada al kit de detección. Reste la detección de la tinción de fondo del portaobjetos teñido con VENTANA K/L Probe Cocktail para interpretar el estado de restricción. Si el fondo sigue interfiriendo con la capacidad de determinar el estado de restricción, puede ser necesaria una nueva muestra.
La señal IGLL5 interfiere en la evaluación de la señal Kappa/Lambda.	<ol style="list-style-type: none"> Si el portaobjetos se ha teñido con el protocolo de tinción recomendado, volver a teñirla con la opción «Short Pre-Treatment» (tratamiento previo corto) seleccionada puede reducir la señal de IGLL5. Si la señal IGLL5 sigue interfiriendo con la capacidad de interpretar la señal kappa/lambda, puede ser necesario realizar una prueba condicionada por el ensayo basado en proteínas para evaluar el estado de restricción.
El tejido se termina desintegrando en los portaobjetos.	Asegúrese de que se utilizan portaobjetos Superfrost™ Plus.

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. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2007.
5. CLSI (formerly NCCLS). Quality Assurance for Design Control and Implementation of Immunocytochemistry Assays: Approved Guideline-Second Edition. CLSI document I/LA28-A2 (ISBN 1-56238-745-6). CLSI, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2011.

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.

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 EE. UU.: consulte elabdoc.roche.com/symbols para obtener más información):



Número Mundial de Artículo Comercial (GTIN)



Identificador único del dispositivo



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

PROPIEDAD INTELECTUAL

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

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMACIÓN DE CONTACTO



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

www.roche.com



0123