*ultra*View Universal DAB Detection Kit

REF 760-500

05269806001

IVD Σ 250

USO PREVISTO

*ultra*View Universal DAB Detection Kit es un sistema indirecto y sin biotinas de detección de IgG de ratón e IgM de ratón y de anticuerpos primarios de conejo. El kit está destinado a la identificación de dianas mediante inmunohistoquímica en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina o en tejido congelado que se tiñen 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

La inmunohistoquímica (IHC) es una técnica de laboratorio con fines diagnósticos. La inmunohistoquímica utiliza los anticuerpos primarios para localizar los antígenos presentes en secciones de tejido fijado o congelado y favorecer la unión entre ellos. La unión del anticuerpo al antígeno se observa mediante un método indirecto de detección. Las técnicas más habituales de los métodos indirectos se basan en anticuerpos secundarios dirigidos contra las especies de anticuerpos primarios 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 del anticuerpo específico. El kit *ultra*View Universal DAB Detection Kit, mediante un método indirecto, permite visualizar los anticuerpos específicos que se han unido a los antígenos a través del depósito de un precipitado de color marrón.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El kit *ultra*View Universal DAB Detection Kit detecta anticuerpos primarios específicos de ratón y de conejo que se han unido a un antígeno en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina (FFPE) o congelado. El anticuerpo específico se localiza mediante una combinación de anticuerpos secundarios marcados con una enzima. El complejo se puede visualizar en ese momento con sustrato de peróxido de hidrógeno y el cromógeno 3,3'-tetracloruro de diaminobencidina (DAB), que produce un precipitado de color marrón que se puede observar mediante microscopía óptica.

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

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

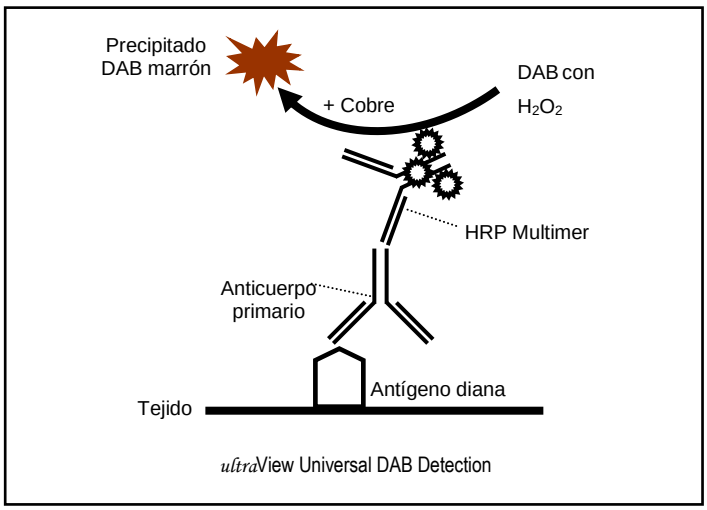

Figura 1. Reacción *ultra*View Universal DAB Detection Kit

MATERIAL Y MÉTODOS

Materiales suministrados

El kit *ultra*View Universal DAB Detection Kit contiene reactivo suficiente para 250 pruebas.

Un dispensador de 25 mL	*ultra*View Universal DAB Inhibitor contiene una solución de peróxido de hidrógeno al 3 %.
Un dispensador de 25 mL	*ultra*View Universal HRP Multimer contiene una combinación de anticuerpos etiquetados con HRP (anti-IgG de ratón de cabra, anti-IgM de ratón de cabra y anticonejo de cabra) (aproximadamente 55 µg/mL) en un tampón con proteína y ProClin 300, un conservante.
Un dispensador de 25 mL	*ultra*View Universal DAB Chromogen contiene 3,3'-tetracloruro de diaminobencidina al 0.2 % p/v en una solución estabilizadora patentada con un conservante propio.
Un dispensador de 25 mL	*ultra*View Universal DAB H_2O_2 contiene peróxido de hidrógeno al 0.04 % en una solución de tampón fosfato.
Un dispensador de 25 mL	*ultra*View Universal DAB Copper contiene sulfato de cobre (5 g/L) en un tampón acetato con un conservante propio.

Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

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

Materiales necesarios pero no suministrados

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

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

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

1. Anticuerpo primario
2. Reactivo de control negativo
3. Controles de tejido positivos y negativos (consulte la hoja de datos del anticuerpo para conocer los tipos recomendados)
4. Amplification Kit (n.º cat. 760-080 / 05266114001)
5. Protease 1 (n.º cat. 760-2018 / 05266688001)
6. Protease 2 (n.º cat. 760-2019 / 05266696001)

7. Protease 3 (n.º cat. 760-2020 / 05266718001)
8. Hematoxylin (n.º cat. 760-2021 / 05266726001)
9. Hematoxylin II (n.º cat. 790-2208 / 05277965001)
10. Bluing Reagent (n.º cat. 760-2037 / 05266769001)
11. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
12. Cell Conditioning Solution 1 (CC1) (n.º cat. 950-124 / 05279801001)
13. Cell Conditioning Solution 2 (CC2) (n.º cat. 950-123 / 05279798001)
14. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
15. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (n.º cat. 950-223 / 05424542001)
16. Antibody Diluent (n.º cat. 251-018 / 05261899001)
17. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
18. LCS (Predilute) (n.º cat. 650-010 / 05264839001)
19. ULTRA LCS (Predilute) (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
20. Instrumento BenchMark IHC/ISH
21. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
22. Cubreobjetos y método de cubreobjetos suficiente para cubrir el tejido
23. Equipo de laboratorio de uso general

Almacenamiento y estabilidad

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

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

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

Recogida y preparación de muestras para análisis

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

Las secciones deben cortarse con el grosor adecuado para el anticuerpo primario que se va a utilizar (consulte la hoja de datos correspondiente del anticuerpo de interés) y colocarse en un portaobjetos de vidrio con carga positiva. Antes de hornearlos, los portaobjetos que contienen la sección de tejido deberían dejarse secar en posición vertical durante al menos 15 minutos a temperatura ambiente para que se drene el exceso de agua que se haya podido acumular debajo de la sección. Los portaobjetos deberían meterse al horno/calentarse durante 1 hora a una temperatura de 60 °C±5 °C o dejarse secar al aire a una temperatura de 37 °C durante un máximo de 24 horas. El calentamiento y secado de portaobjetos sirve para secar el tejido una vez que se ha montado en el portaobjetos y para mejorar la adhesión del tejido al vidrio. Consulte la hoja de datos del anticuerpo primario para conocer las limitaciones de calentamiento. El calentamiento prolongado del tejido podría dar como resultado una reducción de la disponibilidad del antígeno.

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

Los tejidos congelados que se procesan de forma habitual también resultan adecuados para su uso con *ultra*View Universal DAB Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH. La fijación de tejido recomendada es de 10 minutos en acetona fría. Es posible que se obtengan resultados variables como consecuencia de la fijación prolongada o bien de procesos especiales tales como la descalcificación en la preparación de la médula ósea.

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: Posible carcinógeno.** Tanto la International Agency for Research on Cancer (IARC) como el US National Toxicology Program (NTP) han incorporado la bencidina, un compuesto estrechamente relacionado con el 3, 3'-tetracloruro de diaminobencidina (DAB), a su lista de carcinógenos humanos conocidos.
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 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.[3,4]
8. Adopte las precauciones razonables cuando manipule los reactivos. Evite el contacto de 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 navifyportal.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.

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
Peligro	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	H319	Provoca irritación grave en los ojos.
	H350	Puede provocar cáncer.
	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.

Riesgo	Código	Declaración
	P280	Lleve guantes y prendas de protección, así como protección ocular, 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.

PROCEDIMIENTO

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

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

Instrumentos BenchMark IHC/ISH

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 el anticuerpo primario y los dispensadores del kit de detección correspondiente, así como el reactivo auxiliar necesario, en la bandeja de reactivos y colóquelos en el instrumento.
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. Continúe con Procedimientos de procesamiento post-instrumento recomendados.

Procedimientos de procesamiento post-instrumento recomendados

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

PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD

Control de tejido positivo

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

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

Control tisular negativo

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

Discrepancias no explicadas

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

Control de reactivo negativo

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

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

Verificación del ensayo

Antes de comenzar a utilizar un anticuerpo primario o un sistema de tinción en un procedimiento diagnóstico, se debe comprobar la especificidad del anticuerpo primario mediante pruebas en una serie de tejidos que contengan características de rendimiento en inmunohistoquímica conocidas y que reflejen tejidos positivos y negativos conocidos (consulte la sección de Controles de tejido positivos que se encuentra en la hoja de datos del anticuerpo primario y las recomendaciones sobre control de calidad de College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist[5] o CLSI Approved Guideline[6] o todos ellos). Estos procedimientos de control de calidad se deberían repetir con cada lote nuevo de anticuerpo o siempre que se cambien los parámetros del ensayo. Los tejidos que se enumeran en la sección Características de rendimiento del anticuerpo primario son adecuados para la verificación del ensayo.

Interpretación de los resultados

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

Control de tejido positivo

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

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

Control tisular negativo

El control tisular negativo se debe estudiar después del control de tejido positivo para comprobar el etiquetado específico del antígeno diana mediante el anticuerpo primario. La ausencia de una tinción específica en el control de tejido negativo confirma la falta de reactividad cruzada del anticuerpo con las células o los componentes celulares. Si se

presenta una tinción específica en el control tisular negativo, deberán considerarse no válidos los resultados en la muestra del paciente.

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

Tejido del paciente

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

LIMITACIONES

Limitaciones generales

1. La inmunohistoquímica es un proceso de diagnóstico que comprende varios pasos y requiere una formación especializada en cuanto a la correcta elección de los tejidos y los reactivos, la fijación, el procesamiento, la preparación de portaobjetos de inmunohistoquímica y la interpretación de los resultados de la tinción.
2. La tinción del tejido depende del manejo y el procesamiento de tejidos antes de llevar a cabo la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento y seccionado incorrectos o la contaminación con otros tejidos o líquidos puede provocar la aparición de artefactos, el enmascaramiento de anticuerpos o resultados falsos negativos. La existencia de resultados incoherentes puede ser el resultado de la introducción de variaciones en los métodos de fijación e inclusión o puede derivarse de las irregularidades características del tejido.
3. Una contratinción 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. La interpretación clínica de todas las tinciones, o la ausencia de estas, se debe complementar con los estudios morfológicos y los controles correspondientes, así como con otras pruebas diagnósticas. Es responsabilidad del anatomopatólogo cualificado estar familiarizado con los anticuerpos, los reactivos y los métodos que se utilizan para interpretar la preparación de la tinción. La tinción se debe llevar a cabo en un laboratorio certificado y con licencia y bajo la supervisión de un anatomopatólogo, que será el responsable de revisar los portaobjetos teñidos y de garantizar la idoneidad de los controles positivos y negativos.
5. VENTANA proporciona anticuerpos y reactivos con una dilución óptima para su uso siempre que se respeten las instrucciones que se suministran. Cualquier diferencia en la forma de llevar a cabo los procedimientos de prueba recomendados pueden invalidar los resultados previstos. Deben emplearse los controles adecuados y documentarlos. Los usuarios que no sigan los procedimientos de prueba recomendados deberán hacerse responsables de la interpretación de los resultados de la paciente.
6. Los reactivos pueden mostrar reacciones imprevistas en tejidos que no se hayan probado previamente. Existe la posibilidad, aunque sea remota, de encontrarse con reacciones no previstas incluso en los grupos de tejidos probados no se puede eliminar por completo, dada la variabilidad biológica de la expresión del antígeno en neoplasias u otros tejidos anatomopatológicos.[7] Póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche si cuenta con reacciones imprevistas documentadas.
7. En los tejidos de pacientes contagiados con el virus de la hepatitis B o que contienen antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg) es posible que se presente una tinción no especifica con la peroxidasa de rábano.[8]
8. Cuando se utiliza en los pasos de bloqueo, el suero normal de la misma fuente animal que el antisuero secundario puede dar lugar a resultados de tinción falsos negativos o falsos positivos debido a la existencia de autoanticuerpos o anticuerpos naturales.
9. Como ocurre en todas las pruebas de inmunohistoquímica, un resultado negativo significa que no se ha detectado el antígeno, no necesariamente que el antígeno no esté presente en las células o en el tejido que se ha usado para el ensayo.

Limitaciones específicas

1. Cada uno de los pasos del procedimiento de este kit de detección se ha optimizado para su uso con instrumentos BenchMark IHC/ISH y ha quedado predefinido. Es posible que sea necesario incrementar o reducir el tiempo de incubación del anticuerpo primario en muestras individuales por las variaciones que se dan en la fijación y el procesamiento de los tejidos. El tiempo de incubación del anticuerpo primario depende del nivel de fijación del tejido y puede oscilar entre los 8 y los 32 minutos. Para obtener más información sobre las variables de fijación, consulte «Immunohistochemistry Principles and Advances»[9] o «Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist».[10]
2. El kit de detección, cuando se utiliza junto con los anticuerpos primarios y los accesorios VENTANA, detecta el antígeno que permanece una vez se han llevado a cabo la fijación en formol, el procesamiento de tejidos y el corte rutinarios.
3. El kit de detección se ha optimizado para su uso con la solución de lavado Reaction Buffer, los anticuerpos primarios, los accesorios y los instrumentos BenchMark IHC/ISH. El uso de la solución de lavado Reaction Buffer es importante para que el kit de detección funcione correctamente. Los usuarios que no sigan los procedimientos de prueba recomendados deberán hacerse responsables de la interpretación de los resultados del paciente teniendo en cuenta las circunstancias.
4. El kit de detección se ha optimizado para su uso con LCS (Predilute) o ULTRA LCS (Predilute). LCS es una solución de cubreobjetos diluida previamente que sirve 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 inmunohistoquímica (IHC) o de hibridación in situ (ISH) que se llevan a cabo en los instrumentos VENTANA.
5. Los tiempos y las temperaturas de incubación que no se encuentran especificados pueden dar lugar a resultados incorrectos. El usuario debe validar cualquier modificación que se lleve a cabo al respecto.
6. Es posible que no todos los kits de detección estén registrados en cada instrumento. Póngase en contacto con el representante local de servicio Roche para obtener más información.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

RENDIMIENTO DE ANÁLISIS

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

Estudios de precisión

Las pruebas de precisión de *ultra*View Universal DAB Detection Kit se llevaron a cabo mediante la tinción de secciones en serie de tres tejidos FFPE con tampón neutro y tres anticuerpos primarios, una tinción de IgG de ratón (anti-Ki67) en un carcinoma de mama, una tinción de IgM de ratón (anti-CD15) en un xenoinjerto de linfoma de Hodgkin y una tinción de IgG de conejo (anti-S100) en un melanoma mediante instrumentos BenchMark y BenchMark XT. Los anticuerpos primarios se incubaron durante 16 minutos y en los portaobjetos se realizó una contratinción con Hematoxylin II seguida de Bluing Reagent. Todos los portaobjetos teñidos de anticuerpo primario se compararon entre sí para evaluar la idoneidad y la intensidad de la tinción:

1. Las sesiones de tinción del estudio de precisión en la misma sesión (comparación de la tinción del mismo anticuerpo primario en una plataforma) se llevaron a cabo en tres días distintos con una sesión al día en dos instrumentos diferentes: los instrumentos BenchMark y BenchMark XT hasta alcanzar un total de 6 sesiones de tinción. La precisión en la misma sesión en el instrumento BenchMark XT fue del 100 % (30 portaobjetos de 30 de cada anticuerpo primario por sesión, con un total de 90 portaobjetos teñidos por anticuerpo en las tres sesiones) y del 100 % en el instrumento BenchMark (20 portaobjetos de 20 de cada anticuerpo primario por sesión, con un total de 60 portaobjetos teñidos por anticuerpo en las tres sesiones).
2. La precisión entre sesiones se calculó en función del número de portaobjetos teñidos en tres sesiones por cada tipo de instrumento. Se llevó a cabo una sesión

de tinción al día en tres días distintos con dos instrumentos diferentes: instrumentos BenchMark y BenchMark XT. La precisión entre sesiones en el instrumento BenchMark XT fue del 100 % (90 portaobjetos de 90, 30 portaobjetos por cada anticuerpo primario en tres sesiones independientes) y del 100 % en el instrumento BenchMark (60 portaobjetos de 60, 20 portaobjetos por cada anticuerpo primario en tres sesiones independientes para cada plataforma).

3. La precisión entre instrumentos se calculó en función del número de portaobjetos teñidos en seis sesiones por cada tipo de instrumento. Se llevó a cabo una sesión de tinción al día en tres días distintos con dos instrumentos diferentes: instrumentos BenchMark y BenchMark XT. La precisión entre instrumentos del *ultra*View Universal DAB Detection Kit fue del 100 % (150 de 150 portaobjetos teñidos evaluados, incluidos los tres anticuerpos primarios).

Con *ultra*View Universal DAB Detection Kit se han desarrollado varios anticuerpos primarios de VENTANA. Se demostraron las siguientes características de rendimiento de *ultra*View Universal DAB 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 GX, BenchMark XT y BenchMark ULTRA.
2. Sensibilidad y especificidad de la tinción en un rango de tipos de tejidos normales y neoplásicos y tejidos con dianas específicas del ensayo
3. Se demostró la precisión del instrumento BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos. Entre los estudios que se llevaron a cabo figuraban la precisión intermedia dentro del análisis, entre días y entre instrumentos. Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo presenta una tinción más débil de lo previsto, compruebe el resto de la sesión de control positivo que se han analizado en la misma sesión y el mismo instrumento para establecer si el problema se debe al anticuerpo primario o a alguno de los reactivos secundarios comunes.
2. Si el control positivo es negativo, debe asegurarse de que el portaobjetos lleva la etiqueta de código de barras correcta. Si se ha etiquetado correctamente el portaobjetos, compruebe el resto de los controles positivos que se han analizado en la misma sesión y el mismo instrumento para establecer si el problema se debe al anticuerpo primario o a alguno de los reactivos secundarios comunes. Es posible que los tejidos se hayan recogido, fijado o desparafinado de forma incorrecta. Siga el procedimiento apropiado para llevar a cabo la recogida, la conservación y la fijación.
3. La eliminación incompleta de la parafina puede dar lugar a la presencia de artefactos en la tinción o a la ausencia de tinción.
   - Si no se ha eliminado toda la parafina del portaobjetos, la sesión de tinción debería repetirse con una opción de desparafinado más prolongada si fuera posible.
   - También es posible llevar a cabo un desparafinado manual fuera del instrumento. Si se elige la opción manual, no seleccione el desparafinado en línea del protocolo de tinción antes de cargar los portaobjetos en el instrumento. Se deben extremar las precauciones para garantizar que los portaobjetos no se secan antes de la sesión de tinción.
4. Si la tinción de anticuerpo específica es demasiado intensa, se debe repetir la sesión reduciendo el tiempo de incubación en intervalos de 4 minutos para obtener la intensidad de tinción deseada.
5. Si las secciones de tejido se pierden en el portaobjetos, debe comprobar que los portaobjetos tienen carga positiva.
6. Si necesita llevar a cabo acciones correctivas, consulte la sección Procedimientos, el Manual del usuario del instrumento o póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche.
7. Si el dispensador del reactivo no dispensa el líquido, compruebe la cámara de cebado o el menisco por si hubiera restos de materiales extraños o partículas, como fibras o precipitados. Si se ha bloqueado el dispensador, no lo utilice y póngase en contacto con el representante local de asistencia técnica de Roche. En caso contrario, vuelva a cebar el dispensador colocándolo sobre el recipiente de residuos, retirando el tapón de la boquilla y presionando hacia abajo la parte superior del dispensador. Consulte la hoja de datos correspondiente al dispensador en línea asociado con P/N 760-500 para obtener más información sobre su correcto uso.

REFERENCIAS

1. Elias JM, Gown AM, Nakamura RM, et al. Quality control in immunohistochemistry. Report of a workshop sponsored by the Biological Stain Commission. Am J Clin Pathol. 1989;92(6):836-843.
2. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. 2nd edition. St. Louis, MO: The C.V. Mosby Company; 1980.
3. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
4. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
5. College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist, 2009.
6. (CLSI) formerly NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. CLSI document MM4-A (ISBN 1-56238-396-5). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.
7. Herman GE, Elfont EA. The taming of immunohistochemistry: the new era of quality control. Biotech Histochem. 1991;66(4):194-199.
8. Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immunohistochemistry. Am J Clin Pathol. 1980;73(5):626-32.
9. Roche PC, Hsi ED. Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.
10. Taylor C, Cote RJ. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. 2nd Edition. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 1986.

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

Símbolos

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

GTIN	Número mundial de artículo comercial
UDI	Identificador único del dispositivo
	Indica la entidad que ha importado el producto sanitario en la Unión Europea

HISTORIAL DE REVISIONES

Rev.	Actualizaciones
K	Se ha actualizado la sección Advertencias y precauciones y las instrucciones de uso y los enlaces de referencia de los símbolos de las secciones Advertencias y precauciones y Símbolos. Se han actualizado las Referencias correspondientes

PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, *ultra*View 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

EC REP

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

CE