

## Alu Positive Control Probe

**REF** 800-2845

05278694001

**IVD**  $\Sigma$  50

### USO PREVISTO

Alu Positive Control Probe es una combinación de sondas de oligonucleótidos marcadas con fluoresceína cuyo uso previsto en laboratorio es de control positivo para determinar la conservación del ADN durante la recogida, el procesamiento, la fijación y la manipulación de muestras, en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina en 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 diana prevista de Alu Positive Control Probe es la secuencia Alu de repetición del ADN que se encuentra en el núcleo de las células de todos los tejidos. Alu Positive Control Probe es útil para determinar la conservación del ADN durante la recogida, el procesamiento, la fijación y la manipulación de muestras.

Alu Positive Control Probe debería analizarse durante la verificación del ensayo y la resolución de problemas, dado que la accesibilidad al ADN puede variar en función del método de fijación y del tratamiento previo de la muestra.

### PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

Alu Positive Control Probe se ha formulado de forma óptima para su uso con VENTANA ISH MIEW Blue Detection Kit y los reactivos auxiliares en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Durante el proceso de tinción Blue ISH, la sonda marcada con fluoresceína se hibrida con secuencias de ADN diana específicas en los tejidos. Tras la detección del anticuerpo anti-fluoresceína tiene lugar la adición de un anticuerpo biotinilado de cabra anti-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. La sonda marcada con fluoresceína se puede visualizar en ese momento con 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato (BCIP) y el cromógeno nitroazul de tetrazolio (NBT), que genera un precipitado de color azul. A partir de ahí, se puede llevar a cabo una contratinción de la muestra y añadir un cubreobjetos. Los resultados se interpretan mediante microscopía óptica. Alu Positive Control Probe se emplea junto a los reactivos auxiliares y de detección VENTANA y con un instrumento BenchMark IHC/ISH como control en las aplicaciones de tinción de ISH.

En la Figura 1, se ilustra la reacción Blue ISH.

### MATERIAL SUMINISTRADO

Alu Positive Control Probe contiene reactivo suficiente para 50 pruebas.

Un dispensador de 5 mL de Alu Positive Control Probe contiene aproximadamente 500 ng/mL de la sonda marcada con fluoresceína, formulada en un tampón de hibridación con formamida.

Consulte la hoja de datos del kit de detección VENTANA correspondiente para obtener descripciones detalladas de los siguientes aspectos: Principios del procedimiento, Material y métodos, Recogida y preparación de muestras para análisis, Procedimientos de control de calidad, Resolución de problemas, Interpretación de los resultados y Limitaciones.

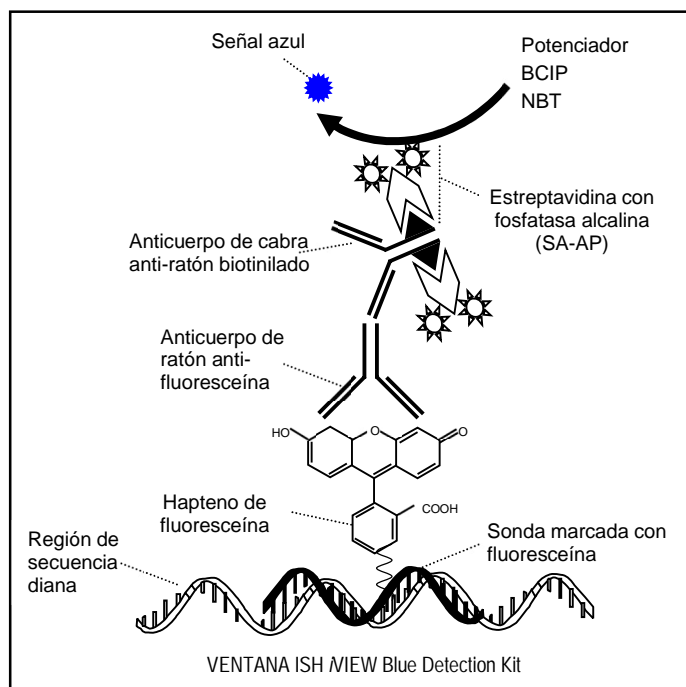


Figura 1. Reacción Blue ISH.

### MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministran reactivos de tinción como los kits de detección de VENTANA ni sus auxiliares, incluyendo portaobjetos de control de tejidos 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 con la sonda, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. VENTANA ISH MIEW Blue Detection Kit (n.º cat. 800-092 / 05278511001)
2. ISH Protease 3 (n.º cat. 780-4149 / 05273331001)
3. Red Counterstain II (n.º cat. 780-2218 / 05272017001)
4. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
5. 10X SSC (n.º cat. 950-110 / 05353947001)
6. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
7. ULTRA Cell Conditioning (ULTRA CC2) (n.º cat. 950-223 / 05424542001)
8. LCS (Low Temperature) (n.º cat. 250-009 / 05260981001)
9. ULTRA LCS (Predilute) (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
10. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
11. Instrumento BenchMark IHC/ISH
12. 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.

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

### PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Los tejidos fijados con formol y embebidos en parafina que se procesan de forma habitual resultan adecuados para su uso con esta sonda cuando se utilizan con un instrumento BenchMark IHC/ISH. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10%.<sup>1</sup> Los portaobjetos deben teñirse inmediatamente, ya que la calidad de las dianas de ácido nucleico de las secciones de tejido puede disminuir con el tiempo.

Se recomienda analizar controles positivos y negativos a la vez que las muestras desconocidas.

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. En general, este artefacto no interfiere con la enumeración de señales. No obstante, existen casos de burbujeo en el núcleo más graves que pueden distorsionar el núcleo o las señales de forma que no sea posible llevar a cabo la enumeración. Es necesario llevar a cabo un desparafinado de estas muestras con baños de xileno y alcohol antes de repetir la tinción con el instrumento o es posible que el usuario deba seleccionar la opción de desparafinado ampliada en el procedimiento de tinción (consulte la sección Resolución de problemas).

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
4. 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. Puede ocasionar daños en 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.
5. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales potencialmente biopeligrosos y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.<sup>2,3</sup>
6. Evite el contacto de los reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante. Evite la inhalación de los reactivos.
7. 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.
8. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría producir a resultados incorrectos.
9. Para obtener más información sobre el uso de este producto, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark IHC/ISH y las instrucciones de uso de todos los componentes necesarios que puede encontrar en [navifyportal.roche.com](http://navifyportal.roche.com).
10. Consulte a las autoridades locales o nacionales para conocer el método de eliminación recomendado.
11. El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del EU GHS. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
12. 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 dañar al 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.

Riesgo	Código	Declaración
	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.

Este producto contiene CAS n.º 75-12-7: formamida

**PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN**

Las sondas VENTANA se han desarrollado para su uso en un instrumento BenchMark IHC/ISH junto con los kits de detección VENTANA y sus accesorios. Los procedimientos de tinción recomendados y protocolos de tinción para Alu Positive Control Probe en los instrumentos BenchMark IHC/ISH se enlistan en la Tabla 2 y la Tabla 3.

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden visualizar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario del instrumento. Consulte la hoja de datos del kit de detección VENTANA correspondiente para obtener más información.

Para obtener más información sobre el uso correcto de este dispositivo, consulte la hoja de datos del dispensador en línea (P/N 17377ES).

Tabla 2. Utilice los siguientes procedimientos de tinción para llevar a cabo el ensayo Alu Positive Control Probe en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Plataforma del instrumento	Procedimiento de tinción
BenchMark GX	INFORM Alu Ctrl MIEW Blue V.1
BenchMark XT	XT INFORM Alu Ctrl MIEW Blue v3
BenchMark ULTRA y BenchMark ULTRA PLUS	U INFORM MIEW Blue ISH

Tabla 3. Condiciones de tinción recomendadas con Alu Positive Control Probe en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Condición de tinción	GX	XT	ULTRA o ULTRA PLUS <sup>a</sup>
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Opción de Cell Conditioning	CC, estándar	CC, estándar	ULTRA CC2, suave
ISH Protease 3	16 minutos	16 minutos	4 minutos
Sonda	Alu Positive Control Probe	Alu Positive Control Probe	Alu Positive Control Probe
Contratinción	Red Counterstain II, 4 minutos	Red Counterstain II, 4 minutos	Red Counterstain II, 4 minutos

<sup>a</sup> Se demostró la concordancia entre los instrumentos BenchMark ULTRA y BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos.

Debido a variaciones en la fijación y el procesamiento del tejido, así como a las condiciones generales de los instrumentos y del entorno del laboratorio, puede que sea necesario aumentar o disminuir la hibridación de la sonda, el acondicionamiento celular o el tratamiento previo de la proteasa en función de las muestras particulares, de la detección que se haya utilizado y de las preferencias del lector.

## PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

### Control positivo de muestra

Puede usarse un control positivo de muestra específica del laboratorio en cada procedimiento de tinción que se lleve a cabo. Las muestras de control pueden ser muestras procedentes de biopsia, cirugía o autopsia recientes que se hayan preparado de la misma forma que las del paciente. Estos controles son útiles a la hora de hacer un seguimiento de todos los pasos que conlleva el proceso, desde la preparación de muestras hasta la tinción. Si la muestra de control se prepara de forma diferente a las muestras de la prueba, proporcionará un control de los reactivos, del instrumento y de los procedimientos, pero no de la fijación ni del procesamiento de las muestras. Los resultados con las muestras de la prueba se deben analizar en la misma sesión.

### Control negativo de muestra

Se debería 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 del anticuerpo y 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.

### Control de reactivo negativo

El control de reactivo negativo debería remplazarse por la sonda de ISH 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 el lugar de la sonda 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. Además, las enzimas con capacidad de reducir el nitroazul de tetrazolio se pueden conservar durante la fijación.

### 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 este documento. Identifique el problema y corrija; a continuación, repita las muestras del paciente.

### 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 positivas y negativas que contengan características de rendimiento en ISH conocidas (consulte la sección Procedimientos de control de calidad mencionada anteriormente y las recomendaciones sobre control de calidad de College of American Pathologists Laboratory Accreditation Program, Anatomic Pathology Checklist,<sup>4</sup> y NCCLS Approved Guideline<sup>5</sup>). Estos procedimientos de control de calidad deben repetirse para cada nuevo lote de reactivos o cuando se produzca un cambio en los parámetros del ensayo.

## INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES Y RESULTADOS PREVISTOS

El procedimiento de tinción de portaobjetos automatizado de VENTANA provoca el precipitado de un producto de reacción de color azul en los sitios diana del ADN que localiza la sonda marcada. Un anatomopatólogo cualificado con experiencia en la interpretación con microscopio de muestras anatomopatológicas y en procedimientos de ISH debe evaluar los controles positivos y negativos antes de interpretar los resultados.

### Controles

Debe examinarse el control 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 azul en las células diana indica una reactividad positiva.

El control negativo se debe estudiar después del control positivo para comprobar la especificidad de la reacción. No debería presentarse tinción específica en el control negativo. Si se detecta la tinción, es posible que indique una reactividad cruzada no específica con las células o los componentes celulares. Se deben utilizar células intactas

para la interpretación de los resultados de tinción, ya que la tinción de las células necróticas o degeneradas suele ser no específica.

Si el control de tejido positivo o el negativo no muestran una tinción adecuada, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

### Muestra 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 del control de reactivo negativo. Un resultado negativo significa que no se ha detectado la secuencia de ADN concreta, no necesariamente que esta no esté presente en las células que se han usado para el ensayo. Siempre que se vaya a interpretar un resultado de ISH debería examinarse también la morfología de cada muestra de tejido mediante una sección 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 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 de ISH y la interpretación de los resultados.
2. La tinción del tejido depende de la manipulación y el procesamiento del tejido antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentamiento y 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 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 incompleta o excesiva puede comprometer la correcta interpretación de los resultados.
4. 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 con tinción y de garantizar la idoneidad de los controles.
5. 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. Los usuarios deberán responsabilizarse de la interpretación de los resultados del paciente siempre que no se respeten los procedimientos recomendados para la prueba.
6. Debido a variaciones en el procesamiento de la muestra, puede que sea necesario aumentar o disminuir el tiempo de tratamiento de proteasa de la ISH o utilizar una proteasa de ISH diferente en las muestras individuales. El usuario debe validar tales cambios. 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.
7. 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. Es posible observar tinción nuclear o citoplasmática en células epiteliales de tejido gastrointestinal cuando se trabaja con sondas marcadas con fluoresceína y el VENTANA ISH /VIEW Blue Detection Kit. Es necesario el uso de Negative Control Probe para detectar esta tinción.
2. Es posible que no todos los ensayos estén registrados en todos los instrumentos. Póngase en contacto con el representante local de asistencia técnica de Roche para obtener más información.

**CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO**

**RENDIMIENTO DE ANÁLISIS**

Se evaluó el rendimiento de Alu Positive Control Probe mediante estudios de sensibilidad, especificidad y precisión. Se han demostrado las siguientes características de rendimiento:

1. Sensibilidad y especificidad de la tinción de Alu Positive Control Probe en una variedad de tipos de tejidos normales y neoplásicos. Se detectó una secuencia Alu de repetición del ADN en los núcleos de las células de la mayoría de tipos de tejido y de los tumores, sin que hubiera un fondo significativo ni reactividad cruzada.
2. Especificidad de Alu Positive Control Probe por la presencia de señal en tejido de bazo humano normal (sin tratar) y la ausencia de señal en tejido de bazo humano tratado con ADNasa1.
3. La precisión entre lotes de la sonda.
4. La precisión dentro de la sesión y entre días en un instrumento BenchMark ULTRA.
5. La precisión entre instrumentos en los instrumentos BenchMark GX, BenchMark XT y BenchMark ULTRA.
6. La precisión entre plataformas entre los instrumentos BenchMark GX, BenchMark XT y BenchMark ULTRA.

Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

Se demostró la precisión del instrumento BenchMark ULTRA PLUS mediante ensayos representativos. Entre los estudios que se llevaron a cabo figuraban la repetibilidad dentro de la sesión y la precisión intermedia entre días y entre sesiones. Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación.

**RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS**

Tabla 4. Soluciones para la resolución de problemas.

Problema	Solución
El control positivo es negativo.	Compruebe que la etiqueta con el código de barras del portaobjetos es correcta.
El control positivo es negativo o presenta una tinción más débil de lo previsto.	Compruebe otros controles positivos que se hayan teñido en la misma sesión de tinción para saber si el fallo se debe al portaobjetos de control o a los reactivos que se han utilizado. Se recomienda el uso de muestras de control positivo para resolver los posibles problemas que puedan surgir en cada sesión.
El tejido se pierde en el portaobjetos.	Asegúrese de que se utilizan portaobjetos con carga positiva.
Las secciones con un grosor superior a 4 µm presentan burbujeo en el núcleo debido al exceso de parafina.	Seleccione la opción «desparafinado ampliado» en el procedimiento de tinción.

**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, 2001.
5. NCCLS. Quality Assurance for Immunocytochemistry: Approved Guideline. NCCLS document MM4-A- (ISBN 1-56238-396-5). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 1999.

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

**Símbolos**

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



Número mundial de artículo comercial

Rx only

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

**HISTORIAL DE REVISIONES**

Rev	Actualizaciones
H	Corrección a la Tabla 2 en la sección Procedimiento de tinción. Actualización a la plantilla actual.

**PROPIEDAD INTELECTUAL**

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

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

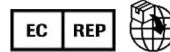
For USA: Rx only

**INFORMACIÓN DE CONTACTO**



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

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



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

