

INFORM HPV III Family 16 Probe (B)

REF 800-4295
05278856001

IVD  50

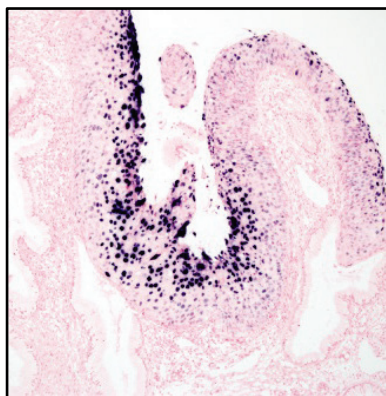


Figura 1. Tejido cervical teñido con la sonda INFORM HPV III Family 16 Probe y el kit de detección ISH MIEW Blue Plus Detection Kit. Aumento de 10x.

histopatología. La interpretación clínica de cualquier tinción o la ausencia de tinción deben complementarse con estudios morfológicos y con la evaluación de los controles apropiados. Dicha evaluación deberá efectuarla un patólogo cualificado, en el contexto del historial clínico del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

Este producto es para uso diagnóstico *in vitro* (IVD).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La sonda INFORM HPV III Family 16 Probe (B) contiene una combinación de sondas genómicas del human papillomavirus (HPV) marcadas.¹ Las dianas previstas son los genotipos de HPV comunes que se asocian con el cáncer cervical. La combinación de sondas ha demostrado hibridación positiva para los siguientes genotipos: 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 56, 58 y 66.

El cáncer cervical es el segundo cáncer más común entre las mujeres de todo el mundo, con un total estimado de 529.000 casos nuevos y 275.000 muertes por año a nivel mundial.^{2,3}

El HPV es un virus del DNA de doble cadena con más de 200 genotipos diferentes que contienen aproximadamente 7.900 pares de bases.⁴ El ciclo vital del HPV está vinculado directamente a la diferenciación del queratinocito. Un evento clave en el ciclo vital del virus es el aumento según la diferenciación en la replicación viral. El incremento en la actividad de replicación da lugar a una amplificación del genoma de HPV de aproximadamente 50 copias por célula en queratinocitos basales durante la subfase de infección clínica a miles de copias de genomas virales por célula en queratinocitos suprabasales durante la fase de infección clínica.⁵ La infección del epitelio cervical por HPV se ha determinado como un factor iniciador en el proceso oncogénico que conduce al desarrollo del cáncer cervical.⁶

El riesgo de avance de la enfermedad de displasia a cáncer cervical depende de los tipos de HPV. Por consiguiente, los tipos de HPV se han agrupado en diferentes grupos de riesgo oncogénico. Estos grupos se asocian con el nivel de riesgo de que un paciente pueda desarrollar cáncer. Por ejemplo, se ha detectado que el grupo de riesgo alto (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73 y 82) produce tumores, mientras que el grupo de riesgo bajo (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 y 81) tiene pocas posibilidades de desencadenar en enfermedad maligna.^{7,8} La identificación del grupo de riesgo de HPV mediante las pruebas de hibridación *in situ* (ISH) basadas en portaobjetos

en combinación con la evaluación morfológica convencional de los portaobjetos puede mejorar las decisiones clínicas.⁹

La ISH basada en portaobjetos es un método repetible, fiable y fácil de realizar para detectar el HPV en secciones de tejido embebido en parafina.¹⁰ El nivel de detección de las etiquetas radioisotópicas y noisotópicas con sondas genómicas parece llegar a reducirse a entre 10 y 50 copias virales por célula al usar muestras de tejido fijado con formol.^{11,12}

El sistema de ISH ofrece diversas ventajas con respecto a otros métodos que requieren la destrucción de las células diana, como las técnicas de captura de ácidos nucleicos o la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Estas ventajas incluyen: correlación directa con los hallazgos citológicos, la posibilidad de analizar muestras de archivo y la posibilidad de identificar el resultado de la ISH del HPV según la morfología del tejido.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

La sonda INFORM HPV III Family 16 Probe (B) está diseñada para usarse con el kit de detección ISH MIEW Blue Plus Detection Kit y reactivos auxiliares en el instrumento BenchMark XT IHC/ISH.

El kit de detección ISH MIEW Blue Plus Detection Kit detecta sondas marcadas con DNP y anticuerpos específicos unidos a una secuencia diana o un antígeno en secciones de tejido embebido en parafina. La sonda marcada o el anticuerpo es localizado por un anticuerpo anti-DNP y, posteriormente, por un anticuerpo secundario marcado con enzimas o un anticuerpo secundario conjugado con biotina. Seguidamente, se añade el conjugado enzimático estreptavidina-AP (alkaline phosphatase) que se enlaza a la biotina presente en el anticuerpo secundario. A continuación, se visualiza el complejo con 5-Bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate (BCIP) y nitro blue tetrazolium (NBT) como cromógeno, que produce un precipitado azul que se detecta fácilmente mediante microscopía óptica. La Figura 2 ilustra la reacción Blue ISH.

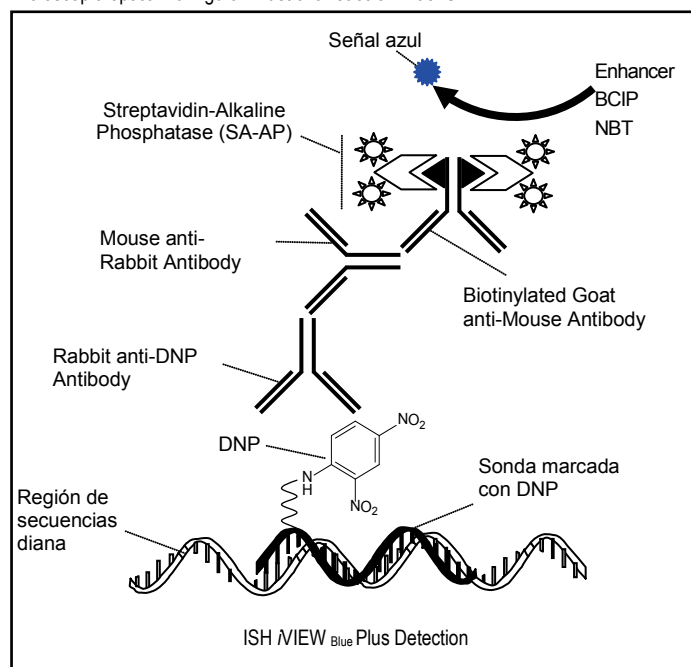


Figura 2. Reacción del ISH MIEW Blue Plus Detection

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos suministrados

La sonda INFORM HPV III Family 16 Probe (B) contiene reactivo suficiente para 50 pruebas.

Un dispensador de 10 ml de INFORM HPV III Family 16 Probe (B) contiene aproximadamente 3,4 µg/ml de la combinación de sondas marcadas con DNP y DNA bloqueante de placenta humana en un tampón de hibridación a base de formamida.

Consulte en el prospecto correspondiente del kit de detección Ventana las descripciones detalladas de: (1) principios del procedimiento, (2) materiales y reactivos necesarios, pero no suministrados, (3) recogida y preparación de muestras para análisis, (4) procedimientos de control de calidad, (5) resolución de problemas, (6) interpretación de los resultados, y (7) limitaciones generales.

Reconstitución, mezcla, dilución y titulación

No requiere reconstitución, mezcla, dilución ni titulación. Una dilución adicional puede dar lugar a una pérdida de la especificidad de la tinción. El usuario debe validar cualquier cambio.

MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministran reactivos de tinción, como kits de detección y componentes auxiliares de VENTANA.

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios, pero no se suministran con el kit:

1. VENTANA HPV System Control Slides
2. VENTANA Alu Positive Control Probe II
3. VENTANA ISH Negative Control
4. VENTANA ISH /VIEW^{Blue} Plus Detection Kit
5. VENTANA ISH Protease 1, 2 o 3*
6. VENTANA Red Counterstain II
7. VENTANA Reaction Buffer (10X)
8. VENTANA SSC (10X)
9. VENTANA EZ Prep (10X)
10. VENTANA Cell Conditioning 2 (Pre-dilute)
11. VENTANA Liquid Coverslip (High Temperature)
12. Instrumento BenchMark XT IHC/ISH
13. Etiquetas de código de barras (etiquetas apropiadas para el control y la sonda que se está probando)
14. Formol tamponado neutro al 10 %
15. Micrótopo
16. Portaobjetos para microscopio, apropiados para ISH
17. Portaobjetos de control negativo y positivo
18. Xileno, grado histológico
19. Etanol o alcohol reactivo, grado histológico
20. Acetona
21. Agua desionizada o destilada
22. Medio de montaje y cubreobjetos de cristal o cubreportaobjetos automatizado
23. Cubetas o baños de tinción
24. Cronómetro
25. Microscopía óptica

* Según sea necesario para aplicaciones específicas.

No todos los productos enumerados en el prospecto están disponibles en todos los lugares. Consulte con su representante local.

ALMACENAMIENTO

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvese de 2 a 8 °C. No congelar. El usuario debe validar las condiciones de almacenamiento que sean diferentes a las especificadas en el prospecto.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad de la sonda después de cada análisis, 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 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 para el método de almacenamiento indicado.

No hay signos definitivos que indiquen la inestabilidad de este producto, por lo que los controles positivos y negativos deben analizarse simultáneamente con muestras desconocidas. Se debe contactar de inmediato con la oficina local de Roche si hay un indicio de inestabilidad del reactivo.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Los tejidos procesados de forma rutinaria fijados con formol y embebidos en parafina son adecuados para este reactivo. Las secciones de tejido deben cortarse con el grosor adecuado para obtener una tinción correcta.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico *in vitro* (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. La sensibilidad clínica del ensayo debe validarse en el laboratorio del usuario.
4. **Atención: el producto contiene formamida.** La formamida es tóxica por inhalación y moderadamente tóxica por ingestión. Es irritante para la piel, los ojos y las membranas mucosas, y es absorbida por la piel. Puede causar daños al feto. Tome precauciones al manipular los reactivos. Utilice guantes desechables y lleve ropa de protección adecuada cuando maneje materiales posiblemente tóxicos o cancerígenos.
5. Asegúrese de que el contenedor de residuos esté vacío antes de comenzar un ciclo en el instrumento. Si no se toma esta precaución, el recipiente de residuos puede desbordarse y el usuario corre el riesgo de sufrir resbalones y caídas.
6. Los materiales de origen humano o animal deben tratarse como posible riesgo biológico y desecharse con las debidas precauciones.
7. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
8. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, puesto que ello podría dar lugar a resultados incorrectos.
9. La dilución de los reactivos está optimizada, y una dilución adicional puede ocasionar una pérdida de tinción diana. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
10. Consulte a las autoridades locales o nacionales respecto al modo de eliminación recomendado.
11. Para obtener información de seguridad complementaria, consulte la hoja de datos de seguridad del producto y la guía de símbolos y peligros que encontrará en la página www.ventana.com.

INSTRUCCIONES DE USO

Procesamiento de portaobjetos posterior al análisis

Una vez que el análisis haya finalizado, realice los siguientes pasos para deshidratar correctamente los portaobjetos teñidos. (Una correcta deshidratación permitirá garantizar una visualización óptima de las señales).

Procedimiento de deshidratación

1. Para eliminar la solución cubreobjetos, lave los portaobjetos en 2 soluciones secuenciales de un lavavajillas suave (no utilice detergente para lavavajillas automáticos).
2. Enjuague bien los portaobjetos con agua destilada durante aproximadamente un minuto. Sacuda el exceso de agua.
3. Traslade los portaobjetos a un baño de etanol al 80 % durante aproximadamente 1 minuto.
4. Traslade los portaobjetos a un baño de etanol al 90 % durante aproximadamente 1 minuto.
5. Traslade los portaobjetos a un baño de etanol al 100 % durante aproximadamente 1 minuto.
6. Traslade los portaobjetos a un segundo baño de etanol al 100 % durante aproximadamente 1 minuto.
7. Sumérjalos 10 veces en acetona al 100 % (utilizada en una sola ocasión, cambie la acetona después de cada tinción). No deje los portaobjetos en acetona.
8. Traslade los portaobjetos al primer baño de xileno durante aproximadamente 30 segundos.
9. Traslade los portaobjetos a un segundo baño de xileno durante aproximadamente 30 segundos.
10. Coloque el cubreobjetos sobre el portaobjetos.

Nota: para garantizar la deshidratación completa, es necesario cambiar con frecuencia los baños de etanol y puede añadirse un tercer baño con etanol al 100 %.

PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

Control de muestras positivo

Se debe ejecutar un control de muestras positivo (control de nivel del sistema) con cada ciclo de tinción realizado. El control de nivel del sistema se utiliza para confirmar que la sonda se aplicó y el instrumento funcionó de forma apropiada. Esta muestra debe contener componentes tisulares o células de tinción tanto positiva como negativa. Las muestras de control deben ser muestras de biopsia o cirugía preparadas o fijadas mediante un proceso idéntico al de las muestras del paciente. Estos controles deben supervisar todos los pasos del procedimiento, desde la preparación de la muestra hasta su tinción. Utilizar una muestra fijada o procesada de la misma forma que la muestra del paciente proporciona un control apropiado para confirmar que los reactivos y el instrumento funcionaron correctamente. Se recomienda una muestra con tinción positiva débil (es decir, que demuestre un patrón de tinción punteado), que puede requerir el examen microscópico con aumentos tan altos como 20x o 40x, para conseguir un control de calidad óptimo y para detectar los niveles leves de degradación de los reactivos. Si el control positivo no muestra una tinción positiva, se debe considerar que los resultados de las muestras en estudio no son válidos.

Control de muestras negativo

Se debe ejecutar un control de muestras negativo con cada procedimiento de tinción realizado. El objetivo es supervisar la reactividad cruzada no deseada de la sonda y el anticuerpo con los componentes celulares. La misma muestra utilizada para el control de muestras positivo se puede utilizar también como control de muestras negativo. La variedad de tipos celulares presentes en la mayoría de las muestras ofrece puntos de control negativo interno, pero esto debe ser verificado por el usuario. Los componentes que no son de tinción deben presentar una ausencia de tinción específica y proporcionar una indicación de tinción de fondo. Si se produce una tinción inaceptable en los puntos de control de muestras negativo, el resultado con las muestras del paciente se debe considerar no válido.

Control positivo del reactivo

Se debe realizar un control positivo del reactivo durante la verificación y resolución de problemas del ensayo, puesto que la accesibilidad del DNA puede variar dependiendo del método de fijación y el tratamiento previo de la muestra. Puede utilizarse la sonda Ventana Alu Positive Control Probe II como control positivo para este ensayo.

Control negativo del reactivo

Se debe sustituir el control negativo del reactivo de la sonda ISH por cada muestra teñida para facilitar la interpretación de cada resultado del paciente. Esto proporciona una indicación de la tinción de fondo no específica de cada portaobjetos. En lugar de la sonda ISH, realice la tinción del portaobjetos con el control negativo Ventana ISH Negative Control. El período de incubación de los controles debería corresponderse con el de la sonda.

El control negativo resulta especialmente importante al haberse observado que es posible encontrar la forma intestinal de la alkaline phosphatase en células que no sean las de las microvellosidades de las células del epitelio intestinal. Asimismo, las enzimas capaces de reducir el nitro blue tetrazolium se pueden conservar durante la fijación.

Discrepancias inexplicables

Las discrepancias no explicadas en los controles deben comunicarse al representante local inmediatamente. Si los resultados del control de calidad no cumplen las especificaciones, los resultados del paciente no son válidos. Consulte la sección Resolución de problemas de este prospecto. Identifique y corrija el problema y, a continuación, repita las muestras de pacientes.

Verificación del ensayo

Antes del primer uso de un reactivo en un procedimiento de diagnóstico, debe verificarse el rendimiento del reactivo mediante pruebas sobre una serie de muestras con características de rendimiento ISH conocidas. Estas evaluaciones de control de calidad se deben repetir para cada nuevo lote de reactivos o cada vez que haya un cambio en los parámetros del ensayo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Un patólogo con experiencia en la interpretación microscópica de muestras de anatomía patológica, los procedimientos de ISH y el reconocimiento de resultados de la hibridación *in situ* (que requieren el examen microscópico con objetivos de 20x, 40x y/o 60x) debe evaluar los controles antes de interpretar los resultados.¹³ La presencia de un producto de reacción de color azul en los núcleos epiteliales cervicales con un patrón de tinción homogéneo o punteado indican una reactividad positiva. El patrón homogéneo aparece

en forma de precipitado globular azul oscuro, uniforme y grande, en el núcleo celular epitelial. Normalmente es visible en la región queratinizada superficial del epitelio, a menudo en las células coilocitóticas. El patrón punteado es un patrón nuclear discontinuo y discreto de color azul oscuro. Es más frecuente en los grupos celulares con una ubicación más basal dentro del epitelio. En algunos casos, el patrón punteado puede requerir un mayor aumento (objetivo de 40x) para su visualización.

Es imprescindible considerar únicamente como positiva la tinción nuclear celular epitelial si se quiere evitar una interpretación falsa positiva. Los precipitados estromales no celulares y la tinción citoplasmática de neutrófilos y células plasmáticas representan una tinción no específica con artefactos.

También debe examinarse la morfología de cada muestra utilizando una sección tintada con hematoxilina y eosina (H&E) al interpretar cualquier resultado de ISH. Las observaciones morfológicas y los datos clínicos pertinentes del paciente deberán interpretarse conjuntamente con los resultados de ISH.

Nota: no se recomienda el uso de un objetivo 100x. Todas las pruebas de validación y verificación del diseño se realizaron con objetivos de 20x, 40x y/o 60x.

Controles

Deben examinarse primero los controles de muestras y los reactivos con tinción positiva para determinar que todos los reactivos funcionan correctamente. La presencia de un producto de reacción precipitado de color azul discreto en los núcleos de las células diana indica una reactividad positiva.

Los controles de muestras y los reactivos negativos deben examinarse después del control positivo para verificar la especificidad de la reacción. El control negativo no debe mostrar ninguna tinción específica. Si hay tinción, puede indicar una reactividad cruzada no específica con las células o componentes celulares. Se deben utilizar células intactas para la interpretación de los resultados de tinción, ya que las células necróticas o degeneradas con frecuencia no se tiñen de manera específica.

Si el control positivo o negativo no muestra una tinción adecuada, los resultados de las muestras en estudio se deben considerar como no válidos.

Muestra del paciente

Las muestras del paciente son las últimas que se deben examinar. La intensidad de la tinción positiva se debe valorar en el contexto de cualquier tinción de fondo del control negativo del reactivo. Un resultado negativo significa que la secuencia de DNA en cuestión no se detectó, no necesariamente que la secuencia está ausente en las células sometidas a ensayo. También debe examinarse la morfología de cada muestra utilizando una sección teñida con hematoxilina y eosina al interpretar cualquier resultado de ISH. Los resultados morfológicos del paciente y los datos clínicos pertinentes debe interpretarlos un patólogo cualificado.

LIMITACIONES

1. La ISH es un proceso de diagnóstico de varios pasos que requiere una formación especializada en la selección de los reactivos adecuados, selección de muestras, procesamiento, preparación del portaobjetos de ISH e interpretación de los resultados.
2. La tinción tisular depende de la manipulación y del procesamiento de los tejidos antes de la tinción. Una fijación, congelación, descongelación, lavado, secado, calentado o corte inadecuados, así como la contaminación con otros tejidos o líquidos, puede producir artefactos y resultados de falso negativo o falso positivo.
3. Los resultados incoherentes pueden proceder de las variaciones en los métodos de fijación y embebido, o bien de las irregularidades inherentes del tejido.
4. La contratinción excesiva o incompleta puede poner en peligro la interpretación correcta de los resultados.
5. La interpretación clínica de una tinción positiva, o de su ausencia, debe evaluarse en el contexto de la historia clínica y de la morfología, y debe complementarse con los controles adecuados y otras pruebas diagnósticas. Es responsabilidad de un patólogo cualificado familiarizarse con las sondas, los reactivos y los métodos usados para obtener una preparación con tinción. La tinción debe realizarse con la supervisión de un patólogo responsable de la revisión de los portaobjetos teñidos y de la verificación de la idoneidad de los controles negativos y positivos.

6. Los reactivos pueden demostrar reacciones inesperadas en muestras no sometidas a prueba previamente. La posibilidad de reacciones no esperadas incluso en grupos de muestra sometidos a prueba no puede eliminarse por completo debido a la variabilidad biológica de secuencia diana en muestras biológicas. Póngase en contacto con su oficina local de Ventana en caso de reacciones inesperadas documentadas.
7. Debido a la variación en el procesamiento de muestras, puede ser necesario aumentar o disminuir el tiempo de tratamiento de proteasa de la ISH en muestras individuales. Estos cambios debe validarlos el usuario.
6. Nindl I, Greinke C, Zahm DM, Stockfleth E, Hoyer H, Schneider A. Human papillomavirus distribution in cervical tissues of different morphology as determined by hybrid capture assay and PCR. *Int J Gynecol Pathol.* 1997;16(3):197-204.
7. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers – a brief historical account. *Virology.* 2009;384(2):260-265.
8. Munoz N, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus type associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003;348(6):518-527.
9. Delvenne P, Fontaine MA, Delvenne C, Nikkels A, Boniver J. Detection of human papillomaviruses in paraffin-embedded biopsies of cervical intraepithelial lesions: analysis by immunohistochemistry, in situ hybridization, and the polymerase chain reaction. *Mod Pathol.* 1994;7(1):113-119.

RESUMEN DE RESULTADOS PREVISTOS

1. La sonda Ventana INFORM HPV III Family 16 Probe (B), el kit de detección ISH /VIEW_{Blue} Plus Detection Kit y los reactivos auxiliares junto con un instrumento BenchMark IHC/ISH producen precipitados azules en los puntos de la secuencia diana localizados por las sondas ISH.
2. Ventana ha analizado y optimizado la especificidad y la sensibilidad de la detección de secuencias diana. La combinación de sondas ha demostrado hibridación positiva para los siguientes genotipos de HPV: 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 56, 58 y 66 en muestras de biopsias cervicales. Se pueden detectar patrones de tinción del HPV tanto homogéneos como puntuados (como se observa en las células HeLa, entre 10 y 50 copias virales¹⁵).
3. La reproducibilidad intraanálisis e interanálisis de la tinción con la sonda INFORM HPV III Family 16 Probe (B) se determinó mediante la tinción de 60 portaobjetos multibloque (que consistían en secciones preparadas con líneas celulares CaSki, HeLa y T24 embebidas en parafina y fijadas con formol). Los portaobjetos se tiñeron en dos instrumentos BenchMark y dos instrumentos BenchMark XT IHC/ISH diferentes, con tres análisis por instrumento. Todos los portaobjetos se tiñeron con una intensidad comparable. Los usuarios deberían verificar los resultados de reproducibilidad intraanálisis (dentro del análisis) tiñendo varios conjuntos de secciones en serie con secuencias diana baja, mediana y alta en un único ciclo.
10. Zehbe I, Hacker GW, Su H, Hauser-Kronberger C, Hainfeld JF, Tubbs R. Sensitive in situ hybridization with catalyzed reporter deposition, streptavidin-Nanogold and silver acetate autometallography: detection of single-copy human papillomavirus. *Am J Pathol.* 1997;150(5):1553-1561.
11. Zehbe I, Rylander E, Strand, A, Wilander E. Use of Probemix and OmniProbe biotinylated cDNA probes for detecting HPV infection in biopsy specimens from the genital tract. *J Clin Pathol.* 1993;46(5):437-440.
12. Unger, ER. In situ diagnosis of human papillomaviruses. *Clin Lab Med.* 2000;20(2):289-301.
13. Evans MF, Aliesky HA, Cooper K. Optimization of biotinyl-tyramide-based in situ hybridization for sensitive background-free applications on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue specimens. *BMC Clin Pathol.* 2003;3(1):2.

PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK e INFORM son marcas comerciales registradas de Roche. Las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.
© 2017 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMACIÓN DE CONTACTO



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

www.ventana.com

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si el control positivo es negativo, se debe comprobar para garantizar que el portaobjetos tiene la etiqueta de código de barras adecuada.
2. Si el control positivo es negativo o muestra una tinción más débil de la esperada, deben comprobarse otros controles positivos (p. ej., controles de tejido positivos en portaobjetos de muestras de pacientes) teñidos en el mismo ciclo de tinción para determinar si el error se debe al portaobjetos de control o a los reactivos utilizados. Las muestras que se han recogido, fijado, almacenado o desparafinado de forma inapropiada pueden no mostrar una tinción adecuada.
3. Si la muestra se elimina del portaobjetos mediante lavado, los portaobjetos deben comprobarse para garantizar que tienen carga positiva.
4. Si los portaobjetos muestran un desteñimiento en el artefacto a partir de la química de detección, el proceso de deshidratación no se ha completado. Consulte la sección Procedimiento de deshidratación.
5. Si se observa una tinción no específica del cristal o de zonas del tejido (particularmente, zonas diferentes al epitelio escamoso), deberá realizarse la tinción de otra sección de la muestra del paciente.
6. Para acciones correctivas, consulte la sección Procedimiento paso a paso del manual del usuario del instrumento BenchMark IHC/ISH o póngase en contacto con la oficina local de Roche.

BIBLIOGRAFÍA

1. HPV Sequence Database (<http://www.stdgen.lanl.gov/stdgen/virus/hpv/>).
2. WHO/ICO HPV Information Center. Human Papilloma Virus and Related Cancers. Summary Report Update. November 15, 2010. p8. http://apps.who.int/hpvcentre/statistics/dynamic/ico/country_pdf/XWX.pdf?CFID=5730279&CFTOKEN=65827281.
3. HPV Information Centre. <http://www.hpvcentre.net/aboutus.php>
4. Clinical Microbiology and Infection © 2015 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved, CMI, 21, 808-816.
5. Birner P, Schindl M, Stani J, Oberhuber G, Czerwenka K, Vutuc C, Breitenacker G. Hybrid capture based human papillomavirus typing in cervical screening compared to cytology and histology. *Wien Klin Wochenschr.* 2000;112(17):761-766.