

THỬ NGHIỆM, ĐÁNH GIÁ BỘ KIT AMPLISENS® HPV HCR GENOTYPE-FRT CHẨN ĐOÁN VÀ ĐỊNH TYPE HUMAN PAPILLOMA VIRUS

BÙI THỊ TUYẾT, TRẦN VĂN TRƯỜNG,
NGUYỄN VĂN HIỆP, NGUYỄN VĂN KHANH

1. MỞ ĐẦU

Ung thư cổ tử cung là bệnh ung thư phổ biến thứ hai ở phụ nữ trên toàn thế giới [6, 11]. Việc nhiễm dai dẳng các type *human papilloma virus* (HPV) gây ung thư là nguyên nhân chủ yếu nhất dẫn tới sự phát triển thành bệnh ung thư cổ tử cung (CTC). Có 12 type HPV được phân loại vào “lớp” *gây bệnh ung thư* cho người là 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 và 59 [4, 3, 15], trong đó HPV type 16 và 18 là phổ biến nhất và được tìm thấy ở hơn 73% trường hợp ung thư CTC xâm lấn [10]. HPV type 68 và những type HPV nguy cơ cao còn lại (26, 30, 34, 53, 66, 67, 69, 70, 73, 82, 85 và 97) được xếp vào loại *có khả năng gây ung thư* cho người.

Xét nghiệm những type HPV gây ung thư có thể phát hiện một cách chính xác những phụ nữ có nguy cơ bị ung thư CTC. Theo WHO, xét nghiệm DNA HPV có thể được xếp vào công cụ sàng lọc chính khi vaccine HPV được đưa vào chương trình tiêm chủng mở rộng [6]. Phương pháp sinh học phân tử thông thường phát hiện DNA HPV bao gồm các kỹ thuật lai như Southern-blot, Dot - blot và Slot-blot. Gần đây các nhà nghiên cứu thường tập trung vào phát triển các bộ Kit phát hiện và định type HPV dựa vào kỹ thuật PCR, Real-time PCR và được đánh giá rất tốt dựa vào khả năng phát hiện DNA HPV với số lượng bản sao rất nhỏ [13].

Bộ thử nghiệm AMPLISENS® HPV HCR GENOTYPE-FRT là một trong những sản phẩm mới nhất của Hãng Amplisens, bộ kit này có thể phát hiện và xác định được đồng thời 12 type HPV nguy cơ cao 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 và 59 bị nhiễm trong mẫu lâm sàng dịch quét CTC bằng phương pháp Realtime-PCR. Kết thúc quá trình thí nghiệm, kết quả sẽ được hiển thị trên màn hình máy tính cùng các thông số kỹ thuật, cho phép người làm thí nghiệm có thể phát hiện và đánh giá được ngay mẫu bệnh phẩm có bị nhiễm hay không, đồng thời còn cho biết được mẫu bệnh phẩm có bị đồng nhiễm nhiều type HPV hay không. Cho đến nay, đây là bộ thử nghiệm đầu tiên định type HPV mà không qua bước lai màng như nhiều bộ kit khác [2].

Trong nội dung bài báo này, chúng tôi đánh giá khả năng sử dụng của bộ kit AMPLISENS® HPV HCR GENOTYPE-FRT trên 67 mẫu lâm sàng dịch quét CTC thập được ở một số bệnh viện và trung tâm y tế, so sánh với 3 bộ thử nghiệm phát hiện nhanh HPV: (1) AmpliSens® HPV HCR screen-titre-FRT PCR 4x; (2) LightPower HPV Genotype PCR-RDB ; (3) LightPower iVAHPV PCR Plus.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu thử:

- 67 mẫu lâm sàng dịch phết CTC thu thập tại từ các phòng thí nghiệm của Trung tâm Chăm sóc sức khỏe sinh sản Tp. Hồ Chí Minh và một số bệnh viện phụ sản như: BV Đại học Y dược; BV Từ Dũ; BV Hùng Vương; BV 175 Bộ Quốc phòng ;

- Bộ 20 mẫu DNA được tách chiết từ dịch quét CTC đã được xác định là dương tính; Bộ 20 mẫu DNA được tách chiết từ dịch quét CTC đã được xác định là âm tính do Phòng nghiên cứu và phát triển - Công ty Cổ phần công nghệ Việt Á cung cấp.

Hóa chất (sinh phẩm): (1) Bộ kit AmpliSens® HPV HCR genotype-FRT PCR (HPV Amp-genotype) - đối tượng đánh giá, hãng Amplisens; (2) Bộ kit AmpliSens® HPV HCR screen-titre-FRT PCR 4x (HPV Amp-screen) - đối tượng so sánh, hãng Amplisens; (3) Bộ kit LightPower HPV Genotype PCR-RDB (HPV Genotype RDB) - đối tượng so sánh, Công ty Việt Á; (4) Bộ kit LightPower iVAHPV PCR Plus (HPV PCR plus)- đối tượng so sánh, Công ty Việt Á; (5) Bộ kit tách chiết DNA tổng số DNA-sorb-AM nucleic acid extraction (Hãng Amplisens); (6) Bộ kit thu nhận và xử lý mẫu dịch quét CTC iVA Swab Tool Kit (Công ty Việt Á).

Máy móc, thiết bị nghiên cứu: Máy Roto-gene Q6 plex; máy PCR Maxygene; Máy ly tâm Microspin 12 Lavita; Bộ điện di nằm ngang; Máy soi gel; máy ổn nhiệt; tủ thao tác PCR vô trùng; Pipette các loại; vật liệu tiêu hao các loại.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thu thập và bảo quản mẫu bệnh phẩm

Mẫu lâm sàng dịch phết CTC được thu bởi các bác sỹ sản khoa sau khi thăm khám. Quy trình lấy mẫu tuân thủ nguyên tắc lấy mẫu vùng sinh sản trong sản khoa, được thực hiện bởi bác sỹ hoặc kỹ thuật viên y tế có chuyên môn liên quan. Mẫu thu thập được dưới dạng dịch phết trên tăm bông chuyên dụng, được bảo quản trong 0,5 ml dung dịch TE 1x. Mẫu sau khi thu thập được sẽ được chuyển ngay về phòng thí nghiệm và được giữ ở nhiệt độ -20°C cho đến khi sử dụng.

Tách chiết DNA tổng số

Mẫu dịch quét CTC được tách chiết theo phương pháp hấp phụ vào các hạt silica. Dung dịch ly giải có chứa guanidine chloride giúp dung giải và làm biến tính các phân tử protein của tế bào. Các phân tử acid nucleic sau đó được hấp phụ vào các hạt silica. DNA tách chiết được sử dụng trực tiếp cho các test chẩn đoán bằng phương pháp PCR. Toàn bộ quy trình tách chiết được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Phát hiện và định type HPV bằng kit HPV Amp-genotype

Nguyên lý phát hiện nhanh HPV của bộ kit dựa vào phản ứng PCR đa môi và real-time PCR phát hiện 12 type HPV nguy cơ cao (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59). Đặc điểm nổi bật của bộ Kit này là không chỉ có khả năng phát hiện mà còn có khả năng xác định chính xác mẫu bệnh phẩm bị nhiễm type HPV nào. Mỗi mẫu bệnh phẩm được thực hiện trong 4 ống nghiệm, mỗi ống nghiệm được phát hiện bằng 4 kênh màu.

Phát hiện và định nhóm type HPV bằng kit HPV Amp-screen

Phương pháp dựa trên phản ứng real-time PCR đa môi (multiplex PCR) và phát hiện đoạn DNA của gen E1-E2 của HPV và đoạn gen β -globin được sử dụng làm chứng nội. Phản ứng PCR phát hiện được 12 type HPV trong 1 ống nghiệm duy nhất. Kết quả của phản ứng khuếch đại DNA được phát hiện trong 4 kênh huỳnh quang riêng biệt: Nhóm A9 HPV (bao gồm các type 16, 31, 33, 35, 52, 58) trong kênh JOE/Yellow; nhóm A7 HPV (bao gồm các type 18, 39, 45, 59) trong kênh ROX/Orange; type HPV 51 và 56 trong kênh Cy5/Red; kênh FAM/Green phát hiện chứng nội.

Phát hiện và định type HPV bằng kit HPV Genotype RDB

Bộ Kit có khả năng phát hiện 24 type HPV bằng kỹ thuật Reverse Dot Blot (RDB), trong đó bao gồm 8 type HPV nguy cơ thấp và 16 type HPV nguy cơ cao. Kỹ thuật Reverse dot-blot sử dụng nhiều đoạn môi được đánh sẵn dấu trên tấm màng nylon. Mỗi probe được đánh dấu tại 1 điểm trên màng. Quy trình thí nghiệm tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Phát hiện HPV bằng kit HPV PCR plus

Trong mix PCR của bộ kit này có chứa các đoạn môi nhân bản và phát hiện 14 type DNA HPV, bao gồm các type: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 53, 56, 58, 66, 70 và đoạn gen tổng hợp β -globin làm chứng nội. 14 type HPV này được biết là nguyên nhân gây ra 97% trường hợp ung thư và loạn sản CTC. Sản phẩm PCR sau đó được điện di trên gel agarose 1,2%. Độ dài đặc hiệu của các đoạn DNA nhân bản được bao gồm mẫu chứng nội IC (gen β -globin): 723 bp; Mẫu chứng dương C+ và các mẫu dương tính thuộc 14 type HPV có độ dài nằm trong khoảng 267 - 325 bp.

Phương pháp khảo sát độ nhạy, độ đặc hiệu của các bộ thử nghiệm: Được thực hiện theo phương pháp của Altman DG [1].

Phương pháp phân tích kết quả

Việc phân tích kết quả được thực hiện bằng việc sử dụng phần mềm SPSS 20.0. Tất cả các giá trị $p < 0,05$ được xác định là có ý nghĩa thống kê. Độ tương quan giữa các phương pháp được xác định bởi chỉ số Cohen's Kappa (K). Giá trị K từ 0.00 đến 0.20 chỉ sự tương quan kém; từ 0.21 đến 0.40 chỉ sự tương quan yếu; từ 0.41 đến 0.60 chỉ sự tương quan vừa phải; từ 0.61 đến 0.80 chỉ sự tương quan tốt; từ 0.81 đến 1.00 chỉ sự tương quan rất tốt tới tương quan hoàn toàn.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định độ nhạy, độ đặc hiệu, giới hạn phát hiện, của các bộ thử nghiệm

Độ nhạy đối với bộ sinh phẩm

Kết quả xác định độ nhạy của các bộ sinh phẩm được thể hiện ở bảng 1

Bảng 1. Kết quả xác định độ nhạy của các bộ kit

Bộ kit	Kết quả xét nghiệm			
	Dương tính thật (a)	Âm tính giả (b)	a + b	Độ nhạy
HPV Amp-genotype	20	0	20	100%
HPV Amp-screen	20	0	20	100%
HPV Genotype RDB	19	1	20	95%
HPV PCR plus	19	1	20	95%

Bộ kit HPV Amp- genotype có độ đặc hiệu 100%, cao hơn so với 2 bộ kit của Công ty Việt Á (có độ nhạy 95%). So sánh với độ nhạy của một số sinh phẩm khác như INNO-LiPA (Hàn Quốc) đã công bố đạt khoảng 93-100%, hoặc so với AdvanSure đạt 95.6 tới 99.5% [16] thì kit HPV Amp-genotype có độ nhạy cao hơn.

Độ đặc hiệu của các bộ sinh phẩm

Bảng 2. Kết quả xác định độ đặc hiệu của các bộ kit

Bộ kit	Kết quả xét nghiệm			
	Âm tính giả (c)	Âm tính thật (d)	c + d	Độ đặc hiệu
HPV Amp-genotype	0	20	20	100%
HPV Amp-screen	1	19	20	95%
HPV Genotype RDB	1	19	20	95%
HPV PCR plus	1	19	20	95%

Độ đặc hiệu của bộ kit HPV Amp-genotype đạt 100%, cao hơn các bộ kit còn lại. Kết quả này phù hợp với thông tin của nhà sản xuất cung cấp [2]. Tất cả các đoạn môi và đầu dò dùng trong kit HPV Amp-genotype đều được kiểm tra về tính tương đồng với các trình tự đã được công bố trên ngân hàng gen (Genbank) bằng cách phân tích, so sánh trình tự.

Giới hạn phát hiện vi sinh vật (LOD - limit of detection)

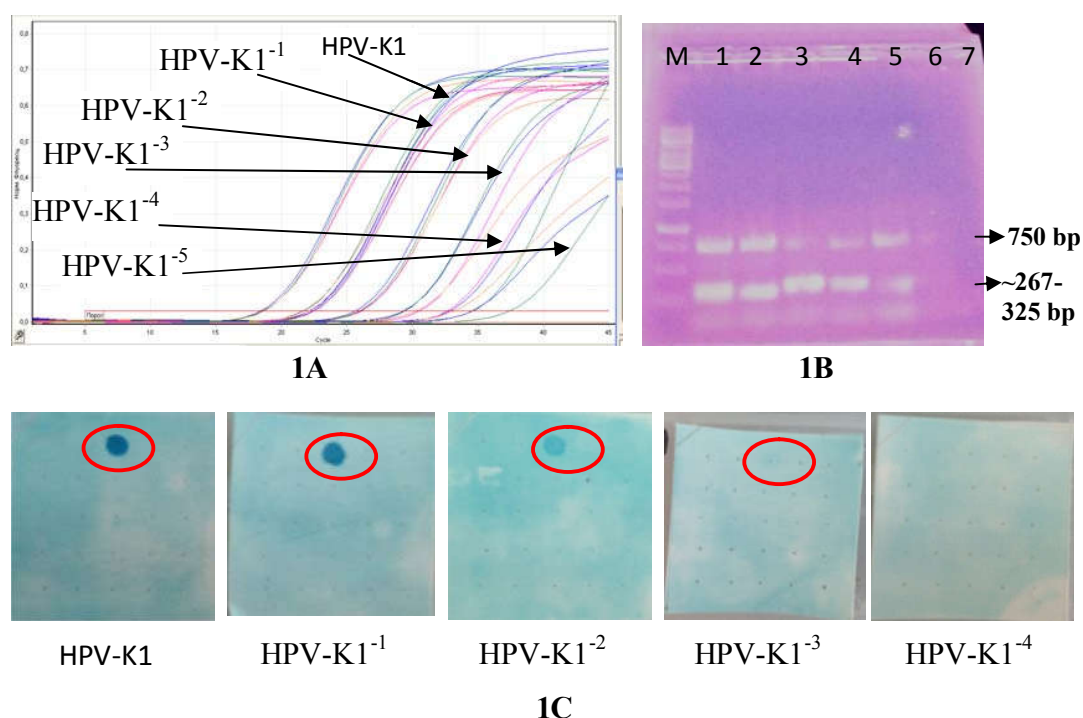
Chúng tôi sử dụng nồng độ DNA HPV trong bản mẫu là $1,14 \times 10^8$ copies/ml (Hãng Amplisens cung cấp), tiến hành pha loãng mẫu theo bậc 10 và cho chạy phản ứng PCR cho từng nồng độ. Sử dụng dây DNA này làm khuôn và tiến hành thực hiện phản ứng PCR, Real-time PCR theo đặc điểm của từng bộ kit, chúng tôi thu được kết quả như sau:

Bảng 3. Kết quả xác định giới hạn phát hiện vi sinh vật

Tên mẫu	Nồng độ (copies/ml)	Giới hạn phát hiện vi sinh vật			
		HPV Amp-genotype	HPV Amp-screen	HPV Genotype RDB	HPV PCR plus
HPV-K1	$1,14 \cdot 10^8$	+	+	+	+
HPV-K1 ⁻¹	$1,14 \cdot 10^7$	+	+	+	+
HPV-K1 ⁻²	$1,14 \cdot 10^6$	+	+	+	+
HPV-K1 ⁻³	$1,14 \cdot 10^5$	+	+	+	+
HPV-K1 ⁻⁴	$1,14 \cdot 10^4$	+	+	-	-
HPV-K1 ⁻⁵	$1,14 \cdot 10^3$	+	-	-	-
HPV-K1 ⁻⁶	$1,14 \cdot 10^2$	-	-	-	-

Ghi chú: + : Dương tính; - : Âm tính; Ct: Chu kỳ ngưỡng

Giới hạn phát hiện nhỏ nhất của phản ứng PCR của bộ kit HPV Amp-genotype là $1,14 \cdot 10^3$ copies/ml, tương đương 5 bản sao/ phản ứng (vì trong phản ứng real-time PCR, chúng tôi sử dụng 5 μ l DNA khuôn trong 1 phản ứng). Tương tự, giới hạn phát hiện của kit HPV Amp-screen là $1,14 \cdot 10^4$ copies/ml; của kit HPV Genotype RDB là $1,14 \cdot 10^5$ copies/ml và của bộ kit HPV PCR plus là $1,14 \cdot 10^5$ copies/ml.



Hình 1A: Đường biểu diễn đường cong khuếch đại đặc trưng của phản ứng realtime-PCR của kit HPV Amp-genotype và HPV Amp-screen; **1B:** Ảnh điện di kết quả PCR kiểm tra độ nhạy của mẫu chuẩn của Kit HPV PCR plus (M: Thang DNA chuẩn 1kb, 1: mẫu HPV-K1, 2: HPV-K1⁻¹, 3: HPV-K1⁻², 4: HPV-K1⁻³, 5: HPV-K1⁻⁴, 6: HPV-K1⁻⁵, 7: HPV-K1⁻⁶); **1C:** Ảnh kết quả sau khi lai phân tử của các mẫu chuẩn của kit HPV Genotype RDB

3.2. Kết quả phát hiện nhanh HPV từ các mẫu lâm sàng của các bộ thử nghiệm

Bảng 4. Kết quả phát hiện nhanh HPV từ 67 mẫu bệnh phẩm của 4 bộ kit

Kit Kết quả	HPV Amp- genotype		HPV Amp- screen		HPV Genotype RDB		HPV PCR plus	
	n	%	n	%	n	%	N	%
Âm tính	41	61,2	43	64,2	50	74,6	48	71,6
Dương tính	26	38,8	24	35,8	17	25,4	19	28,4
Dương tính đơn type	18		21		11		ND	
Đồng nhiễm	8		3		6		ND	
2 type/2 nhóm type	4		3		5		ND	
3 type	3		0		1		ND	
4 type	1		0		0		ND	

Ghi chú: ND: Not done (không thực hiện).

Kit HPV Amp-genotype phát hiện được 26/67 mẫu dương với 12 type hrHPV (high-risk HPV - type HPV nguy cơ cao) chiếm 38,8%; 41/67 mẫu âm tính, chiếm 61,2%. Tỷ lệ mẫu dương tính được phát hiện bằng kit này cao hơn các kit HPV Amp-screen (35,8%), HPV Genotype RDB (25,4 %), HPV PCR plus (28,4%). Trong số 26 mẫu dương tính với 12 type hrHPV được phát hiện bằng kit HPV Amp-genotype, có 18 mẫu dương tính với 1 type hrHPV và 8 mẫu đồng nhiễm từ 2 type hrHPV trở lên, trong đó có 4 mẫu đồng nhiễm 2 type, 2 mẫu đồng nhiễm 3 type, 1 mẫu đồng nhiễm 4 type. Trong khi đó bộ kit HPV Genotype RDB chỉ phát hiện được 11 mẫu dương tính đơn type HPV, 6 mẫu đồng nhiễm từ 2 type HPV trở lên, trong đó có 5 mẫu đồng nhiễm 2 type HPV, 1 mẫu đồng nhiễm 3 type HPV. Tuy số lượng mẫu thử nghiệm còn hạn chế nhưng kết quả cho thấy ưu điểm về độ nhạy và khả năng phát hiện đồng nhiễm các type HPV của bộ kit HPV Amp-genotype trội hơn so với HPV Genotype RDB và HPV PCR plus.

3.3. Kết quả xác định sự tương đồng giữa các bộ kit

Bảng 5. Bảng kết quả sự phù hợp giữa các bộ kit

Kit		HPV Amp-genotype				
		+	-	% tương đồng	Hệ số K	Giá trị P
HPV Amp-screen	+	21	3	88,09%	0,745	< 0,05
	-	5	38			
HPV Genotype RDB	+	17	0	86,6%	0,698	< 0,05
	-	9	41			
PCR plus	+	19	0	89,55%	0,734	< 0,05
	-	7	41			

Ghi chú: + : Dương tính; - : Âm tính

Bộ kit HPV Amp- genotype và kit HPV PCR plus có tỷ lệ tương đồng cao nhất 89,55%, tuy nhiên tỷ lệ tương đồng dương tính so với bộ Kit HPV Amp-screen lại cao nhất (21 mẫu). Kit HPV Amp-genotype có chỉ số tương quan tương đối tốt so với các bộ kit đối chứng ($0,6 < K < 0,8$), mối tương quan giữa bộ kit HPV Amp-genotype với HPV Amp-screen là cao nhất so với các bộ kit còn lại ($p < 0,05$). Các báo cáo về các bộ thử nghiệm phát hiện và định type HPV có chỉ số K về sự phù hợp giữa các bộ kit có độ tương quan khá rộng từ 0,68 [7], 0.8088, 0.8982, 0.8745 [7]. Sự khác biệt này có thể do khi một mẫu bệnh phẩm đồng nhiễm nhiều type có thể xảy ra sự cạnh tranh lẫn nhau giữa các type trong quá trình phản ứng PCR xảy ra [17].

4. KẾT LUẬN

1. Bộ kit AmpliSens[®] HPV HCR genotype-FRT PCR có độ nhạy, độ đặc hiệu 100%, giới hạn phát hiện $1,14.10^3$ copies/ml;

2. Tỷ lệ phát hiện HPV trên 67 mẫu lâm sàng dịch phết CTC bằng bộ kit AmpliSens[®] HPV HCR genotype-FRT PCR là 26/67 mẫu dương tính, chiếm tỉ lệ 38,8 %. Trong số 26 mẫu dương tính với HPV có 18 mẫu dương tính với HPV type 1 và 8 mẫu đồng nhiễm từ 2 type hrHPV trở lên, trong đó có 4 mẫu đồng nhiễm 2 type, 2 mẫu đồng nhiễm 3 type, 1 mẫu đồng nhiễm 4 type.

3. Bộ kit AmpliSens[®] HPV HCR genotype-FRT PCR và kit LightPower iVAHPV PCR Plus có tỉ lệ tương đồng cao nhất 89,55%, tuy nhiên tỉ lệ tương đồng dương tính so với bộ AmpliSens[®] HPV HCR screen-titre-FRT PCR 4x lại cao nhất (21 mẫu). Hệ số tương quan K giữa bộ kit AmpliSens[®] HPV HCR genotype-FRT PCR với các kit AmpliSens[®] HPV HCR screen-titre-FRT PCR 4x, LightPower HPV Genotype PCR-RDB và LightPower iVAHPV PCR Plus lần lượt là 0,745-0,698-0,734.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Altman D. G., Bland J. M., *Diagnostic tests. 1: Sensitivity and specificity*, BMJ, 1994, **308**(6943):1552.
2. AmpliSens[®] HPV HCR genotype-FRT PCR kit Instruction Manual, Federal State Institution of Science Central Research Institute of Epidemiology
3. Bouvard V., Baan R., Straif K., Grosse Y., Secretan B., El Ghissassi F., *A review of human carcinogens-Part B: biological agents*, Lancet Oncol, 2009, **10**, p.321-2.
4. Chung H. S., Lee M., *Comparison of the AdvanSure HPV GenoBlot assay with the INNO-LiPA HPV Genotyping assay for human papillomavirus genotyping*. Journal of Clinical Virology, 2014, **60**, p.34-38.
5. Gravitt P. E., Coutlee F., Iftner T., Sellors J. W., Quint W. G., Wheeler C. M., *New technologies in cervical cancer screening*, Vaccine, 2008, **26**(10):42-52.
6. HPV resources [online database]. World Health Organization <http://www.who.int/nuvi/hpv/resources/en/index.htm/>; 2013 [accessed 17.07.13].
7. Huang S. L., Chao A., Hsueh S., Chao F. Y., Huang C. C., Yang J., Lin C. Y., Yan C. C., Chou H. H., Huang K. G., Huang H. J., Wu T. L., Tseng M. J., Qiu J. T., Lin C. T., Chang T. C., Lai C. H., *Comparison between the Hybrid Capture II Test and an SPF1/GP6+ PCR-Based Assay for Detection of Human Papillomavirus DNA in Cervical Swab Samples*, Journal of Clinical Microbiology, 2006, **44**(5):1733-1739.

8. Hwang Y., Lee M. D., *Comparison of the AdvanSure Human Papillomavirus Screening Real-Time PCR, the Abbott RealTime High Risk Human Papillomavirus Test, and the Hybrid Capture Human Papillomavirus DNA Test for the Detection of Human Papillomavirus*, Ann Lab Med, 2012, **32**, p.201-205.
9. Krane J. F., Granter S. R., Trask C. E. et al., *Papanicolaou smear sensitivity for the detection of adenocarcinoma of the cervix: a study of 49 cases*, Cancer, 2001, **93**, p.8-15.
10. Li N., Franceschi S., Howell-Jones R., Snijders P. J., Clifford G. M., *Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: variation by geographical region, histological type and year of publication*, Int J Cancer, 2011, **128**, p.927-35.
11. Munoz N., Bosch F. X., De Sanjose S., Herrero R., Castlsague X., Shah K. V. et al., *Epidemiologic classification of human papillomavirus types associates with-cervical cancer*, N Engl J Med, 2003, **348**, p.518-27.
12. Neerja B., MBBS, MD, FiCOG, FNAMS, *Human papillomavirus deoxyribonucleic acid testing in developed countries*, Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology, 2012, **26**, p.209-220.
13. Poljak M., Kocjan B. J., *Commercially available assays for multiplex detection of alpha human papillomaviruses*. Expert Rev Anti Infect Ther, 2010, **8**, p.1139-62.
14. Sasieni P. D., Cuzick J. & Lynch-Farmery E., *Estimating the efficacy of screening by auditing smear histories of women with and without cervical cancer*, Br J Cancer, 1996, **73**, p.1001-1005.
15. Schiffman M., Clifford G., Buonaguro F. M., *Classification of weakly carcinogenic human papillomavirus types: addressing the limits of epidemiology at the borderline*, Infect Agent Cancer, 2009, p.4:8.
16. Tucker R. A., Johnson P. R., Reeves W. C., Icenogle J. P., *Using the polymerase chain reaction to genotype human papillomavirus DNAs samples containing multiple HPVs may produce inaccurate results*, J Virol Methods, 1993, **43**, p.321-333.
17. Zielinski G. D., Snijders P. J., Rozendaal L. et al., *The presence of high-risk HPV combined with specific p53 and p16INK4a expression patterns points to high-risk HPV as the main causative agent for adenocarcinoma in situ and adenocarcinoma of the cervix*, J Pathol, 2003, 201:535-543.

SUMMARY

EVALUATION OF A AMPLISENS® HPV HCR GENOTYPE-FRT FOR HUMAN PAPILLOMAVIRUS DETECTION AND GENOTYPING CAUSING CERVICAL CANCER

Persistent infection with oncogenic human papillomavirus (HPV) genotypes has been shown to be necessary for the development of cervical cancer. The recently developed AMPLISENS® HPV HCR GENOTYPE-FRT assay (HPV Amp-genotype assay) is based on simultaneous PCR (multiplex - PCR) and Real-time to detect 12 HPV types (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) and β -globin gene, used as internal control, in 4 tubes. Each HPV type is registered on its channel, that allows not only to detect the presence of HPV DNA, but also to differentiate the virus genotype. The aim of this study was to evaluate the performance of the HPV Amp-genotype assay for detecting HPV genotypes and comparing the results with those obtained in combination of the AmpliSens® HPV HCR screen-titre-FRT PCR 4x (HPV Amp-screen assay), LightPower HPV Genotype PCR-HPV GENOTYPE RDB (HPV GENOTYPE RDB assay) and Kit LightPower iVAHPV PCR Plus assay (PCR plus assay). We found high similarity between HPV Amp-genotype assay and others (88,09% - 86,6%- 89,55%; Cohen's kappa coefficients = 0,745- 0,698-0,734). The limit of detection of HPV Amp-genotype assay was $1,14.10^3$ copies/ml, it was more sensitive than other assays. In conclusion, the HPV Amp-genotype assay is an alternative test for HPV genotyping in clinical laboratories.

Từ khóa: Human papillomavirus (HPV), Genotyping, Real-time PCR Reverse Dot-blot hybridization, cervical cancer.

Nhận bài ngày 08 tháng 12 năm 2014

Hoàn thiện ngày 07 tháng 5 năm 2015

Chi nhánh Phía Nam, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

Email: tuyetbt84@gmail.com