



## Detección de Virus Papiloma Humano por Tecnología DNA Flow



6 min.



El cáncer cervicouterino (CCU) es el más frecuente en mujeres de los países en desarrollo. Es causado por la infección persistente por el virus del papiloma humano (VPH) siendo los genotipos 16 y 18 los oncogénicos y responsables de aproximadamente un 70% de los CCU. Con la implementación de vacunas profilácticas contra el VPH se espera una reducción importante en la incidencia del cáncer cervical. Sin embargo el test para VPH será necesario para el seguimiento de lesiones causadas por genotipos no incluidos en las vacunas y para estudiar su desarrollo en las lesiones cervicales. En el presente trabajo la Bioq. Raquel Cino de BioSystems S.A. nos presenta el kit HPV DIRECT FLOW CHIP, un sistema nuevo que permite la detección rápida del virus y el genotipado de 36 tipos de alto y bajo riesgo. Este kit permitirá además un adecuado screening de poblaciones no vacunadas y estudios epidemiológicos.



Bioq. Raquel Cino  
BioSystems S.A.



Email: [cinoraq@biosystems.com.ar](mailto:cinoraq@biosystems.com.ar)  
Web: [www.biosystems.com.ar](http://www.biosystems.com.ar)



La infección persistente por HPV (Virus Papiloma Humano) es el agente causal de lesiones epiteliales escamosas benignas y malignas que pueden llevar a cáncer cervical.

HPV 16 y 18 son responsables del 70% de los casos de este tipo de cáncer en el mundo.

Con la implementación de vacunas profilácticas contra HPV 16 y 18 (Cervarix-GlaxoSmithKline) o HPV 6, 11, 16 y 18 (Gardasil-Sanofi Pasteur MSD) se espera una reducción importante en la incidencia de cáncer cervical. La protección efectiva contra HPV 16 y 18 y posible protección cruzada contra otros genotipos modificará la prevalencia de genotipos de HPV en las poblaciones vacunadas.

Sin embargo el test para HPV será requerido para el seguimiento de lesiones causadas por genotipos no incluidos en las vacunas y para estudiar su desarrollo en las lesiones cervicales.

La genotipificación de HPV también será necesaria para un adecuado screening de poblaciones no vacunadas y estudios epidemiológicos.

Los tipos de muestras utilizados para llevar a cabo la detección de HPV son hisopados cervicales, citologías líquidas y biopsias de tejidos incluidos en parafina (FFPE).

La detección de HPV en muestras FFPE no se lleva a cabo en forma eficiente debido a la fragmentación parcial del DNA en los tejidos embebidos, resultando en un porcentaje más bajo de detección y menos cabando la identificación de infecciones múltiples.

El kit HPV DIRECT FLOW CHIP (MASTER DIAGNOSTICA-ESPAÑA), fue lanzado al mercado como un nuevo sistema para genotipado rápido y sensible de HPV:

El sistema permite la detección del virus HPV y el genotipado de 36 tipos de HPV de alto y bajo riesgo. Se basa en la amplificación de un fragmento de la región vírica L1 mediante PCR, seguido de hibridación en membrana con sondas de DNA específicas por dot blot reverso de los productos amplificados mediante la tecnología DNA-Flow: Permite una unión rápida entre el producto de PCR y su sonda específica en un ambiente tridimensional poroso en contraste con la hibridación en superficie convencional.

Los amplicones biotinilados generados tras la PCR se hibridan en membranas que contienen sondas específicas para el genotipado de HPV, así como una sonda genérica universal para screening de HPV y sondas de control de amplificación e hibridación.

Una vez producida la unión entre los amplicones específicos y sus sondas correspondientes la señal se visualiza mediante una reacción inmunoenzimática colorimétrica con Estreptavidina-FAL y un cromógeno que genera precipitados insolubles en la membrana en aquellas posiciones en las que ha habido hibridación.

La formulación específica de la mix de PCR y la polimerasa del kit permite que la PCR sea llevada a cabo dentro de los 60 minutos. Esto incluye la amplificación de un fragmento de 268 bp en el gen humano de la B-globina (Control Interno) y un fragmento de 150 bp de la región L1 del HPV usando los primers consenso GP5+/GP6+.

La hibridación por dot blot reverso y la lectura de los resultados son llevados automáticamente en el sistema e-BRID, lo cual toma 90 minutos completar un set de 15

muestras.



Aunque se puede utilizar DNA puro como material de partida para la amplificación, este sistema parte de una PCR Directa de extracto crudo de células a partir de hisopado cervical, citología líquida o secciones de muestras FFPE como templates para la amplificación, excluyendo la necesidad de purificación previa de DNA.

La sensibilidad y especificidad analítica del HPV Direct Flow Chip Kit fueron certificadas después de la inscripción en el Panel de competencia de la WHO 2011: los resultados del programa de calidad demostraron que el kit puede detectar específicamente 5 UI de HPV 16 y 18 y 50 GE de HPV 6, 11, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 58, 59, 66, 68a y 68b en configuraciones de infección única y múltiples.

A diferencia de otros sistemas, en el cual el fragmento amplificado del control interno es más pequeño que al amplicón HPV, el HPV Direct Flow Chip está basado en la amplificación de 268 bp del control B-Globina y 150 bp de HPV. Dado que el DNA tiende a estar parcialmente fragmentado en muestras FFPE, la correcta amplificación del

fragmento del control interno demuestra la viabilidad de la muestra al amplificar un fragmento de 150 bp de HPV con el sistema HPV Direct Flow Chip. Esta formulación de PCR reduce la probabilidad de un falso resultado negativo, porque el HPV será amplificado más eficientemente que el fragmento de la B-Globina, por lo tanto una señal positiva para B-Globina y señal negativa para HPV indicará un verdadero resultado negativo.

Además del diseño de la mix de PCR, la alta sensibilidad del test en muestras FFPE puede ser atribuidas al pequeño tamaño del amplicón HPV.



**BioSystems**

**Illumina lanza el nuevo equipo de Secuenciación de Nueva Generación NextSeq 500.**

**Sistema integrado (on-instrument) para generación automática de clusters de ADN por amplificación en puente, secuenciación y análisis primario y secundario de los datos.**

- Capacidad de generación de datos actual de 120 Gb en modo High Output y 40 Gb en MidOutput.
- Secuenciación de un genoma humano (2 x 150 pb) en 30 horas y 1 exoma (2 x 75 pb) en 18 horas.
- Lecturas paired-end con calidad esperada de Q30 (1 error cada 1000 bases) para más del 75% de las bases leídas durante la secuenciación de fragmentos de 150 pb.
- Servidor para almacenamiento de datos provisto por Illumina (BaseSpace).



[www.biosystems.com.ar](http://www.biosystems.com.ar)