مجله دنیای میکروب‌ها
سال نهم شماره سوم (پیاپی ۲۸) پاییز ۱۳۹۵
صفحات ۲۱۴-۲۰۸

Original Article

مقایسه روش های پاپ اسمیر و واکنش زنجیره ای پلی مراز چندگانه به منظور تشخیص *پاپیلوما* ویروس انسانی جدا شده از زنان دارای زخم سرویکس

فاطمه زندنیا[۱]، عباس دوستی*[۲]، عباس مختاری فارسانی[۳]، محمد چهل گردی[۳]، شهرزاد سلیمانی[۱]

[۱] کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، [۲] دانشیار، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، [۳] کارشناس، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی.

چکیده

سابقه و هدف: ویروس HPV پر خطر عامل اصلی ابتلا به سرطان دهانه رحم در زنان است. تشخیص سریع و درمان به موقع آن می تواند بسیار کمک کننده باشد. با توجه به اینکه شناسایی این ویروس از طریق روش های سنتی مانند پاپ اسمیر ناکارآمدی های مخصوص به خود را دارد، این مطالعه با هدف ارزیابی عفونت HPV های پرخطر در زنان دارای زخم سرویکس با روش Multiplex-PCR و نیز کارآمدی این روش در مقایسه با روش پاپ اسمیر انجام شد.

مواد و روش ها: این مطالعه مقطعی-توصیفی بر روی ۵۰ نمونه زخم سرویکس از افراد مراجعه کننده به بیمارستان خانواده اصفهان انجام گرفت. پس از استخراج و تخلیص DNA ژنومی، پنج نوع پرخطر از ویروس HPV به کمک روش Multiplex-PCR شناسایی شدند. در نهایت مقایسه ای بین نتایج به دست آمده از روش مولکولی و روش پاپ اسمیر انجام گرفت.

یافته ها: نتایج نشان دادند که از ۵۰ نمونه مورد مطالعه ۴۱ مورد به تیپ های مختلف ویروس HPV آلوده بودند. تمامی ۴۱ مورد با روش Multiplex-PCR مثبت تشخیص داده شدند. درحالی که در روش پاپ اسمیر تنها ۱۴ مورد آلودگی گزارش گردید.

نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان می دهد که روش پاپ اسمیر دارای درصد خطای بسیار بالایی در تشخیص ویروس HPV می باشد. اما روش Multiplex-PCR در تشخیص و غربالگری این ویروس بسیار اختصاصی، سریع و مقرون به صرفه عمل می نماید.

واژگان کلیدی: ویروس HPV، سرطان دهانه رحم، پاپ اسمیر، Multiplex-PCR.

دریافت مقاله: مهر ماه ۹۴ پذیرش برای چاپ: آذر ماه ۹۴

مقدمه

پاپیلوما ویروس ها (HPVs) عامل اصلی ابتلا به سرطان دهانه رحم می باشند که در ۱/۹۹ درصد از سرطان های پوستی مربوط به سلول های سنگفرشی و ۹۴ درصد از آدنوکارسینوماهای آن دیده شده است (۱). عفونت مقاوم با ابتلای به HPV نقش اصلی را در ایجاد بدخیمی این سرطان دارد (۲). پاپیلوما ویروس یک پاپوویریده پوشش دار است که دارای DNA حلقوی حدود ۸۰۰۰ جفت بازی می باشد. پوشش پاپیلوما ویروس از دو پروتئین L1 و L2 (پروتئین های دیررس) ویروس تشکیل شده است (۳). همچنین، ژنوم ویروس توانایی کد کردن شش پروتئین به نام پروتئین های زودرس را دارا می باشد (E1, E2, E4, E5, E6, E7).

این پروتئین ها برای همانند سازی و سرهم کردن اجزای ویروس ضروری هستند. ژنوم ویروس یک ناحیه تنظیمی URR یا منطقه تنظیمی بالادست شامل ۱۰۰۰ جفت بازی دارد که هیچ پروتئینی کد نمی کند و بین دو گروه ژن های دیررس و زودرس قرار دارد. URR شامل عناصر نزدیک است که برای تنظیم بیان ژن و بسته بندی اجزای ویروس لازم می باشد (۴). تاکنون بیش از ۲۰۰ تیپ از ویروس HPV شناسایی شده است

*) آدرس برای مکاتبه: شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی.
تلفن: ۰۹۱۳۳۸۳۸۸۳۰ پست الکترونیک: abbasdoosti@yahoo.com

که حدود ٤٠ تیپ آن قادر به ایجاد عفونت در دستگاه تناسلی می باشند (٥). HPV را می توان بر اساس پتانسیل انکوژنی به دو گروه کم خطر و پرخطر تقسیم بندی نمود. ژنوتیپ های پرخطر شایع شامل تیپ های ١٦، ١٨، ٣١، ٣٣ و ٤٥ می باشند. طبق مطالعات انجام شده تنها دو تیپ ١٦ و ١٨ از این ویروس عامل ٧٠ درصد از سرطان های دهانه رحم (سرویکس) می باشند (٦). در حالی که دو تیپ ٦ و ١١ به راحتی از زگیل های تناسلی قابل جداسازی بوده و کم خطر محسوب می شوند (٧).

تحقیقات نشان می دهد که حدود ٢ تا ٢٠ درصد زنان در هر زمانی به ویروس HPV آلوده هستند. از آنجایی که سرطان سرویکس دومین سرطان مشترک بین زنان است، سالانه بیش از ٤٠٠٠٠٠ زن به آن مبتلا می شوند و حدود نیمی از موارد به مرگ ختم می شوند (٨ و ٩).

اگرچه مرگ و میر ناشی از این سرطان به کمک روش های غربالگری و واکسن به طور چشمگیری کاهش یافته است، اما هنوز آمار فوت بالایی دارد (١٠ و ١١). به عنوان نمونه تنها در سال ٢٠٠٨، تعداد ٥٣٠٠٠٠ مورد جدید گزارش شد که ٢٠٠٠٠٠ مورد از آنها منجر به مرگ گردید (١٢). دلیل اصلی مرگ و میر، ریسک فاکتورهایی مانند مصرف دخانیات مانند سیگار، مصرف بی رویه الکل، نقص تغذیه ای به خصوص در مصرف میوه و سبزی، مصرف طولانی مدت قرص های ضدبارداری، چند پارتنری بودن (شریک های جنسی متعدد)، نداشتن ختنه، هم جنسگرایی، موقعیت اجتماعی پایین و ابتلا به عفونت هایی مانند HIV و سایر بیماری های مقاربتی مانند *هرپس سیمپلکس* (*Herpes simplex*) و *کوندیلوما تراکوماتیس* (*Condyloma trachomatis*) می باشد (١٣ و ١٤).

در سال های اخیر غربالگری سرطان دهانه رحم بیشتر بر پایه روش سرولوژی پاپ اسمیر بوده و تاثیر به سزایی در کاهش ابتلا به سرطان دهانه رحم داشته است. با این وجود، حساسیت این روش به شدت به مهارت فرد نمونه گیرنده و پاتولوژیست بررسی کننده بستگی دارد (٨ و ١٥).

Multiplex–PCR یک نوع از PCR می باشد که چند توالی هدف می توانند به طور همزمان تکثیر نمایند. از آنجایی که واکنش زنجیره ای پلی مرازی (PCR) دارای پتانسیل بالایی برای غلبه بر محدودیت های پاپ اسمیر می باشد، هدف از این مطالعه مقایسه دو روش پاپ اسمیر و Multiplex–PCR برای تشخیص ویروس HPV جدا شده از زنان دارای زخم سرویکس در اصفهان بود.

مواد و روش ها

الف) جمع آوری نمونه: این مطالعه مقطعی–توصیفی بر روی ٥٠ نمونه زخم سرویکس از زنان ٢٠ تا ٥٠ ساله مراجعه کننده به بیمارستان خانواده اصفهان انجام شد. تمامی بیماران با رضایت کامل بعد از تکمیل پرسشنامه در مطالعه شرکت نمودند. نمونه ها با دقت با استفاده از سوآپ های استریل از ترشحات واژن و سرویکس هر بیمار در شرایط استریل تهیه شدند. هر نمونه به سرعت روی سطح لام پخش و به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال گردید. سپس هر اسپاچولا به یک لوله استریل حاوی یک میلی لیتر سرم فیزیولوژی منتقل و تا زمان شروع آزمایشات مولکولی در دمای ٢٠- °C نگهداری شد.

ب) استخراج DNA و روش Multiplex-PCR: به منظور

جدول ١: توالی پرایمرهای استفاده شده در واکنش Multiplex-PCR.

نام پرایمر	اندازه (bp)		توالی نوکلئوتیدی	شماره دسترسی
HPV 16 (L1)	١٩٧	F	5'-GCAGTTGGACATCCCTATTTTC -3'	FJ610152
		R	5'-CGACCTACCTCAACACCTACACAG -3'	
HPV 18 (L1)	٢٤٧	F	5'-TTGGAGAGGGAGAATACACACAG -3'	KC470213
		R	5'-TTCCTCAACATGTCTGCTATACTG -3'	
HPV 31 (L1)	٣٤٦	F	5'-TGGATTTTACTGCTTTACAAGACAC-3'	J04353
		R	5'-ATACCATTATTGTGTCCCTGAGC-3'	
HPV 33 (L1)	١٥٣	F	5'-GTAAAGGTGTTGCTTGTACTAATGC-3'	M12732
		R	5'-TAGGAACATCACTTTTATTAGCCTG-3'	
HPV 45 (L1)	٤٦٧	F	5'-ATGTGTAGGTATGGAAATTGGTCG-3'	KC470260
		R	5'-CAAACAGTTGTTCACGGCGTAG-3'	

استخراج DNA ویروس از کیت استخراج DNA (شرکت سیناژن، ایران) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. برای بررسی کیفیت DNA استخراج شده، مقدار ۲ میکرولیتر از هر نمونه بر روی ژل آگاروز ۲ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

به منظور تشخیص پنج تیپ شایع و پرخطر ویروس HPV پرایمرهای اختصاصی به کمک نرم افزار Gene Runner (Version 3.01) طراحی گردید (جدول ۱). واکنش Multiplex-PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر شامل ۵۰ نانوگرم DNA الگو، ٦ میلی مولار $MgCl_2$، ۵۰ میلی مولار KCL، ۱۰ میلی مولار Tris-HCl (pH 8.5)، ۸۰۰ میکرولیتر dNTPMix، ۵۰ پیکومول از هر پرایمر و ۵ واحد آنزیم DNA پلیمراز Smar Taq (شرکت سیناژن ایران) انجام گرفت.

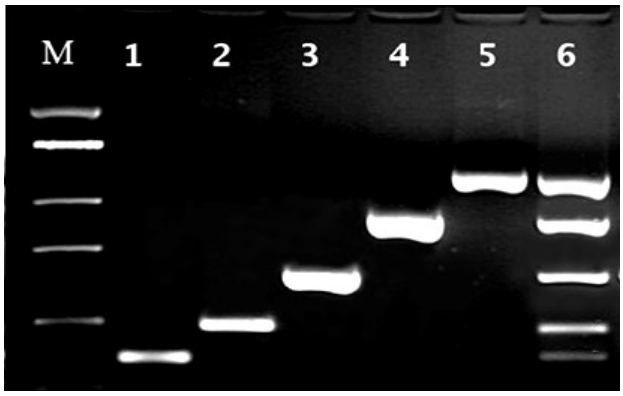
واکنش Multiplex-PCR با استفاده از دستگاه مستر سایکلر (Mastercycler Gradient, Eppendorf) ساخت کشور آلمان با شرایط ۱۰ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹٤ °C و در ادامه ٤۰ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹٤ °C به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ٦۱ °C به مدت ۱ دقیقه، گسترش در دمای ۷۲ °C به مدت ۱ دقیقه و گسترش نهایی در دمای ۷۲ °C به مدت ۷ دقیقه انجام شد. محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی اتیدیوم برماید الکتروفورز شدند و به وسیله دستگاه ترانس لومیناتور مورد بررسی قرار گرفتند.

ج) *آنالیز آماری:* به منظور بررسی و مقایسه نتایج به دست آمده از نرم افزارهای MS Excel 2007 و نسخه شانزدهم SPSS استفاده شد.

یافته ها

در این مطالعه از ۵۰ نمونه مورد بررسی تعداد ٤۱ مورد (۸۱ درصد) از نظر وجود ویروس HPV مثبت گزارش شدند. این در حالی است که در روش پاپ اسمیر تنها ١٤ مورد (۳۰ درصد) مثبت بودند و بقیه موارد به صورت نرمال با کمی التهاب گزارش شده بودند.

در واقع ۲۷ نفر دارای ویروس HPV بودند که در گزارش سیتولوژی نادیده گرفته شدند. آنالیز آماری نشان داد که روش



شکل ۱: الکتروفورز محصولات تکثیر شده با روش Multiplex-PCR برای تشخیص تیپ های مختلف ویروس HPV . M) مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱) تیپ HPV33 (تکثیر قطعه ۱۵۳ جفت بازی)، ستون ۲) تیپ HPV16 (تکثیر قطعه ۱۹۷ جفت بازی)، ستون ۳) تیپ HPV18 (تکثیر قطعه ۲٤۷ جفت بازی)، ستون ٤) تیپ HPV31 (تکثیر قطعه ۳٤٦ جفت بازی)، ستون ۵) تیپ HPV45 (تکثیر قطعه ٤٦۷ جفت بازی) و ستون ٦) تمامی تیپ های مورد بررسی در مطالعه.

پاپ اسمیر بیش از ۵۰ درصد نتایج منفی کاذب دارد.

در پژوهش حاضر با استفاده از روش Multiplex-PCR مشخص گردید که بیشترین فراوانی ویروس با ٦۳/٤۱ درصد (۲٦ مورد) مربوط به تیپ HPV-16 می باشد.

در ادامه تیپ های HPV-18، HPV-31، HPV-45 و HPV-33 به ترتیب با فراوانی ۲٤/۳۹، ٤/۸۸، ٤/۸۸ و ۲/٤٤ درصد قرار داشتند. همچنین در ۱۵ نمونه آلودگی با دو یا بیشتر از دو تیپ از ویروس HPV مشاهده گردید (شکل ۱).

بحث

سرطان دهانه رحم یکی از شایع ترین سرطان هایی است که به صورت مستقیم و یا غیرمستقیم ریشه در عفونت ویروسی دارد. همچنین با وجود تمام تلاش ها در زمینه غربالگری و واکسن هنوز دومین سرطان شایع بین زنان دنیا می باشد. از طرفی ابتلای به این عفونت شایع ترین عفونت منتقله جنسی در سراسر دنیاست (١٦).

بنابراین به منظور جبران ناکارآمدی روش پاپ اسمیر در پیشگویی بدخیمی، روش های مولکولی را می توان یک جایگزین قوی در نظر گرفت. به طوری که حتی قادر به

شناسایی تیپ ویروس نیز می باشند. با توجه به این واقعیت که تیپ های ۱۶ و ۱۸ این ویروس عامل ۷۰ درصد از بدخیمی ها و تهاجمی تر از بقیه تیپ های ویروس است، از این رو روش مولکولی می تواند پیشگویی دقیق تر، حساس تر و سریع تری داشته باشد و حتی می تواند در تصمیم گیری روش درمان با توجه به تیپ گزارش شده نیز مداخله نماید (۱۷).

هر چند این روش گران تر از روش سیتولوژی است، اما به دلیل تشخیص سریع تر و دقیق تر در درازمدت از نظر اقتصادی مقرون به صرفه تر بوده و قادر است جان تعداد زیادی از بیماران را با تشخیص به موقع نجات دهد. در مطالعه حاضر یک روش Multiplex-PCR برای تشخیص اختصاصی پنج تیپ شایع و پرخطر ویروس HPV با استفاده از پرایمرهای جدید توصیف شد.

نتایج نشان دادند که با استفاده از این روش و به کمک پرایمرهای طراحی شده در مطالعه حاضر حساسیت تشخیص این ویروس به طور قابل توجهی افزایش می یابد و همچنین مدت زمان تشخیص نیز کاهش می یابد. برخی از مطالعات در مورد مقایسه روش های مختلف در تشخیص ویروسHPV انجام شده اند. به عنوان نمونه، سانی جرس (Snijders) و همکاران در مطالعه ای به مقایسه روش های ساترن بلات و نورترن بلات با روش Multiplex-PCR پرداختند. اگرچه در هر دو روش نتایج مشابه و یکسانی به دست آمد، اما آنها اظهار داشتند که به دلیل هزینه بالا، روش های بلاتینگ مقرون به صرفه نمی باشد و استفاده از روش Multiplex-PCR بهتر و مقرون به صرفه تر می باشد (۱۸).

غیت (Gheit) و همکاران نیز در مطالعه ای به مقایسه دو روش Multiplex-PCR و ریزآرایه DNA (DNA Microarray) در تشخیص تیپ های مختلف HPV پرداختند. نتایج به دست آمده از هر دو روش یکسان گزارش گردید (۸). همچنین در مطالعه انجام شده توسط آگوستون (Agoston) و همکاران مقایسه ای بین دو روش FISH و Multiplex-PCR در تشخیص ویروس HPV انجام شد. نتایج به دست آمده از هر دو روش یکسان گزارش شد. همچنین میزان حساسیت روش Multiplex-PCR در تشخیص ویروس HPV بالای ۹۰ درصد تعیین گردید (۱۳). در مطالعه دیگری در خصوص میزان حساسیت روش Multiplex-PCR در تشخیص ویروس HPV حساسیت بالای ۸۰ درصد در استفاده از این روش گزارش شد (۱۲).

مطالعه ما و دیگر مطالعات انجام شده در خصوص استفاده از روش Multiplex-PCR برای تشخیص ویروس HPV نشان می دهند که استفاده از این روش همراه با پرایمر های مناسب مانند آنچه که در مطالعه حاضر طراحی و به کار گرفته شد، می تواند تاثیر بالقوه ای در تشخیص و غربالگری ویروس HPV داشته باشد. همچنین استفاده از این روش در مقایسه با روش هایی که از حساسیت یکسانی با روش Multiplex-PCR برخوردارند باعث تشخیص ارزانتر و سریع تر ویروس HPV می شود.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که روش پاپ اسمیر دارای اختصاصیت بسیار پایینی در تشخیص ویروس HPV در نمونه های سرویکس می باشد. به طوری که در این مطالعه روش پاپ اسمیر بیش از ۵۰ درصد نتایج منفی کاذب داشت.

این در صورتی است که روش Multiplex-PCR دارای اختصاصیت بسیار بالایی در تشخیص این ویروس بود. در نهایت استفاده از این روش به همراه پرایمرهای طراحی شده در مطالعه حاضر به منظور تشخیص ویروس HPV در نمونه های مخاطی دهانه رحم و همچنین انجام مطالعات اپیدمیولوژیک برای تعیین فراوانی تیپ های شایع و پرخطر ویروس HPV در نقاط مختلف جهان پیشنهاد می گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از همکاران مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Steenbergen RDM, Wilde JD, Wilting SM, Brink AATP, Snijders PJF, Meijer CJLM. HPV-mediated transformation of the anogenital tract. J Clin Virol. 2005; 32: 25-33.
2. Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS, Jayant K, Muwonge R, Budukh AM. HPV screening for cervical cancer in Rural India. New Engl J Med. 2009; 360: 1385-1394.
3. Yim EU, Park JS. The role of HPV E6 and E7 oncoproteins in HPV-associate cervical carcinogenesis. Cancer Res Treat. 2005; 37: 319-324.
4. Sharifzadeh A, Namazi MJ, Mokhtari-Farsani A, Doosti A. Bovine *Herpesvirus* type 5 in semen samples from bulls in Iran. Arch Virol. 2015; 160: 235-239.
5. Poljak M, Kovanda A, Kocjan BJ, Seme K, Jancar N, Vrtacnik-Bokal E. The Abbott Real Time high risk HPV test: comparative evaluation of analytical specificity and clinical sensitivity for cervical carcinoma and CIN 3 lesions with the Hybrid Capture 2 HPV DNA test. Acta Dermatoven APA. 2009; 18: 94-103.
6. Zekan J, Sirotkovic-Skerlev M, Skerlev S. Oncogenic aspects of HPV infections of the female genital tract. Intech. 2011; 11: 595-612.
7. Lacey CJN, Lowndes CM, Shah K. Burden and management of non-cancerous HPV-related conditions: HPV-6/11 disease. Vaccine. 2006; 24: 36-41.
8. Gheit, T, Landi S, Gemignani F, Snijders PJF, Vaccarella S, Franceschi S. Development of a sensitive and specific assay combining multiplex PCR and DNA microarray primer extension to detect high-risk mucosal uuman Papillomavirus types. J Clin Microbiol. 2006; 44: 2025-2031.
9. Vu LT, Bui D, Le HT. Prevalence of cervical infection with HPV type 16 and 18 in Vietnam: implications for vaccine campaign. BMC Cancer. 2013; 13: 53.
10. Ali H, Guy RJ, Wand H, Read TR, Regan DG, Grulich AE, Fairley CK, Donovan B. Decline in in-patient treatments of genital warts among young Australians following the national HPV vaccination program. BMC Infect Dis. 2013; 13: 140.
11. Chessona HW, Flagga EW, Koutskyb L, Hsuc K, Ungera ER, Shlayd JC, Kerndte P, Ghanemf KG, Zenilmanf JM, Hagenseeg M, Weinstocka H, Dattaa SD. Modelling the impact of quadrivalent HPV vaccination on the incidence of Pap test abnormalities in the United States. Vaccine. 2013; 31: 3019-3024.
12. Lee WC, Lee SY, Koo YJ, Kim TJ, Hur SY, Hong SR. Establishment of a Korea HPV cohort study. J Gynecol Oncol. 2013; 24: 60-65.
13. Agoston ES, Robinson SJ, Mehra KK, Birch C, Semmel D, Mirkovic J. Polymerase chain reaction detection of HPV in squamous carcinoma of the oropharynx. Anat Pathol. 2010; 134: 36-41.
14. Brankovic I, Verdonk P, Klinge I. Applying a gender lens on human papillomavirus infection: cervical cancer screening, HPV DNA testing, and HPV vaccination. Int J Equity Health. 2013; 12: 14.

15. Hubbard RA. Human papillomavirus testing methods. Arch Pathol Lab Med. 2003, 127(8): 940-945.

16. Karlsen F, Kalantari M, Jenkins A, Pettersen E, Kristensen G, Holm R. Use of multiple PCR primer sets for optimal detection of human papillomavirus. J Clin Microbiol. 1996; 34: 2095-2100.

17. Gravitt PE, Jamshidi R. Diagnosis and management of oncogenic cervical human papillomavirus infection. Infect Dis Clin North Am. 2005; 19: 439-458.

18. Snijders PJ, Heideman DA, Meijer CJ. Methods for HPV detection in exfoliated cell and tissue specimens. Apmis. 2010; 118: 520-528.

Journal of Microbial World
Volume 9, No. 3, September 2016

Original Article

Comparison of Pap smear and Multiplex-PCR methods for detection of Human Papillomavirus isolated from women with cervical lesions

Fateme Zandnia[1], Abbas Doosti[2], Abbas Mokhtari-Farsani[3], Mohammad Chehelgerdi[3], Shahrzad Soleimani[1]

[1]M.Sc, Biotechnology Research Center, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
[2]Associate Professor, Biotechnology Research Center, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
[3]B.Sc, Biotechnology Research Center, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Abstract

Background & Objectives: High-risk human papillomaviruses (HPV) is the main cause of cervical cancer in women. Early diagnosis and immediate treatment are very helpful. Detection of this infection by traditional methods, such as pap smear, are very inadequate. This study was aimed to evaluate the HPV infection in women with cervical wounds using Multiplex PCR, and to compare the efficiency of this methods with pap smear.

Materials & Methods: This cross-sectional study was carried out on 50 samples from patient with cervical wounds attended to Khanevadeh Hospital in Isfahan. After extraction and purification of DNA, 5 types of HPV viruses were identified using Multiplex PCR. At the end, the results of these technique were compared with the results obtained from Pop smear.

Results: Our results showed that 41 samples were positive to different types of HPV infection. All of these strains were detected using Multiplex PCR method. However, only 14 cases were reported positive by pap smear technique.

Conclusion: According to the results, pap smear has high error rate in HPV detection. But Multiplex PCR can provide a rapid, sensitive and affordable method for detection and screening of the viral infection.

Keywords: HPV, Cervical cancer, Pap smear, Multiplex PCR.

Correspondence to: Abbas Doosti

Tel: +98 9133838830

E-mail: abbasdoosti@yahoo.com

Journal of Microbial World 2016, 9(3): 208-214.