

NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO BỘ KIT PHÁT HIỆN VIRUS SV40 BẰNG PHƯƠNG PHÁP PCR LỒNG (NESTED PCR)

Nguyễn Thị Sinh¹, Nguyễn Tiến Minh¹, Dương Văn Cường¹, Nguyễn Thị Ngọc Diệp¹, Phạm Minh Tuấn¹, Bạch Thị Như Quỳnh¹, Nguyễn Thị Quý², Nguyễn Văn Mẫn², Lê Trần Bình¹, Đinh Duy Kháng¹

¹Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trung tâm Nghiên cứu, Sản xuất vắc xin và Sinh phẩm y tế, Bộ Y tế

TÓM TẮT

Virus SV40 (SV40) được phát hiện trong nhiều khối u khác nhau ở người. Nhiều nghiên cứu cho thấy, ước tính trên thế giới hiện có hàng chục triệu người bị lây nhiễm SV40 liên quan đến việc tiêm phòng vaccine phòng bệnh bại liệt sản xuất từ thận khi của những con khi nhiễm SV40. Nguy cơ lây nhiễm SV40 từ nguyên liệu ban đầu sản xuất vaccine theo công nghệ cũ đòi hỏi phải có các phương pháp phát hiện nhanh, nhạy sự tạp nhiễm của các virus này. Nhiều phương pháp phát hiện SV40 đã được phát triển, tuy nhiên các phương pháp này đều có những hạn chế như đòi hỏi nhiều thời gian, và độ nhạy thấp. Trong bài báo này, chúng tôi công bố kết quả nghiên cứu tạo bộ kit chẩn đoán nhanh SV40 bằng kỹ thuật PCR lồng (nested PCR). Sử dụng hai cặp mồi đặc hiệu cho gen kháng nguyên khối u lớn (large tumor antigen-LTG), chúng tôi đã phát triển thành công bộ kit chẩn đoán SV40 trên cơ sở khuếch đại đoạn gen LTG trong các mẫu sinh phẩm nghi nhiễm SV40. Trong số 4 mẫu huyết thanh khi đã được xác định là âm tính với SV40 bằng phương pháp gây nhiễm trên tế bào, với việc sử dụng bộ kit do chúng tôi tạo ra, đã có thêm 2 mẫu được phát hiện là dương tính với SV40. Công trình nghiên cứu này cũng phát hiện thấy sự khác biệt về độ nhạy của các phương pháp chẩn đoán có thể cho các kết quả khác nhau của cùng một nghiên cứu. Các kết quả nghiên cứu trên cho thấy, bộ kit đã chế tạo có độ nhạy cao, tiện lợi và dễ sử dụng trong việc phát hiện SV40.

Từ khóa: Kit phát hiện nhanh, SV40, phương pháp PCR lồng

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

SV40 (Simian Virus 40) được phát hiện vào năm 1960. Một năm sau đó, Eddy và đồng tác giả công bố về khả năng tạo khối u của SV40 ở các loài gặm nhấm (Eddy *et al.*, 1961). Ngay trong thời gian này đã có các thông báo về sự tạp nhiễm SV40 trong vaccine phòng bệnh bại liệt sản xuất từ tế bào thận của những con khi bị nhiễm SV40. Sau đó, nhiều công trình nghiên cứu phát hiện SV40 trong một số dạng ung thư ở người như ung thư tế bào biểu mô phổi, u não, u xương cũng được công bố (Carbone *et al.*, 1994; Jasani *et al.*, 2001). Một số nghiên cứu khác đã chỉ ra mối liên quan giữa SV40 và các type u lympho non-Hodgkin's (Shivapurkar *et al.*, 2002; Vilchez *et al.*, 2002). Ngay sau khi phát hiện ra SV40, vào những năm 1960, người ta đã khuyến cáo nên kiểm tra chặt chẽ vaccine phòng bệnh bại liệt sản xuất từ tế bào thận khi để tránh tạp nhiễm SV40. Vaccine phòng bệnh bại liệt sản xuất từ tế bào thận khi nếu được bất hoạt bằng formaldehyde có thể loại

bỏ 99,99% SV40 nếu vaccine bị tạp nhiễm (Hilleman, 1998). Tuy nhiên, tốt nhất là nên sản xuất vaccine từ nguồn nguyên liệu ban đầu không bị tạp nhiễm SV40. Đối với vaccine không bất hoạt như vaccine Sabin phòng bệnh qua đường uống, việc kiểm tra nguồn nguyên liệu ban đầu lại càng quan trọng hơn. Người ta cho rằng các phương pháp phát hiện trước đây có thể không đủ độ nhạy để phát hiện SV40 ở tất cả các lô vaccine, đặc biệt đối với các lô nhiễm SV40 ở dạng phát triển chậm (Rizzo *et al.*, 1999). Gần đây, Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) đã dùng kỹ thuật PCR có độ nhạy cao hơn các phương pháp trước đây để kiểm tra toàn bộ số lô vaccine bại liệt uống sản xuất từ năm 1972 đến 1996 (Honigsmann, Krause, 2000). Trong công trình này, chúng tôi đã nghiên cứu và chế tạo thành công bộ kit phát hiện SV40 bằng phương pháp PCR lồng (nested PCR) có độ nhạy cao và rất tiện lợi trong sử dụng nhằm phục vụ cho mục đích phát hiện SV40 trong nguyên liệu sản xuất vaccine từ khi cũng như trong các lô vaccine nghi nhiễm.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Phương pháp thiết kế các cặp mồi (primer)

Để tạo bộ Kit phát hiện SV40 bằng phương pháp PCR lồng, chúng tôi sử dụng hai cặp mồi sau:

Cặp thứ nhất do chúng tôi tự thiết kế dựa trên trình tự gen mã hoá cho kháng nguyên khối u lớn (large tumor antigen, LTG) theo Forsman và đồng tác giả (2004). Cặp mồi này có trình tự như sau:

SV40P20 5'- GTTTAGTTTCCTCTGCTTCTTCTGG -3';

SV40M46 5'- GGGTTGATTGCTACTGCTTCG -3'.

Cặp mồi thứ nhất tạo ra sản phẩm PCR với độ dài 742 bp.

Cặp mồi thứ hai theo công bố của Strickler và đồng tác giả (2001) có trình tự:

SV40-5: 5'- TAGATCCAACCTATGGAAC TGAT -3';

SV40-6: 5'- GGAAAGTCCTTGGGGTCTTCTACC -3'.

Cặp mồi này cũng bắt cặp đặc hiệu với gen mã hoá cho kháng nguyên LTG và tạo ra sản phẩm PCR có độ dài 173 cặp base (bp). Sản phẩm PCR khuếch đại với cặp mồi thứ nhất sẽ được sử dụng để làm khuôn cho phản ứng PCR vòng 2 khuếch đại nhờ cặp mồi số 2.

Tạo ống phản ứng chứa tất cả các thành phần PCR bằng phương pháp đông khô

Các ống phản ứng chứa đầy đủ các thành phần cần thiết cho phản ứng PCR như cặp mồi, dNTP, MgCl₂ ... ngoại trừ khuôn DNA được chuẩn bị ở dạng khô nhờ phương pháp đông khô (sử dụng máy Vertis 214991, Mỹ). Phương pháp này nâng cao độ bền của các thành phần phản ứng và giúp cho người sử dụng dễ vận chuyển và bảo quản sinh phẩm, cũng như giảm được các bước thao tác, tránh tối đa tạp nhiễm. Người sử dụng chỉ cần bổ sung nước khử ion vô trùng và khuôn DNA và tiến hành PCR.

Phương pháp tách chiết DNA

DNA được tách chiết theo phương pháp của Morelli vòng tác giả (2004). Quá trình tách chiết được tóm tắt như sau: Lấy 200 µl dịch tế bào (hoặc

huyết thanh) nhiễm SV40, sau đó bổ sung 350 µl dung dịch loại bỏ protein (600 mM NaCl, 60 mM Tris-HCl pH 8.0, 120 mM EDTA, 50 µl SDS 10%, và 5 µl proteinase K (2 mg/ml)) vào mẫu và ủ qua đêm ở nhiệt độ 55°C. Bổ sung 600 µl phenol:chloroform-isoamyl alcohol vào mẫu (theo tỷ lệ 1:1), ly tâm 10.000 vòng/phút trong thời gian 10 phút. Hút pha nổi sang ống Eppendorf mới. Chiết mẫu lại 1 lần với 600 µl dung dịch chloroform:isoamyl alcohol. Ly tâm, hút pha nổi (600 µl) sang ống Eppendorf mới. Bổ sung 60 µl NaOAc 3 M, pH = 5,2 và 600 µl Isopropanol, để ở nhiệt độ phòng 15 - 20 phút. Ly tâm 13.000 vòng/phút ở nhiệt độ 4°C khoảng 15 phút. Loại bỏ dịch nổi, thu cặn. Rửa cặn DNA với 600 µl ethanol 70%, ly tâm 13.000 vòng/phút/10 phút sau đó loại bỏ dịch nổi, làm khô cặn DNA bằng cách để khô tự nhiên trong bốc cây. Hòa cặn DNA với 30 µl TE-RNase (100 µg/ml), ủ mẫu ở 37°C trong 1 h. Mẫu DNA sau đó được đo nồng độ và bảo quản ở tủ lạnh -20°C.

Kiểm tra sự tạp nhiễm SV40 bằng phương pháp PCR lồng sử dụng bộ Kit được tạo ra

Bộ Kit được kiểm tra bằng cách sử dụng để phát hiện sự có mặt của SV40 trong các mẫu DNA chứng dương (DNA tách từ dịch tế bào nhiễm SV40 chân) và các mẫu DNA đối chứng âm (mẫu không mang DNA của SV40).

Quy trình chạy PCR

Chương trình chạy với cặp mồi vòng 1: Bổ sung 20 µl H₂O + 5 µl DNA đã tách chiết vào ống phản ứng đông khô được chuẩn bị như đã trình bày ở trên, trộn đều đến khi tan. Tiến hành chạy PCR theo chương trình sau: Bước 1: 94°C 3 phút; bước 2: 94°C 1 phút; bước 3: 49°C 50 giây; bước 4: 72°C 1 phút 30 giây; bước 5: lặp lại 35 chu kỳ từ bước 2 tới bước 4; bước 6: 72°C 8 phút; bước 7: chuyển sang giữ mẫu ở 4°C. Kiểm tra sản phẩm PCR (10 µl) bằng điện di kiểm tra trên gel agarose 1%. Kích thước sản phẩm PCR vòng 1 theo lý thuyết là 741 bp. Do đó, nếu xuất hiện băng DNA có kích thước 741 bp chứng tỏ mẫu đã bị nhiễm SV40. Nếu kết quả PCR vòng 1 âm tính tiếp tục chạy PCR vòng 2.

Chương trình chạy với cặp mồi vòng 2: Bổ sung vào ống phản ứng đông khô 20 µl H₂O và 5 µl sản phẩm PCR vòng 1, trộn đều đến khi tan. Chạy PCR theo chương trình như đã tiến hành với vòng 1.

Kiểm tra sản phẩm PCR vòng 2 bằng điện di trên gel agarose 1%. Nếu xuất hiện băng DNA có kích thước 172 bp chứng tỏ mẫu đã bị nhiễm virus SV40. Tuy nhiên, lượng bản sao của virus trong mẫu thấp hơn nhiều so với các mẫu cho kết quả dương tính ngay từ vòng 1. Nếu không xuất hiện băng DNA này chứng tỏ mẫu âm tính.

Tách dòng và giải trình tự sản phẩm PCR khuếch đại ở vòng một

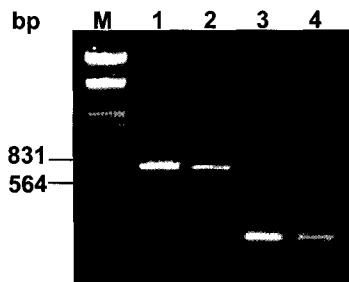
Sản phẩm PCR được tách dòng bằng gắn trực tiếp vào vector pCR2.1 (Invitrogen) và giải trình tự theo phương pháp Sanger với máy giải trình tự tự động ABI 3100 (Sanger *et al.*, 1977).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kiểm tra sự hoạt động của bộ Kit chẩn đoán SV40 được tạo ra

Để kiểm tra sự hoạt động của bộ Kit trong việc phát hiện SV40, chúng tôi sử dụng các mẫu DNA của SV40 được tách chiết từ các mẫu tế bào nhiễm virus SV40 và mẫu huyết thanh khí dương tính với SV40. Nguyên lý hoạt động của bộ Kit là phát hiện DNA của SV40 trong mẫu sinh phẩm qua 2 lần chạy PCR. Vì vậy sau khi tách chiết, mẫu DNA này được kiểm tra bằng phản ứng PCR vòng một sử dụng cặp mồi số 1 được cung cấp trong ống PCR vòng 1 (vật liệu và phương pháp nghiên cứu). Với phản ứng này, sản phẩm PCR được khuếch đại là một đoạn DNA thuộc gen LTG có độ dài tính theo lý thuyết là 741 bp. Nếu ngay từ lần chạy PCR vòng một sản phẩm là đoạn DNA này thì có thể kết luận mẫu xét nghiệm dương tính với SV40. Tuy nhiên, nếu lượng bản sao của SV40 có rất ít trong mẫu xét nghiệm thì có thể sẽ không phát hiện được ngay ở vòng chạy đầu. Do đó, bộ Kit cũng cung cấp cả các ống PCR vòng hai. Với ống này, sản phẩm PCR được khuếch đại cũng thuộc gen LTG có độ dài tính theo lý thuyết là 172 bp và nằm trong vùng được khuếch đại ở vòng 1. Bằng cách này độ nhạy và tính đặc hiệu của PCR sẽ được tăng lên gấp bội. Tuy nhiên, để đánh giá tính đặc hiệu của từng cặp mồi, chúng tôi cũng dùng DNA đã tách chiết để chạy PCR đồng thời với các ống sinh phẩm dùng cho PCR vòng 1 và PCR vòng 2. Kết quả PCR cho thấy, cả hai cặp mồi đều cho sản phẩm PCR đặc hiệu với mẫu DNA tách chiết từ tế bào nhiễm SV40 và mẫu huyết thanh khí đã được xác định là dương tính với kỹ thuật nuôi cấy tế bào. Kết

quả PCR với các ống PCR vòng 1 và vòng 2 được nêu trong hình 1.



Hình 1. Kiểm tra bộ Kit phát hiện SV40 bằng DNA tách từ tế bào nhiễm SV40 và huyết thanh khí dương tính. Đường chạy M: Chỉ thị DNA (DNA λ cắt với *EcoRI* + *HindIII*). 1 và 2: Sản phẩm PCR chạy bằng ống PCR vòng 1 (cặp mồi SV40P20, SV40M46) với DNA tách từ tế bào nhiễm SV40 và huyết thanh khí dương tính (mẫu số 393). 3 và 4: Sản phẩm PCR chạy bằng ống PCR vòng 2 (cặp mồi SV40-5, SV40-6) với DNA tách từ tế bào nhiễm SV40 và huyết thanh khí dương tính tương ứng.

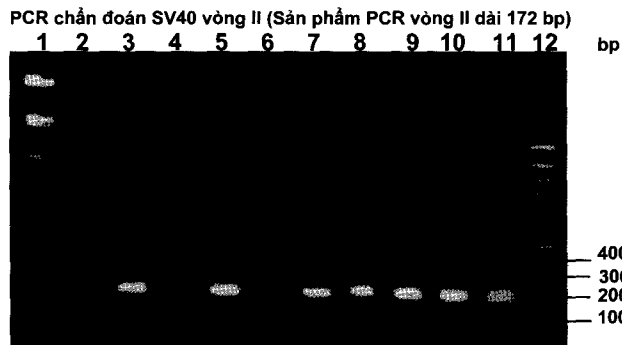
Kết quả hình 1 cho thấy, cả hai cặp mồi SV40P20, SV40M46 và SV40-5, SV40-6 đều khuếch đại đặc hiệu đoạn DNA thuộc gen LTG của SV40. Phản ứng PCR vòng 1 và vòng 2 chỉ cho sản phẩm PCR duy nhất có kích thước đúng với kích thước của chúng được tính theo lý thuyết. Tuy nhiên, để khẳng định một cách chắc chắn sản phẩm PCR này là đoạn DNA thuộc gen LTG, chúng tôi đã tạo dòng và xác định trình tự sản phẩm PCR khuếch đại từ mẫu huyết thanh khí dương tính với SV40 (mẫu số 393). Sản phẩm PCR sau khi được tách dòng bằng cách gắn vào vector pCR2.1, đã được xác định trình tự và so sánh với các trình tự đã công bố trong Ngân hàng gen quốc tế bằng chương trình Fasta. Kết quả cho thấy trình tự đoạn gen đã tách dòng có sự tương đồng 100% so với các đoạn gen tương ứng thuộc gen LTG của virus SV40 đã được công bố (Bảng 1).

Như vậy, có thể kết luận rằng bộ Kit chúng tôi tạo ra có độ đặc hiệu cao khi dùng để phát hiện SV40 trong các mẫu xét nghiệm.

Sự hoạt động của bộ Kit được khẳng định lại bằng việc sử dụng để phát hiện SV40 trong 8 mẫu huyết thanh khí khác, trong đó có 4 mẫu đã được xác định là dương tính và 4 mẫu âm tính bằng phương pháp gây nhiễm trên tế bào, kết quả được trình bày ở hình 2.

Bảng 1: Kết quả so sánh trình tự sản phẩm PCR khuếch đại từ mẫu huyết thanh khi dương tính (số 393) với các trình tự đã công bố trong Ngân hàng gen quốc tế bằng chương trình Fasta.

Alignment	DB:ID	Source	Length	Identity%	Overlap
1 ✓	EM_VI:AF332699	Simian virus 40 strain 777,	5270	100.000	742
2 ✓	EM_VI:AF155358	Simian virus 40 strain B-2,	5252	100.000	742
3 ✓	EM_VI:AF345344	Simian virus 40 strain GM006	5249	100.000	742
4 ✓	EM_VI:AY271817	Simian virus 40 strain 777*,	5244	100.000	742
5 ✓	EM_VI:AF316140	Simian virus 40 strain Rh911	5180	100.000	742
6 ✓	EM_VI:AF156108	Simian virus 40 strain CPC/M	5180	100.000	742
7 ✓	EM_VI:AF332562	Simian virus 40 strain 777,	5180	100.000	742
8 ✓	EM_VI:AF155359	Simian virus 40 strain B-1,	5179	100.000	742
9 ✓	EM_VI:AF345345	Simian virus 40 strain GM006	4669	100.000	742
10 ✓	EM_VI:SVI276576	Simian virus 40 partial gen	2874	100.000	742



Hình 2. Ứng dụng bộ Kit phát hiện SV40 trong 8 mẫu huyết thanh khi. Đường chạy 1 và 12: chỉ thị phân tử DNA. Đường chạy số 2 ký hiệu II(-): mẫu đối chứng âm (không có khuôn DNA). Đường chạy số 11 ký hiệu SV40(+): mẫu DNA SV40 chuẩn. Các đường chạy từ số 3 đến 10: 8 mẫu huyết thanh khi tương ứng (47, 390, 395, 379, 389, 339, 394 và 382) trong đó các mẫu 47, 390, 395, 379 đã được xác định là âm tính và các mẫu 389, 339, 394, 382 đã được xác định là dương tính bằng phương pháp nhiễm trên tế bào.

Kết quả ở hình 2 cho thấy, đối với các mẫu đã được xác định là dương tính với SV40 bằng phương pháp gây nhiễm trên tế bào, kết quả xác định bằng bộ Kit PCR lồng do chúng tôi sản xuất hoàn toàn

trùng lặp với kết quả của phương pháp gây nhiễm trên tế bào. Tuy nhiên, đối với 4 mẫu đã được xác định là âm tính bằng phương pháp gây nhiễm trên tế bào, bộ Kit do chúng tôi sản xuất đã xác định thấy 2

trong số trường hợp âm tính này cho kết dương tính. Điều này cũng rất dễ hiểu, vì phương pháp PCR, đặc biệt là PCR lồng có độ nhạy cao hơn nhiều so với phương pháp gây nhiễm trên tế bào. Như vậy, dùng phương pháp PCR lồng với bộ Kit do chúng tôi sản xuất có thể phát hiện thêm được các trường hợp âm tính giả khi xác định bằng phương pháp nhiễm trên tế bào nhằm tránh được việc sử dụng những con khi đã nhiễm SV40 trong sản xuất vaccine.

KẾT LUẬN

Bộ kit phát hiện SV40 do Viện Công nghệ sinh học hợp tác với Trung tâm Nghiên cứu, Sản xuất vắc xin và Sinh phẩm y tế, Bộ Y tế sản xuất là bộ sinh phẩm có tính đặc hiệu và độ nhạy cao. Đây cũng là bộ sinh phẩm rất tiện dụng, có đầy đủ các thành phần hóa chất cho tách chiết DNA từ mẫu xét nghiệm; các ống phản ứng đã có đầy đủ các thành phần cho PCR ở dạng đông khô, người sử dụng chỉ cần bổ sung nước và DNA khuôn và tiến hành chạy PCR.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Carbone M, Pass HI, Rizzo P, Marinetti M, Di Muzio M, Mew DJ, Levine AS, Procopio A (1994) Simian virus 40-like DNA sequences in human pleural mesothelioma. *Oncogene* 9: 1781-1790.

Eddy BE, Borman GS, Berkeley W, Young RD (1961) Tumors induced in hamsters by injection of rhesus monkey kidney cell extracts. *Proc Soc Exp Biol (NY)* 107: 191-197.

Forsman ZH, Lednicky JA, Fox GE, Willson RC, White ZS, Halvorson SJ, Wong C, Lewis AM, Butel JS (2004) Phylogenetic analysis of polyomavirus simian

virus 40 from monkeys and humans reveals genetic variation. *J Virol* 78(17): 9306-9316.

Hilleman MR (1998) Discovery of simian virus 40 (SV40) and its relationship to poliomyelitis virus vaccines. *Dev Biol Stand* 94: 183-190.

Jasani B, Cristaudo A, Emri SA, *et al.* (2001) Association of SV40 with human tumors. *Semin Cancer Biol* 11: 49-61.

Morelli C, Barbisan F, Iaccheri L, Tognon M (2004) SV40-Immortalized Human Fibroblasts as a Source of SV40 Infectious Virions. *Mol Med* Nov 22. <http://molmed.e-stacks.com/sites/molmed/pdfstore/article-2866.pdf>

Rizzo P, Resta ID, Powers A, Ratner H, Carbone M (1999) Unique strains of SV40 in commercial poliovaccines from 1955 not readily identifiable with current testing for SV40 infection. *Cancer Res* 59: 6103-6108.

Sanger F, Nicklen S, Coulson AR (1977) DNA sequencing with chain termination inhibitors, *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 5463-5467.

Shivapurkar N, Harada K, Reddy J, Scheuermann RH, Xu Y (2002) Presence of simian virus 40 DNA sequences in human lymphomas. *Lancet* 359: 851-852.

Sierra Honigmann A, Krause PR (2000) Live oral poliovirus vaccines do not contain detectable simian virus 40 (SV40) DNA. *Biologicals* 28(1): 1-4.

Strickler HD (2001) A multicenter evaluation of assays for detection of SV40 DNA and results in masked mesothelioma specimens. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10(5): 523-532.

Vilchez RA, Madden CR, Kozinetz CA, Halvorson SJ (2002) Association between simian virus 40 and non-Hodgkin lymphoma. *Lancet* 359: 817-823.

DEVELOPMENT OF A DIAGNOSIS KIT FOR DETECTION OF SIMIAN VIRUS (SV40) BY NESTED PCR METHOD

Nguyen Thi Sinh¹, Nguyen Tien Minh¹, Duong Van Cuong¹, Nguyen Thi Ngoc Diep¹, Pham Minh Tuan¹, Bach Thi Nhu Quynh¹, Nguyen Thi Quy², Nguyen Van Man², Le Tran Binh¹, Dinh Duy Khang^{1,*}

¹Institute of Biotechnology, Vietnamese Academy of Science and Technology

²Center for Research and Production of Vaccine and Medical Substances, Ministry of Health

SUMMARY

Simian virus (SV40) has been detected in many different human tumours. It is estimated that there

* Author for correspondence: Tel: 84-4-7560339; Fax: 84-4-8363144; E-mail: khangvspt@ibt.ac.vn

are tens of millions of people around the world are being infected with SV40 concerning the administration of SV40-contaminated polio vaccines. The risk of SV40 contamination from initial biomaterials used for vaccine production has raised the requirement of development of diagnostic methods for rapid detection of SV40. Many methods have been developed; however, they all have own limitations such as time-consuming and low sensitivity. Here, we report the study on development of a diagnostic Kit for rapid detection of SV40 based on nested PCR method. Using two specific primer pairs for large tumor antigen (LTG) amplification, gene encoding for a protein which is critical for DNA replication of SV40, we have successfully developed a diagnostic Kit based on the detection of a DNA fragment of LTG of SV40 in suspected SV40-contaminated biomaterials. Among 4 monkey serum specimens that all tested negative for SV40, using our kit we have identified 2/4 samples were positive for SV40. Our study here also presents evidence showing how differences in the sensitivities of methodologies can lead to a very different interpretation of the same study. Taken together, the data have proved that our Kit is very specific, sensitive and easy to use for SV40 detection.

Keywords: *Kit for rapid detection, Nested PCR, SV40*