

DETECCIÓN DE HIV EN LÍQUIDO SEMINAL, ESPERMATOZOIDES Y ESPERMATOZOIDES LAVADOS MEDIANTE PCR DIGITAL

M en C. Laura I. Uribe Figueroa1, Biol. Karla J. Morales Bécerril1, M en C. Pedro Cuapio Padilla2; Biol Exp. Magaly Espinoza Rodas2; Ing Biotech. Alan Rosette Rueda1; Dra M irna Guadalupe Echavarria Sánchez2
1.Laboratorio Centinel Biogen, CDMX, México
2. HispaRep Clínica de Reproducción Asistida, Hospital Español de México, CDMX, México.



Introducción: El virus HIV afecta a millones de varones a nivel mundial los cuales desean tener descendencia . En algunos centros de reproducción asistida, el uso de lavado de semen para muestras infectocontagiosas ha resultado una técnica exitosa para obtener espermatozoides libres de agentes infecciosos y útiles para fertilización in vitro.

Objetivo

Determinar la factibilidad de cuantificar carga viral de HIV mediante PCR digital en muestras de líquido seminal, espermatozoides y espermatozoides lavados de pacientes seropositivos a HIV.

Material y Método

Se obtuvieron 25 muestras de seminales de pacientes seropositivos a HIV que acudieron a una clínica de fertilidad para procedimiento de lavado de semen de HIV. Se realizó el lavado de acuerdo al método OMS 2021 (Fig 1) para posteriormente tomar una muestra y congelarla . La muestra congelada . Las muestras se extraen mediante método de perlas magnéticas para la extracción de RNA a partir de muestras biológicas. Las muestras se cuantifica usando un nanophotometer para posteriormente realizar una PCR digital (Fig 2) para la cuantificación absoluta de HIV 1.

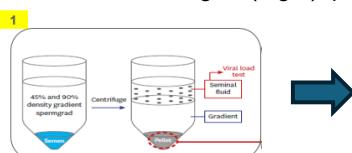


Figura 1. Lavado de esperma según método OMS 2021



Figura 2. Equipo Qiacuity para determinación de PCR digital

Resultados

Los resultados muestran la detección del control interno (CI) en todas las muestras de semen analizadas, lo que indica éxito en la reacción de PCR digital (Figura 3)



Fig 3. PCR d de control interno

En cuanto a la determinación de VIH el virus fue detectado en 2 muestras sin lavar.

Sin embargo, la concentración obtenida de copias/mL se considera no detectado (<20 copias/mL). Se detectó la presencia del virus en 1 control de líquido seminal y botón espermático en fresco, así como en los controles positivos lo que respalda la precisión y sensibilidad de la técnica para detectar el virus en muestras positivas (Figura 4)



Fig 4. Detección HIV por PCR digital

Conclusiones

La técnica de dPCR es una técnica sensible y simple para la detección del HIV en muestras de semen. Los resultados indican que el virus solo fue detectado en 2 muestras de semen analizadas y en los controles positivos.

Referencias

- Yamazaki S, Kondo M, Sudo K, Ueda T, Fujiwara H, Hasegawa N, et al. Qualitative Real-Time PCR Assay for HIV-1 and HIV-2 RNA. *Jpn J Infect Dis.* 2016;69(5):367–72.
- Zafer M, Horvath H, Mmeje O, van der Poel S, Semprini AE, Rutherford G, et al. Effectiveness of semen washing to prevent human immunodeficiency virus (HIV) transmission and assist pregnancy in HIV-discordant couples: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2016 Mar;105(3):645-655.e2.