

34. Enfermedades infecciosas transmisibles en reproducción asistida

INTRODUCCIÓN

La aplicación de técnicas de reproducción asistida a pacientes portadores de agentes infecciosos transmisibles constituye en la actualidad un conflicto en el que se contraponen los deseos de descendencia y el derecho al tratamiento de la discapacidad reproductiva por un lado, y los riesgos de transmisión horizontal y vertical de las infecciones por otro. Se considera que los agentes más relevantes son el virus de la hepatitis B (VHB), el virus de la hepatitis C (VHC) y el virus de la inmunodeficiencia humana, en función de su prevalencia en la población estéril, de las limitaciones para evitar su transmisión y de las consecuencias clínicas derivadas de la infección. La transmisión de las tres infecciones tiene lugar por vía parenteral, sexual y vertical, aunque se observan diferencias en la evolución de sus prevalencias. La frecuencia de la infección por VIH ha tendido a estabilizarse, e incluso ha iniciado un descenso en los últimos años, mientras que la prevalencia de la infección por VHB disminuirá de forma significativa en el futuro gracias a las campañas de inmunización. Los cambios en la incidencia de la infección por VHC son menos conocidos y constituyen un problema de importancia sanitaria creciente, en virtud del incremento de su prevalencia en grupos con riesgo específico de transmisión de infecciones por vía parenteral. Desde hace años, se viene produciendo un incremento del número de pacientes infectados por estos virus que solicitan ser sometidos a técnicas de reproducción asistida, lo que ha motivado inquietud sobre los riesgos de transmisión de la infección por mecanismos tanto verticales como horizontales. En relación con esta última vía, preocupa especialmente el riesgo de transmisión derivado de los procedimientos terapéuticos que incluyen la manipulación de gametos y embriones, que podrían constituir una fuente potencial de contaminación viral para los laboratorios de fecundación *in vitro*, así como para gametos, embriones y pacientes no infectados.

La actitud de los equipos biomédicos responsables de la aplicación de medios de procreación asistida varía entre posiciones muy restrictivas que excluyen la posibilidad de tratamiento a pacientes seropositivos, y conductas más permisivas basadas en la asunción del riesgo de transmisión y su reducción a través de medidas de seguridad⁽¹⁾.

Las primeras recomendaciones sobre cribado sistemático de la infección por virus de la hepatitis B y C y virus de la inmunodeficiencia humana en pacientes tributarios de técnicas de reproducción asistida se formularon en Francia en 1997⁽²⁾. Este consenso recomendaba la identificación de los sujetos infectados mediante pruebas serológi-

cas, pero no establecía la necesidad de excluir a dichos pacientes de los programas de reproducción asistida. Posteriormente, el desarrollo reglamentario de la ley francesa que regula la utilización de productos biológicos humanos en reproducción asistida y diagnóstico prenatal⁽³⁾, se sustanció en una normativa que no autoriza la aplicación de técnicas de reproducción asistida a pacientes estériles de sexo masculino o femenino que presenten la infección, si bien establece la posibilidad de considerar excepcionalmente situaciones concretas, siempre bajo el amparo de un ensayo clínico con el respaldo legal adecuado⁽⁴⁾. La Ley española de Reproducción Asistida tipifica como infracción grave la utilización para técnicas de reproducción asistida de gametos y embriones sin las debidas garantías biológicas, sin referirse específicamente al riesgo infeccioso⁽⁵⁾. Por otra parte, la normativa que regula el proceso de selección de los donantes de gametos especifica la necesidad de someter a los candidatos a estudios serológicos que incluyen la determinación de anticuerpos frente a VHC, y establece como criterio de exclusión cualquier condición determinada por el estudio previo que suponga riesgo biológico o genético⁽⁶⁾.

VIRUS DE LA HEPATITIS C

Epidemiología y vías de transmisión

En una revisión reciente⁽⁷⁾, el Grupo Colaborativo Europeo para la Investigación de la Hepatitis C analiza datos epidemiológicos sobre la infección por VHC procedentes de estudios elaborados en siete países de la Unión Europea, entre los que se incluye España. Este estudio describe una tasa global de seropositividad entre aspirantes a donante de sangre del 1%, con un rango del 0,04 al 2%. Asimismo, se identificó un gradiente geográfico determinado por aumento de la seroprevalencia en sentido norte-sur. La positividad serológica en pacientes sometidos a hemodiálisis varió entre el 20 y el 30%, y en los pacientes adictos a drogas por vía parenteral se encontraba en torno al 80%. La incidencia en pacientes transfundidos se redujo por debajo del 1% a partir de 1991.

Clásicamente, se han descrito como factores de riesgo para la infección por VHC los asociados a su principal vía de transmisión, que es la parenteral. Los grupos de población más expuestos son los receptores habituales de sangre y hemoderivados, los enfermos renales sometidos a hemodiálisis y los toxicómanos por vía parenteral. Otros colectivos con menor riesgo de contraer la infección son los trabajadores sanitarios, los compañeros sexuales de adictos a drogas por vía parenteral, y los portadores de tatuajes o *piercing* realizados sin garantías de higiene⁽⁸⁻¹⁰⁾.

El contagio sexual se ha considerado poco relevante epidemiológicamente, ya que el riesgo de adquisición de la infección por esta vía parece situarse en torno al 5%⁽¹¹⁾. No obstante, resulta difícil establecer la importancia de esta vía de transmisión de manera fiable, ya que la mayoría de los estudios señalan la posibilidad de que los pacientes nie-

guen el antecedente de contactos sexuales de riesgo como posible fuente de contagio, o que se superpongan factores de riesgo de transmisión por vía parenteral^(11,12). Un estudio de casos y controles realizado en España estudió los factores asociados a la seropositividad frente a VHC en un grupo de mujeres gestantes. Aunque la frecuencia de diversos antecedentes considerados como prácticas de riesgo era más elevada en el grupo de pacientes seropositivas, sólo tres factores se mostraron significativamente asociados a la seropositividad tras el análisis multivariante: adicción a drogas parenterales, hemoterapia previa, e historia de contactos sexuales con compañeros distintos del habitual sin protección con preservativo⁽¹²⁾. La relación entre el incremento del riesgo y la intensidad y duración de la promiscuidad permanece en discusión.

El riesgo de transmisión vertical del VHC descrito en la literatura varía ampliamente en función del tipo de población estudiada y de las pruebas diagnósticas aplicadas. En general, dicho riesgo se considera muy inferior al de transmisión vertical del virus de la hepatitis B, como consecuencia de la menor carga viral presente en el plasma materno⁽¹³⁻¹⁵⁾. El riesgo de transmisión en la población general oscila entre el 0 y el 18%, y según algunas series, se eleva al 6-36% en pacientes seropositivas frente a VIH^(16, 17). Otros autores no han encontrado diferencias en las tasas de transmisión relacionadas con el tipo de parto, la lactancia o la coinfección por VIH⁽¹⁸⁾. Un estudio pone de manifiesto la ausencia de transmisión vertical del virus en pacientes seronegativas para VIH incluso con replicación activa de VHC⁽¹⁹⁾. Otro estudio sobre factores moleculares de riesgo de transmisión perinatal concluye en que la negatividad de RNA viral en plasma materno excluye la posibilidad de transmisión, aun en presencia de anticuerpos anti-VHC; por el contrario, el riesgo de transmisión aumenta significativamente a partir de una carga viral igual o superior a 106 copias/ml⁽²⁰⁾. Los estudios de análisis filogénico de los genotipos virales detectados en niños que adquirieron la infección por vía vertical han puesto de manifiesto que además de la presencia de virus con patrones de hibridación comunes a los maternos, se detectan otros presentes en otros miembros del grupo familiar, y cuya transmisión se ha producido probablemente por vía horizontal⁽²¹⁾.

A pesar de que las vías de transmisión de la infección por VHC están bien establecidas, en un 30% de los individuos con viremia existe dificultad para identificar una fuente de infección probable⁽²²⁾. La infectividad potencial de fluidos orgánicos de pacientes infectados por VHC ha sido objeto de diversos estudios, que confirmaron la identificación del agente en leche materna y calostro⁽¹⁷⁾, líquido ascítico o saliva⁽²³⁾. Este último autor estudia las tasas de excreción viral en saliva de los convivientes con pacientes infectados y concluye que son superiores a las de seropositividad, por lo que arguye que podrían constituir una posible fuente de transmisión horizontal no identificable por pruebas serológicas.

En la actualidad, los datos disponibles sobre la transmisión vertical de virus sugieren que el riesgo puede considerarse bajo, excepto en pacientes con altas tasas de viremia, que

deberían ser identificadas previamente y sometidas a consejo preconcepcional⁽²⁴⁾. Sin embargo, la posibilidad de propiciar la transmisión horizontal de la infección a través de los procedimientos desarrollados en los laboratorios de reproducción asistida continúa generando controversias, basadas en la inexistencia de estudios suficientemente amplios, y en la publicación de casos de contaminación viral originada inequívocamente en los laboratorios de fecundación *in vitro*⁽²⁵⁾.

Transmisión por vía seminal

Los estudios iniciales destinados a establecer la prevalencia de la excreción seminal del VHC describieron su ausencia en el semen de varones con viremia^(14,15), si bien se trataba de series cortas. Posteriormente, Liou analizó un grupo de pacientes ligeramente mayor, detectando el virus en el 24% de los varones estudiados⁽²⁶⁾. En un intento de establecer la importancia clínica del aislamiento seminal del VHC, el grupo de Bourn Hall estudió la presencia de VHC en muestras seminales destinadas a donación para inseminación artificial, concluyendo que el virus no resultaba detectable tras el fraccionamiento seminal mediante centrifugación en gradientes de Percoll, y que ninguna de las receptoras desarrolló anticuerpos frente al VHC⁽²⁷⁾. Los resultados de los estudios más relevantes se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Detección de VHC en semen

Autor y referencia	Prueba	Detección de VHC	Población
Terada ⁽²⁸⁾	PCR PCR anidada	Negativa	6 virémicos
Hsu ⁽¹⁴⁾	PCR PCR anidada	Negativa	19 virémicos
Fried ⁽¹⁵⁾	PCR PCR anidada	Negativa	14 virémicos
Liou ⁽²⁶⁾	PCR PCR anidada	Positiva (24%)	34 virémicos
Fiore ⁽²⁹⁾	PCR	Positiva	
McKee ⁽²⁷⁾	PCR	Positiva Negativa tras Percoll	Donantes semen
Tang ⁽³⁰⁾	PCR	Positiva (57%)	7 virémicos
Caldwell ⁽³¹⁾	PCR	Negativa	12 virémicos
Semprini ⁽³²⁾	PCR	Negativa en células redondas, espermatozoides y plasma seminal	90 ADVP infectados
Hollingsworth ⁽³³⁾	PCR	Negativa	8 virémicos (coinfectados con VIH)
Pasquier ⁽³⁴⁾	PCR	Positiva (20%) Negativa tras swim-up	16 virémicos (coinfectados con VIH)
Debono ⁽³⁵⁾	PCR Western blot	Negativa	25 virémicos
Levy ⁽³⁶⁾	PCR Detección de inhibidores	Positiva (5%) Negativa tras Percoll	39 virémicos
Leruez-Ville ⁽³⁷⁾	PCR	Positiva (30%)	

Las discordancias existentes pueden ser explicadas, según algunos autores, como consecuencia de las diferencias en los procesos de obtención, almacenamiento y procesamiento de las muestras, y en la sensibilidad entre los métodos de PCR empleados por los distintos laboratorios⁽³⁶⁾. También ha sido invocada la actuación de factores inhibidores de la reacción en cadena de la polimerasa (Taq) presentes en los sémenes problema, que podrían motivar la aparición de falsos negativos^(32,36). No obstante, este inconveniente puede ser soslayado mediante aplicación de técnicas de detección del ARN viral no dependientes de PCR. Un estudio basado en esta metodología describe la ausencia de detección viral mediante PCR confirmada mediante técnicas de hibridación *in situ*⁽³⁵⁾.

Los hallazgos más recientes y derivados de diseños metodológicos más rigurosos señalan que la posibilidad de contaminación seminal por VHC es muy reducida, y por añadidura, que la significación clínica de la misma se revela escasa, en función del bajo riesgo de transmisión observado^(27, 34-36). Los métodos de procesamiento seminal terapéutico habitualmente aplicados en los laboratorios de reproducción asistida –y en especial la centrifugación en gradientes discontinuos de densidad– producen un aclaramiento de la carga viral presente en el semen. Estos procedimientos tienen como resultado la selección de los espermatozoides móviles, la eliminación de leucocitos, células espermáticas inmaduras y espermatozoides inmóviles, y, finalmente, la dilución y lavado de los espermatozoides móviles recuperados en medio de cultivo. Todas estas manipulaciones seminales pueden facilitar la depuración viral. En consecuencia, estas técnicas deberían ser aplicadas incluso cuando la naturaleza de los medios de reproducción asistida indicados (ICSI) no las requieran obligatoriamente⁽³⁸⁾. Por otra parte, la centrifugación en gradientes de densidad ha demostrado su eficacia en la reducción de la concentración en el semen fraccionado de otros agentes infecciosos, como citomegalovirus y *Chlamydia trachomatis*^(39,40). Aunque estos estudios utilizan una solución viscosa de partículas de polivinilpirrolidona (Percoll[®]) cuyo uso terapéutico no está permitido actualmente en varios países de la Unión Europea, existen productos con propiedades análogas que pueden ser igualmente eficaces en este cometido. Este hallazgo ha fundamentado conductas clínicas similares a las propuestas para el tratamiento de parejas serodiscordantes frente a VIH^(41,42), basadas en la división alícuota de la suspensión espermática obtenida tras la capacitación seminal, para destinar una fracción al examen con PCR y el resto a la congelación. La comprobación de la ausencia de RNA viral permitiría el uso de la reserva seminal congelada con fines terapéuticos⁽³⁶⁾.

Transmisión no seminal

La transmisión nosocomial del VHC por vía no parenteral ha sido documentada en estudios de series extensas de pacientes con infección crónica, que adquirieron la infección por este mecanismo en el 17% de los casos⁽⁴³⁾. También ha sido demostrada la posibilidad de contagio por exposición percutánea a productos hematológicos en profesionales sanitarios⁽⁴⁴⁾. El origen nosocomial de estos casos de infección

ha sido bien establecido mediante caracterización viral rigurosa, y en situaciones en la que se habían observado las recomendaciones destinadas a evitar la transmisión de la infección⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾.

En el ámbito de las técnicas de reproducción asistida, se ha evidenciado la transmisión del virus en el curso de un procedimiento de fecundación *in vitro*⁽²⁵⁾. Esta publicación alude a dos casos de transmisión por vía horizontal en un centro francés de reproducción asistida. Los autores concluyen que la contaminación debió tener como origen algún procedimiento auxiliar no directamente relacionado con las técnicas de reproducción asistida. Finalmente, recomiendan el cumplimiento de la normativa francesa, consistente en estudiar mediante PCR a todos los pacientes seropositivos, y no incluir en programas terapéuticos a las parejas en las que uno o los dos miembros presenten viremia.

Las diferentes fases del proceso habitual de la fecundación *in vitro* han sido revisadas para establecer su seguridad biológica en relación con los riesgos de transmisión viral. La manipulación cuidadosa de las sondas ecográficas endovaginales utilizadas para los controles de desarrollo folicular, y durante las extracciones de ovocitos, es efectiva en la prevención de la transmisión de agentes virales si incluye desinfección con agentes germicidas después de cada exploración⁽⁴⁸⁾.

La probabilidad de contaminación causada por la punción folicular puede minimizarse disponiendo de instalaciones adecuadas para desarrollar el proceso en diferentes ámbitos. No obstante, la proximidad física con fuentes de contaminación es un factor de riesgo reconocido. Se ha descrito la transmisión de la infección en pacientes dializados en sistemas distintos pero próximos^(49,50), así como la transmisión asociada a procedimientos con riesgo de exposición percutánea^(50,51). La infección cruzada entre pacientes ha sido probada en una unidad de cuidados intensivos en la que el personal no procedía al cambio de guantes con la debida frecuencia, sino que los desinfectaba con agentes enólicos, inactivos frente al virus^(47,52). El uso de viales multidosis como los de heparina también ha sido relacionado con casos de infección cruzada⁽⁵⁰⁾.

La contaminación causada por la manipulación de gametos y embriones en el laboratorio de reproducción asistida ha sido demostrada en el caso del virus de la hepatitis B, en relación con la adición de suero materno a los medios de cultivo⁽⁵³⁾. Esta posibilidad quedaría teóricamente eliminada mediante la utilización de medios de cultivo exentos de proteínas y sin ninguna suplementación.

La transferencia embrionaria se considera una técnica de mínimo o nulo riesgo siempre que se efectúe en las debidas condiciones de asepsia, y considerando tanto su carácter atraumático como el uso sistemático de material desechable⁽²⁵⁾.

Las técnicas de criopreservación basadas en la inmersión de los productos biológicos en nitrógeno líquido entrañan riesgo de contaminación cruzada demostrado para virus de la hepatitis B⁽⁵⁴⁾. Otros gérmenes también pueden sobrevivir a la congelación de muestras con nitrógeno, y constituir un origen potencial de contaminaciones. Entre ellos, se encuentran el virus de la estomatitis vesicular, virus del herpes simple, adenovirus, papilomavirus, flora bacteriana de origen cutáneo y diversas especies de hongos entre los que destaca el *Aspergillus*⁽⁵⁵⁾. En este último estudio se revisa el riesgo asociado a las diferentes modalidades de criopreservación existentes. La utilización de polvo de polivinilo para el sellado de pajuelas destinadas a congelación seminal puede representar una fuente de contaminación cruzada en caso de manipulaciones inadecuadas (uso inadvertido del polvo para el sellado de pajuelas correspondientes a distintos varones). Resulta mucho más recomendable el empleo de pajuelas provistas de resinas ionoméricas ya incorporadas, que permiten el sellado con el uso de un dispositivo específico, y que además pueden ser cargadas mediante un sistema que impide el contacto directo entre el semen y el exterior de las mismas. Los criotubos habitualmente utilizados para el almacenamiento de semen no resultan estancos, ya que se ha demostrado que después tres horas de inmersión en nitrógeno líquido, hasta el 85% de los viales presentan difusión de nitrógeno en el interior. Uno de los procedimientos más seguros es la criopreservación en sistemas que sustituyen la inmersión directa por los vapores de nitrógeno, y que en consecuencia evitan la contaminación del medio criogénico. Los inconvenientes de este procedimiento residen en su elevado coste y en la necesidad de mayor espacio para el almacenamiento de las muestras^(55,56). Se ha cuestionado si los sistemas de criopreservación en vapores de nitrógeno garantizan la misma eficacia en la conservación de la viabilidad biológica de los espermatozoides y los embriones en relación con la inmersión. Experiencias realizadas con semen humano y embriones de ratón muestran tasas de supervivencia similares al comparar ambos sistemas; por otra parte, la tasa de blastulación de los embriones murinos tampoco presentó diferencias⁽⁵⁶⁾.

Conclusiones

- La infección por virus de la hepatitis C tiene graves consecuencias sobre la salud, y entraña riesgo de hepatopatía crónica, necesidad de trasplante hepático y carcinoma hepatocelular. En consecuencia, deben aplicarse medios para controlar la infección y evitar su transmisión.
- La infección se adquiere predominantemente por vía parenteral, y los factores de riesgo más importantes para esta modalidad de transmisión son la adicción a drogas por vía parenteral y la exposición reiterada a hemoderivados en épocas en las que la evaluación de los donantes no incluía sistemáticamente la identificación de anticuerpos frente a VHC.
- La transmisión vertical del virus es menos frecuente aunque posible. Las medidas más eficaces para su prevención son la identificación preconcepcional de mujeres portadoras entre la población de riesgo y su tratamiento.

- El riesgo de transmisión de la infección a través de la aplicación de las técnicas de reproducción asistida deriva fundamentalmente de la presencia del VHC en semen, que ha sido demostrada. La tasa de excreción viral en semen de pacientes con viremia se considera variable, aunque se ha demostrado la eficacia de las técnicas de fraccionamiento seminal utilizadas habitualmente en reproducción asistida para reducir o eliminar la carga viral presente en el semen, y con ella, el riesgo de infección.

Las técnicas de fraccionamiento seminal que se realizan habitualmente en reproducción asistida reducen o eliminan la carga viral del VHC.

A

- La transmisión cruzada de la infección por VHC ha sido demostrada en el contexto de la aplicación de técnicas de reproducción asistida, a pesar de la observación de las adecuadas medidas de profilaxis.
- La regulación francesa sobre buenas prácticas clínicas y biológicas en reproducción asistida prohíbe desde 1999 la aplicación de tratamiento a parejas con un miembro infectado fuera del ámbito de los ensayos clínicos sometidos a control externo. La legislación española no restringe específicamente la aplicación de tratamiento, aunque establece la necesidad de determinar con carácter previo a la misma el riesgo biológico asociado al posible embarazo, que incluye el de enfermedades infecciosas transmisibles.

Considerando los actuales conocimientos sobre el riesgo de transmisión del virus de la hepatitis C por la aplicación de técnicas de reproducción asistida, se considera necesaria la dotación de instalaciones adecuadas que permitan el tratamiento de gametos y embriones procedentes de pacientes con dicha infección con las medidas de seguridad biológica adecuadas.

RSAA

VIRUS DE LA HEPATITIS B

La infección aguda y crónica por el virus de la hepatitis B representa uno de los mayores problemas de salud pública mundiales. Aproximadamente el 5% de población (unos 300 millones de personas) presenta infección crónica por el virus, y constituye el principal reservorio del mismo. Se cree que fallecen anualmente entre 500.000 y un millón de personas como resultado directo de los trastornos causados por la infección.

Las consecuencias de la infección aguda por VHB son muy variables. El periodo de incubación dura entre 6 semanas y 6 meses, y el grado de expresividad clínica de la infección es dependiente de la edad y del estado inmunitario del sujeto infectado. La infección neonatal suele cursar de forma asintomática, mientras que en niños de 1 a 5 años de edad, la tasa de enfermedad clínica alcanza el 15%⁽⁵⁷⁾. En niños mayores y adultos, entre el 33 y el 55% de los individuos infectados presenta el cuadro clínico, por lo que la frecuencia de la infección subclínica es elevada. El síndrome clásico está constituido por manifestaciones digestivas, aunque excepcionalmente pueden presentarse síntomas y signos de otra índole. La forma fulminante de hepatitis B aguda aparece en el 1-2% de los sujetos infectados y se asocia a una mortalidad muy elevada (63-93%).

La infección crónica por VHB se define como la presencia de AgHBs en suero durante al menos 6 meses, o la existencia de AgHBs en ausencia de IgM anti-HBc. El riesgo de desarrollar la infección crónica está en relación inversa con la edad, y es máximo (90%) para los niños infectados en el periodo perinatal. La probabilidad de adquirir infección crónica se reduce al 25-50% en pacientes de 1 a 5 años de edad y al 6-10% en pacientes mayores de 5 años y adultos⁽⁵⁷⁾. La infección crónica por VHB es un factor de riesgo bien establecido para el desarrollo de hepatopatías crónicas (hepatitis crónica activa, hepatitis crónica persistente y cirrosis) y para el carcinoma hepatocelular^(58,59). Diversos estudios prospectivos han evidenciado que la probabilidad de degeneración de la infección crónica en cirrosis o en carcinoma hepatocelular también guarda relación con la edad, y se reduce con la curación de la infección crónica en el caso del carcinoma hepatocelular^(60,61). Diversos factores relacionados con el estado inmunitario del huésped de la infección también han sido relacionados con el riesgo de progresión hacia formas agresivas: se han descrito como factores de riesgo enfermedades crónicas como la insuficiencia renal, la diabetes *mellitus* evolucionada y la infección por VIH^(62,63).

El diagnóstico definitivo de la infección por VHB es necesariamente serológico, como consecuencia de la falta de especificidad del cuadro clínico. El hallazgo serológico característico de la infección aguda es la detección persistente del AgHBs y de AgHBe, seguido de la aparición de IgM anti-HBc (presente en suero durante unas 36 semanas). Durante el periodo de convalecencia, se produce el aclaramiento plasmático del AgHBs y del AgHBe, y la aparición de anticuerpos específicos anti-HBs, anti-HBc y anti-HBe. El primero es un anticuerpo protector que indica curación e inmunidad frente a la reinfección. También es detectable entre la población vacunada frente al VHB. La presencia de anticuerpos anti-HBc tipo IgM e IgG indican exposición actual o anterior al virus, y replicación viral. La IgG anti-HBc se positiviza muy poco después del contacto con el virus, y permanece de por vida, mientras que la IgM anti-HBc es el marcador más fiable de infección aguda. En pacientes con infección crónica, el AgHBs permanece positivo de forma generalmente definitiva. El DNA viral puede ser identificado en el suero de pacientes con infección aguda o crónica; la técnica más sensible es la cuantificación mediante PCR, que es capaz de detectar concentraciones de 10-3 pg/ml, lo que equivale a 100-1000 copias

del genoma viral por mililitro. La significación clínica de la detección mediante PCR del DNA viral es equivalente a la del hallazgo del Ag HBs y significa infección por VHB.

No se dispone de tratamiento específico para la infección aguda, y la infección crónica puede beneficiarse del tratamiento con alfa-interferón, que puede mejorar las tasas de aclaramiento plasmático del AgHBe desde un 12% en sujetos no tratados hasta un 33%⁽⁶⁴⁾. Otros tratamientos ensayados en la actualidad son los análogos de nucleósidos como famciclovir o lamivudina.

Epidemiología y vías de transmisión

El VHB se transmite por contacto percutáneo o a través de mucosas con fluidos orgánicos contaminados, por vía sexual o por vía perinatal. La prevalencia de la infección por VHB y las vías predominantes de contagio varían ampliamente en relación con factores geográficos y socioeconómicos. El 45% de la población mundial reside en áreas de alta prevalencia ($\geq 8\%$ de la población con AgHBs); otro 43% reside en zonas de prevalencia intermedia (2-7% de la población infectada) y sólo un 12% en áreas con bajo nivel de endemia ($<2\%$ de la población con positividad frente a AgHBs)⁽⁶⁵⁾. En regiones con alta prevalencia, el riesgo de infección por VHB a lo largo de la vida es del 60%, y la mayor parte de los pacientes la adquieren en el periodo perinatal o durante la infancia, que es la etapa con mayor riesgo de desarrollo de la infección crónica. A este grupo pertenecen regiones como el África subsahariana, la Amazonia, la mayor parte de Asia (excepto Japón e India), gran parte de la Micronesia y la zona norte de Alaska. En estas regiones, el factor de riesgo más importante es la condición materna de portadora de la infección. Se estima que las madres con positividad para los AgHBs y AgHBe transmitirán la infección a su descendencia en el 70-90% de los casos si no se administra inmunoprofilaxis⁽⁶⁶⁾. Los hijos de madres con AgHBs positivo y AgHBe negativo tienen un riesgo de infección perinatal del 5-20%, así como un incremento del riesgo de infección posterior en la edad infantil por transmisión horizontal de la infección. Esta transmisión tardía en la edad infantil se considera la principal fuente de infección en países con alta tasa de infección y con baja seroprevalencia frente a AgHBe⁽⁶⁷⁾.

En áreas geográficas con tasa intermedia de infección el riesgo de infección por VHB a lo largo de la vida es del 20 al 60%, aunque la distribución de casos se concentra menos en la edad infantil, circunstancia que facilita el diagnóstico clínico de sospecha (más fácil en la edad adulta). En estos países, que comprenden Brasil, la cuenca del Caribe, la región de Sahara, Oriente Medio, India, Rusia y China), la tasa de infección materna se sitúa en el 2-7%, con una frecuencia de positividad para el AgHBe menor del 20%^(46,65).

Los países que presentan baja tasa de infección (Europa occidental y Norteamérica) se caracterizan por un riesgo de adquisición de la infección menor del 20%, y la mayor parte de los sujetos infectados pertenecen a grupos de riesgo⁽⁴⁶⁾:

- a) Adictos a drogas por vía parenteral.
- b) Mujeres y hombres homo y heterosexuales con múltiples compañeros sexuales.
- c) Compañeros sexuales y convivientes con portadores de VHB.
- d) Hijos de mujeres portadoras de la infección.
- e) Personas ingresadas y personal de instituciones para la atención de discapacitados.
- f) Receptores habituales de hemoderivados.
- g) Pacientes en hemodiálisis.
- h) Profesionales sanitarios que tengan contacto con sangre y hemoderivados.
- i) Personas procedentes de áreas con alta frecuencia de infección y sus descendientes.

En los Estados Unidos de Norteamérica, la mayor parte de los casos de infección aguda se diagnostican en adultos jóvenes, mientras que un tercio de las infecciones crónicas son adquiridas por vía perinatal y durante la edad pediátrica⁽⁶⁸⁾. En este país, la incidencia se multiplicó por 1,7 entre 1979 y 1985, y una posterior reducción a un tercio del valor máximo hasta la actualidad. Se estima que entre 100.000 y 130.000 personas son infectadas cada año, y que se producen 5.000 fallecimientos anuales causados por las formas graves o evolutivas de la enfermedad (hepatitis aguda fulminante, cirrosis y carcinoma hepatocelular)⁽⁶⁸⁾.

Estudios de prevalencia realizados en nuestro país describen una tasa de seropositividad frente a AgHBs del 1,2%, con una incidencia de positividad frente a Ac anti-HBc del 9,1%⁽⁶⁹⁾. Este mismo estudio pone de manifiesto que los principales factores asociados al incremento del riesgo de infección son el nivel socioeconómico bajo y la residencia en el medio urbano. Finalmente, también registra una clara tendencia al descenso de la prevalencia, que se ha reducido un 46% entre 1996 y 2000, probablemente en relación con el incremento del nivel de vida y con el efecto de las campañas de vacunación a la población adolescente.

Otros estudios realizados en España para estimar la prevalencia de la infección en grupos de riesgo describen una tasa de seropositividad del 9 al 11% entre los trabajadores de diferentes centros sanitarios de una ciudad andaluza⁽⁷⁰⁾. En otro colectivo de riesgo, el de los adictos a drogas por vía parenteral, otro autor español describe una tasa de infección del 64,4%, con una elevada frecuencia de coinfección con VHC y VIH (49,1%). Los resultados de otro estudio realizado en la población toxicómana penitenciaria informa de tasas de coinfección VHB-VHC del 42,5% y de coinfección VHB-VHC-VIH del 37,3% de los afectados⁽⁷¹⁾. La incidencia de la seropositividad frente a AgHBs en pacientes con trastornos de la fertilidad ha sido estimada en un 7,8% de los casos en un reciente estudio prospectivo publicado en España⁽⁷²⁾, en el que se destaca que la incidencia es significativamente superior a la hallada en el grupo control, a pesar de no considerarse la población estéril como un colectivo de riesgo.

La estrategia más eficaz en la prevención de la enfermedad consiste en la aplicación de medios de prevención primaria. La inclusión de la vacuna frente al VHB en el calendario vacunal ordinario se está generalizando en los países desarrollados⁽⁷³⁾. Por otra parte, los sujetos pertene-

cientes a grupos específicos de riesgo sin contacto de riesgo conocido también son candidatos a la vacunación extensiva. Finalmente, los sujetos expuestos a riesgo con contacto conocido con fuentes de infección deben recibir inmunización activa y pasiva con administración de inmunoglobulina hiperinmune específica y vacuna. Entre estos individuos, cabe destacar a los niños con exposición perinatal al VHB, personal afectado por exposición accidental al virus por vía percutánea o mucosa y sujetos con contacto sexual con individuos infectados^(46,74).

Transmisión seminal

Las primeras publicaciones que ponían de manifiesto la posibilidad de aislar el denominado “antígeno Australia” en semen y saliva ya invocaban una posible vía seminal para la transmisión de la infección⁽⁷⁵⁻⁷⁷⁾. En 1977 se obtuvo la primera evidencia experimental de la posibilidad de infectar a animales sanos por contacto con semen y saliva humanos procedentes de sujetos que habían adquirido la infección por vía no parenteral, bien mediante inoculación directa^(78,79) o bien mediante instilación intravaginal al animal de experimentación⁽⁷⁹⁾. Posteriormente, se describió la presencia del AgHBs en sangre menstrual y semen de sujetos infectados⁽⁸⁰⁾ y su ausencia (así como la del AgHBe) en caso de positividad del Ac anti-HBc⁽⁸¹⁾. Los siguientes estudios relevantes en orden cronológico pusieron de manifiesto la posibilidad de aislar el genoma del VHB en el interior de las células germinales masculinas, por lo que se sugirió la posibilidad de transmisión vertical de la enfermedad desde la etapa preconcepcional y vehiculada por las células germinales^(82,83).

Hay numerosas evidencias de la presencia en semen de marcadores virales, como AgHBs y DNA viral. Todos los estudios describen presencia de virus en el semen en porcentajes variables pero inferiores al 100%. La concentración del genoma viral hallada en semen resultó muy inferior a la plasmática en un estudio cuantitativo practicado con muestras procedentes de 15 homosexuales con infección crónica por VHB⁽⁸⁴⁾. La mayor parte de los estudios diseñados para la determinación de la prevalencia de la contaminación viral del semen y otros fluidos orgánicos se han realizado sobre grupos reducidos de pacientes con infección crónica conocida. Los resultados de dichos estudios se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2. Detección de VHB en semen

Autor y referencia	Producto viral	Tasa de detección	Población
Ayoola ⁽⁸⁰⁾	AgHBs	12%	50 varones (población general Nigeria).
Karayianis ⁽⁸⁵⁾	DNA	62%	21 sujetos con infección crónica.
Hadchouel ⁽⁸²⁾	DNA	17%	17 infectados (infección aguda y portadores crónicos).
Jenison ⁽⁸⁴⁾	DNA	73%	15 varones homosexuales con infección crónica.
Davison ⁽⁸⁶⁾	DNA	78%	18 portadores crónicos.
Evans ⁽⁸⁷⁾	AgHBs	4%	647 pacientes de una clínica de enfermedades de transmisión sexual.
Worm ⁽⁸⁸⁾	AgHBs	10%	332 clientes de prostíbulos.

Según puede apreciarse, todos los estudios refieren tasas de aislamiento de productos virales superiores a la tasa de seroprevalencia de la población general propia de los países occidentales. En el estudio de Evans se observa una frecuencia de identificación viral más próxima a la de la población no seleccionada, lo que resulta explicable si se considera que los varones incluidos en esta numerosa serie acudieron a una clínica londinense para la detección precoz de enfermedades de transmisión sexual después de una campaña informativa y de sensibilización sobre la infección por VIH⁽⁸⁷⁾. La detección seminal de productos virales se produce en más del 70% de los casos entre pacientes portadores de infección crónica, como ponen de manifiesto las publicaciones de Jenison y Davison^(84,86). Sus resultados contrastan con los obtenidos por Hadchouel⁽⁸²⁾, que describe una tasa de aislamiento viral muy inferior (17%) estudiando una población similar, aunque para la detección del producto viral aplica métodos de hibridación molecular, menos sensibles que los basados en la reacción en cadena de la polimerasa utilizados en el estudio de Jenison.

La transmisión de la infección por VHB como consecuencia de la aplicación de técnicas de reproducción asistida fue constatada después de la infección de una paciente sometida a inseminación artificial con semen de donante, en el que fue aislado retrospectivamente el AgHBs, también presente en suero⁽⁸⁹⁾. Este hecho sucedió a pesar de la existencia de conocimientos sobre los riesgos de la utilización terapéutica de semen procedente de donantes no evaluados en relación con el estado de portador del VHB⁽⁹⁰⁾. Con posterioridad, se generalizaron las recomendaciones sobre la aplicación de medidas de prevención, basadas en la investigación serológica sistemática de los candidatos a donantes y de los compañeros sexuales de los pacientes infectados o con otros factores de riesgo^(45,46,91-95). La legislación española establece la obligatoriedad de determinar el estado de infectividad por VHB como parte de los requisitos para la evaluación de candidatos a donantes de gametos y preembriones⁽⁶⁾. La normativa vigente en Francia prohíbe la aplicación de técnicas de reproducción asistida a pacientes que supongan un riesgo potencial por su condición de portadores de la infección aguda o crónica^(3,4).

El tratamiento con técnicas de reproducción asistida a sujetos con infección crónica anterior y con aclaramiento plasmático completo de productos virales, el riesgo se consideraba nulo, hasta la publicación de presencia persistente de DNA viral en el semen de un individuo afectado por infección crónica con detección plasmática negativa del genoma, tras un tratamiento con α -interferon⁽⁹⁶⁾.

Transmisión no seminal

La presencia de VHB en fluidos orgánicos constituye una fuente de riesgo para la manipulación de productos biológicos, y podría originar contaminaciones horizontales en el contexto de los programas de reproducción asistida que aplican técnicas con abordajes invasivos sobre las pacientes⁽⁹⁷⁾. Existen numerosas evidencias de la excreción viral en saliva, orina, secreciones vaginales, sangre menstrual y leucocitos de pacientes con in-

fección crónica, con capacidad infectiva capaz incluso de persistir después de la negativización de los marcadores plasmáticos de actividad viral^(75,76,78,79,84-86,96,98).

Se ha documentado la posibilidad de contaminación cruzada de gametos y de embriones en el transcurso de su manipulación en el laboratorio de fecundación *in vitro*, cuando los procedimientos de cultivo embrionario incluían la adición de suero materno a los medios de cultivo⁽⁹⁹⁾, así como la transmisión de la infección entre material biológico criopreservado y almacenado en el mismo recipiente criogénico⁽⁵⁴⁾. La suplementación de los medios de cultivo con proteínas procedentes de sueros libres de marcadores virales y el uso con este fin de proteínas humanas de origen recombinante podría eliminar esta fuente de contagio. Otros casos de brote epidémico de hepatitis B aguda manifestados en centros de reproducción asistida no han podido ser directamente relacionados con los procedimientos terapéuticos y pueden tener relación con el uso incorrecto de material de venopunción⁽¹⁰⁰⁾.

En una reciente revisión sobre el estado del conocimiento, Steyaert⁽¹⁰¹⁾ recomienda no excluir a los pacientes portadores de virus de la hepatitis B y C de los programas de fecundación *in vitro*, aunque considera necesaria la aplicación de esta técnica con garantías de seguridad específicas, que incluyen la utilización de recipientes criogénicos independientes para el almacenamiento de los gametos o embriones que hubieran de ser criopreservados. Diferentes autores han señalado la conveniencia de sustituir el tradicional sistema de conservación de muestras biológicas por inmersión en tanques de nitrógeno líquido, por otro basado en la utilización de recipientes criogénicos alimentados con vapor de nitrógeno, que eliminan el riesgo de contaminación. Otro estudio reciente compara los efectos de la criopreservación seminal mediante inmersión en nitrógeno líquido y los producidos por la conservación seminal en vapores de nitrógeno, concluyendo en que no existen diferencias en la calidad del material seminal después de la descongelación⁽¹⁰²⁾. Se han realizado experimentos análogos con embriones murinos, sin evidenciar diferencias en la tasa de blastulación dependientes de la técnica de congelación⁽⁵⁶⁾. Otra de las recomendaciones destinadas a reducir el riesgo de contaminación horizontal en el curso de los procedimientos de laboratorio es el uso sistemático de pajuelas plásticas termosellables, cuya estanqueidad está garantizada, y la eliminación de las pajuelas tradicionales, selladas con polvo de polivinilo⁽⁵⁵⁾.

Conclusiones

- La infección por VHB constituye uno de los principales problemas de salud pública mundial, a causa de la gran diseminación del virus, las altas tasas de prevalencia de la infección aguda y crónica en los países en desarrollo, la elevada tasa de ataque de la infección adquirida por vía perinatal y las consecuencias de la evolución de la enfermedad crónica, que incluyen alto riesgo de hepatopatía crónica, cirrosis y carcinoma hepatocelular.
- Las vías de contagio más importantes son la transmisión parenteral (asociada a conductas de riesgo o riesgos laborales), el contagio sexual y la vía perinatal.

- La transmisión de la infección a través del tratamiento con técnicas de reproducción asistida está causada por la presencia del virus en semen y en fluidos biológicos, y ha sido demostrada en el curso de tratamientos de inseminación artificial y fecundación *in vitro* con semen contaminado. La tasa de excreción viral en semen y fluidos biológicos suele ser menor que la tasa plasmática, así como la carga viral detectable. Sin embargo, se puede considerar alta en todos los pacientes portadores de infección crónica por VHB. Por otra parte, es destacable la alta tasa de transmisión del virus, derivada de su gran infectividad, y en consecuencia el alto riesgo de contagio por inoculación parenteral o contacto transmucoso.
- Existe evidencia de transmisión de la infección durante la aplicación de técnicas de fecundación *in vitro* y criopreservación de gametos y embriones, cuyo riesgo se vincula al procesamiento seminal y de otros materiales biológicos.
- Las recomendaciones en vigor de los Comités para el Control de Enfermedades del Instituto Nacional de la Salud de Estados Unidos sobre el manejo de muestras seminales con destino a la donación o la criopreservación establecen la necesidad de excluir de dichos procedimientos a los portadores de marcadores virales de infección activa aguda o crónica.
- La regulación francesa sobre buenas prácticas clínicas y biológicas en reproducción asistida prohíbe desde 1999 la aplicación de tratamiento a parejas con un miembro infectado fuera del ámbito de los ensayos clínicos sometidos a control externo. La legislación española no restringe específicamente la aplicación de tratamiento, aunque establece la necesidad de determinar con carácter previo a la misma el riesgo biológico asociado al posible embarazo, que incluye el de enfermedades infecciosas transmisibles.

Las medidas para la prevención de la transmisión de la hepatitis B deben incluir la aplicación de procedimientos de seguridad biológica en el laboratorio de reproducción, que deberá estar dotado de sistemas de criopreservación que garanticen la estanqueidad de los recipientes y su exclusividad de uso para muestras con riesgo microbiológico.

RSAA

VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

Introducción

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) se han convertido en un problema de salud que ha adquirido la condición de fenómeno social durante los últimos 25 años, y constituye un problema de primer orden en cualquier ámbito de la medicina clínica. Los cambios en la epidemiología de la enfermedad y el impacto de las sucesivas terapias en su evolución obligan a evaluar continuamente las actitudes médicas y sociales frente a este proceso. La población femenina ha experimentado un firme incremento de la prevalencia de la infección, y

desde 1994 la transmisión heterosexual relevó a la parenteral como principal vía de adquisición de la enfermedad en Estados Unidos. El desarrollo de fármacos antivirales más potentes y de pautas de tratamiento más eficaces a mediados de los años 90 contribuyeron a reducir la incidencia del SIDA y su mortalidad, aunque la prevalencia de la infección por VIH siguió incrementándose. Uno de los avances más importantes ha sido la drástica reducción de la transmisión vertical de la infección a partir de 1994, gracias a la introducción del tratamiento preventivo con zidovudina (AZT).

Durante la época en que la transmisión perinatal constituía el origen más importante de adquisición de la infección y de SIDA pediátrico, las recomendaciones profilácticas desaconsejaban la gestación en mujeres portadoras del virus y propugnaban la información sobre los riesgos de transmisión a las pacientes gestantes, incluyendo entre las opciones de conducta la interrupción voluntaria del embarazo. Las pacientes que decidían proseguir su gestación eran consideradas como fuentes de transmisión vertical, y su decisión generaba altos costes sociales y sanitarios. Más recientemente, la evidencia de que el tratamiento antirretroviral disminuye sustancialmente la probabilidad de transmisión vertical ha modificado la actitud hacia estas pacientes, que ahora se centra en la identificación precoz del estado infectivo para la correcta aplicación de la terapia, aunque sin omitir información a la paciente sobre la persistencia de un riesgo muy bajo de infección perinatal adquirida por vía vertical.

El conflicto que genera el deseo reproductivo de pacientes con infección VIH pertenecientes a parejas serodiscordantes o no, y que precisan la aplicación de técnicas de reproducción asistida, también debe ser analizado a la luz de los actuales conocimientos sobre la epidemiología y la evolución de la infección.

Epidemiología e historia natural de la infección por VIH

Los datos epidemiológicos de grandes poblaciones más recientemente publicados se refieren a los casos de infección por VIH diagnosticados en Estados Unidos hasta 1999⁽¹⁰³⁾. En este registro, la población femenina representa el 23% de los nuevos casos de SIDA y un tercio de los casos registrados en 1999. En este periodo, alrededor del 75% de las mujeres afectadas por la infección por VIH tenían edades comprendidas entre los 13 y los 44 años. Las mujeres constituyen el grupo de población con mayor crecimiento relativo de la infección por VIH, adquirida fundamentalmente por contacto heterosexual (40% de los casos nuevos). En un 32% de las pacientes no se ha identificado una vía probable de infección, aunque un análisis crítico de la mayoría de estos casos revela que aproximadamente dos tercios de las infecciones son atribuibles a contagio sexual. La transmisión por esta vía es especialmente relevante entre las adolescentes. Según el informe de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos que venimos citando, la mitad de los casos de infección por VIH en la edad adolescente proceden de contactos heterosexuales. Por otra parte, las mujeres representan el 49% de todos los casos de infección por VIH entre 13 y 24 años de edad. Tanto el estudio histórico de los

casos registrados, como el de los casos actuales, revela que las tres cuartas partes de las mujeres norteamericanas con SIDA pertenecen a minorías étnicas (principalmente de raza afroamericana e hispana).

La historia natural de la infección es bien conocida. La fase primaria se asocia con una acusada disminución del recuento de linfocitos CD4, elevadas concentraciones de virus en sangre y órganos linfoides y alta tasas de replicación viral. Durante esta fase, el 30-40% de los pacientes experimentan un síndrome inespecífico y oligosintomático, que se manifiesta generalmente entre 2 y 4 semanas después de la exposición al virus, y que usualmente pasa desapercibido⁽¹⁰⁴⁾. Los síntomas se resuelven espontáneamente, y la viremia inicial es contrarrestada parcialmente por la respuesta inmunológica; la calidad y eficacia de esta respuesta inicial presenta una gran variación interindividual, y constituye un buen factor pronóstico de la capacidad de progresión de la enfermedad⁽¹⁰⁵⁾. Los reservorios de linfocitos CD4 infectados aparecen precozmente y se mantienen latentes de forma indefinida. Una vez que la infección se ha establecido, se produce una intensa replicación viral (alrededor de 107 genomas virales diarios, con una vida media de 6 horas)⁽¹⁰⁶⁾. Los virus pueden ser detectados en el tracto genital y en ocasiones presentan características fenotípicas diferentes en relación con los virus presentes en plasma, lo que sugiere que el tracto genital podría comportarse en cierta medida como un compartimiento viral independiente⁽¹⁰⁷⁾.

En relación con la capacidad de progresión de la infección y de la enfermedad ya establecida, estudios recientes revelan que las mujeres presentan cargas virales inferiores en un 30-50% a las detectables en una población masculina con el mismo nivel de linfocitos CD4^(108,109). A pesar de este hecho, que podría indicar una menor tendencia al desarrollo de la enfermedad, las mujeres experimentan un descenso más rápido de la población de linfocitos CD4 y una mayor precocidad en la progresión de la infección a enfermedad clínica, comparadas con poblaciones masculinas con similar carga viral, edad y raza⁽¹¹⁰⁾.

Aunque los individuos infectados pueden permanecer asintomáticos durante décadas, en ausencia de tratamiento se produce una destrucción constante de linfocitos CD4, cuyo recuento desciende a un ritmo de 50/mm³ cada año. Las concentraciones plasmáticas de RNA viral permanecen relativamente estables hasta que el recuento de CD4 se mantiene por encima de 200/mm³. Cuando se reducen por debajo de este límite, la carga viral comienza a crecer exponencialmente y se manifiestan los síntomas y signos inespecíficos originados por la inmunodepresión, y que en las fases finales del proceso incluyen infecciones oportunistas característicamente relacionadas con el SIDA, neoplasias malignas y complicaciones neurológicas⁽¹¹¹⁾. En ausencia de tratamientos específicos ni profilaxis, la duración media del periodo transcurrido entre la infección por el virus y el diagnóstico de la enfermedad es de 10 años, y los pacientes sobreviven un promedio de 12 meses desde la aparición de alguno de los procesos clínicos considerados como diagnósticos de SIDA⁽¹¹²⁾.

Efectos de los avances terapéuticos

El conocimiento de la dinámica de la replicación viral y de la gran mutabilidad de VIH ha permitido el diseño de nuevas drogas y pautas de tratamiento más eficaces. En la actualidad existe diversos agentes antivirales que se agrupan en tres grandes clases: inhibidores de la transcriptasa inversa nucleósidos, inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos e inhibidores de las proteasas. El uso de antivirales en régimen de monoterapia consigue una reducción transitoria de la carga viral, pero pierde rápidamente su eficacia en este cometido como consecuencia de la capacidad del virus para mutar y adquirir resistencia a la acción de la droga. Los principios actuales del tratamiento antirretroviral se basan en la combinación de agentes de diferentes clases con el fin de suprimir al máximo la replicación viral, prevenir o reducir la aparición de variedades resistentes del virus y mejorar la respuesta inmune cualitativa y cuantitativamente⁽¹¹³⁾. Los datos epidemiológicos pusieron de manifiesto la eficacia de este modelo de tratamiento, registrando un descenso en la mortalidad por SIDA en Estados Unidos del 23% en 1996, y otro adicional del 47% en 1997^(113,114). Paralelamente, las necesidades de hospitalización de pacientes se han reducido en un 50% y en incidencia de complicaciones de la infección ha disminuido en un 80%⁽¹¹⁵⁾.

Prevención de la transmisión perinatal

Uno de los hitos en la lucha contra la infección por VIH fue sin duda la publicación de los resultados del ensayo clínico colaborativo promovido por el *Pediatric AIDS Clinical Trials Group* (PACTG 076), que reveló la existencia de diferencias estadísticamente significativas en la tasa de transmisión vertical de la infección por VIH en una muestra de gestantes tratadas con AZT al compararla con el grupo control tratado con placebo⁽¹¹⁶⁾. Este estudio se basó en la administración a la madre de AZT desde la 14ª semana de gestación y durante el parto, más el tratamiento al recién nacido durante las primeras seis semanas de vida. La transmisión vertical se redujo en un 66% (22,6% en el grupo control frente a 7,6% en el grupo tratado)^(116,117). Todas las pacientes participantes en el ensayo presentaban recuentos de linfocitos CD4 superiores a los críticos de 200/mm³. Estudios posteriores han confirmado la efectividad de este tratamiento en pacientes afectadas por fases más avanzadas de la enfermedad, y expuestas con anterioridad a AZT, en las que se obtuvieron tasas de transmisión vertical bajo tratamiento del 3-5%⁽¹¹⁸⁾. Como resultado de estas publicaciones, la profilaxis prenatal e intraparto con AZT se generalizó en los países desarrollados, y recientes datos revelan que su uso ha permitido reducir la cifra de niños infectados en un 80% entre 1992 y 1997⁽¹¹⁹⁾.

Algunas publicaciones posteriores evidencian que pautas de tratamiento de menor duración son igualmente eficaces en la reducción de la transmisión vertical del VIH. Un estudio realizado con población tailandesa reveló que la administración de AZT desde la 36ª semana de gestación y durante el parto (por vía oral) reducía la transmisión de un 19% observado en el grupo control a un 9% en el grupo tratado⁽¹²⁰⁾. En el estudio PETRA, rea-

lizado en el continente africano, la administración conjunta de AZT y lamivudina (3TC) según una pauta similar a la ya mencionada, y seguida de la administración oral a la madre y al recién nacido durante la primera semana de puerperio redujo la transmisión del 17% al 9%, sin prohibición de la lactancia materna⁽¹²¹⁾.

También se ha comprobado la eficacia de pautas de tratamiento que se inician con el parto ya en curso y sin antecedente de profilaxis durante la gestación. En el estudio PETRA, la administración combinada de AZT y 3CT iniciada durante el parto y en paciente sin tratamiento previo se asoció a un descenso de la tasa de transmisión del 38% en comparación con el placebo⁽¹²¹⁾. El análisis de los datos epidemiológicos del estudio PACTG 076 sugieren que las fases de administración intra y postparto de la AZT (sin considerar la administración prenatal) reducirían el riesgo de transmisión en un 62% en comparación con el placebo⁽¹²²⁾. En este mismo sentido, los resultados del estudio HIV-NET 012, desarrollado en Uganda, han demostrado que una dosis de nevirapina administrada al inicio del parto más otra administración al recién nacido durante las primeras 72 horas de vida reduce en un 47% el riesgo de transmisión, en comparación con la administración de AZT durante el parto y a lo largo de la primera semana de vida neonatal⁽¹²³⁾.

En caso de que no se haya administrado ningún tipo de profilaxis intraparto, algunos autores propugnan que el comienzo de la profilaxis con AZT durante las primeras 48 horas de vida del recién nacido puede ser capaz de reducir hasta en un 50% el riesgo de infección vertical con respecto a la población no tratada⁽¹²²⁾.

La carga viral se correlaciona claramente con el riesgo de transmisión tanto en mujeres sometidas a profilaxis como no tratadas^(117,124,125). La transmisión se considera excepcional cuando la carga viral materna es muy baja o indetectable⁽¹²⁶⁾, lo que fundamenta el uso de los agentes antirretrovirales. En el ensayo tailandés, los niveles de carga viral hallados en plasma y en el exudado cérvico-vaginal descendieron bajo el efecto de la AZT, y ambos se correlacionaron como variables independientes con el riesgo de transmisión⁽¹²⁷⁾. Sin embargo, éste ha sido descrito en presencia de cualquier nivel de carga viral, y no existe ninguna cantidad crítica de RNA viral en plasma o secreciones maternas por debajo de la cual pueda ser excluida la transmisión. Otras variables que han sido asociadas con un posible incremento del riesgo son las enfermedades de transmisión sexual con inclusión de la vaginosis bacteriana⁽¹²⁸⁻¹³⁰⁾, las toxicomanías⁽¹³¹⁾, el consumo de tabaco⁽¹³²⁾, la prematuridad⁽¹³³⁾, las técnicas invasivas de monitorización fetal intraparto⁽¹²⁸⁾, la infección amniótica⁽¹³⁴⁾ y la duración de la amniorrhexis⁽¹³⁵⁾.

La influencia de la vía del parto sobre el riesgo de transmisión está siendo ampliamente analizada. Diversos estudios indican que la realización de una cesárea electiva antes del inicio del parto y con membranas íntegras reduce significativamente el riesgo de transmisión, que se limita al 2%^(136,137). Aplicando conjuntamente la cesárea electiva y la profila-

xis farmacológica con AZT, el riesgo de transmisión se reduce en la población general infectada por VIH a niveles propios de las pacientes con viremia inferior a 1000 copias de RNA/ml^(124,125). No se conoce si la cesárea podría proporcionar algún beneficio adicional a las pacientes con bajos niveles de viremia o sometidas a la profilaxis correctamente administrada, por lo que las recomendaciones internacionales actualmente en vigor aconsejan informar a la paciente de las ventajas potenciales de la cesárea electiva y de la morbilidad asociada a dicha intervención⁽¹³⁸⁾. A pesar de ello, las recomendaciones de las revisiones sistemáticas de la evidencia más recientes sostienen la conveniencia de realizar la cesárea electiva en virtud de las conclusiones del estudio europeo MOD. La cesárea electiva debe ser planeada a la 38ª semana de gestación, para reducir el riesgo de inicio espontáneo de trabajo de parto y de amniorrexis espontánea.

Si se acepta la vía alta, la cesárea electiva debe ser planeada a la 38ª semana de gestación, para reducir el riesgo de inicio espontáneo de trabajo de parto y de amniorrexis espontánea⁽¹³⁹⁾.

Infección por VIH y fertilidad

Existen datos que soportan la hipótesis de que la infección por VIH podría tener efectos nocivos sobre la fertilidad^(140,141). Por otra parte, hasta hace pocos años las pacientes infectadas por VIH –incluso nulíparas– recibían recomendaciones favorables a la esterilización tubárica y a la interrupción voluntaria de la gestación. Estas prácticas han contribuido sin duda a incrementar la prevalencia de la esterilidad en esta población como consecuencia de factores yatrógenos, no relacionados con la acción biológica del virus.

La fertilidad de los varones infectados por VIH puede verse afectada por una disminución en la función testicular, expresada tanto por la disminución de testosterona como por el aumento de globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG)⁽¹⁴²⁾. Por otro lado, se ha descrito el empeoramiento progresivo de los parámetros seminales de los eyaculados de varones infectados a medida que progresa el deterioro inmunológico y la enfermedad clínica⁽¹⁴³⁾, constatándose reducción en el recuento espermático, la motilidad y el porcentaje de formas normales^(143,144). La aplicación de tratamiento antirretroviral se ha asociado a disminución del recuento de leucocitos presentes en semen y a una mejoría de la calidad seminal⁽¹⁴⁴⁾.

Por otra parte, las enfermedades de transmisión sexual, más prevalentes entre las mujeres afectadas por la infección, tienen efectos desfavorables sobre la fertilidad bien conocidos. El antecedente de enfermedad de transmisión sexual es más frecuente en la población VIH positiva, probablemente como consecuencia de la mayor frecuencia de prácticas sexuales de riesgo observada en este colectivo, y del factor de riesgo para la infección VIH que supone la propia existencia de infecciones adquiridas por contacto sexual, tanto ulcerativas como no ulcerativas⁽¹⁴⁵⁾. Sin embargo, los estudios de prevalencia de enfer-

medades de transmisión sexual en curso realizado en la población seropositiva no han puesto de manifiesto un incremento significativo con respecto a la frecuencia descrita para la población general^(146,147). Algunos autores han descrito un incremento del riesgo de presentar infección por VIH entre la población de pacientes diagnosticadas de enfermedad inflamatoria pélvica, lo que probablemente sugiere un aumento de la susceptibilidad para adquirir este trastorno asociado a la infección por VIH⁽¹⁴⁸⁻¹⁵⁰⁾.

Otros factores, asociados con cierta frecuencia a la infección por VIH, tienen efectos negativos conocidos sobre la fertilidad masculina y femenina. Entre ellos cabe citar el abuso de sustancias, como el consumo de alcohol, marihuana, cocaína, y opiáceos (especialmente heroína).

Efecto de la gestación sobre la infección por VIH

Durante el embarazo existe una disminución de la concentración de linfocitos CD4 independiente de la infección VIH y debida a la hemodilución gestacional. El porcentaje de CD4 permanece relativamente estable y no se han detectado diferencias entre la población general y las gestantes seropositivas frente a VIH⁽¹⁵¹⁾. La carga viral no experimenta modificaciones sustanciales a lo largo de la gestación en pacientes infectadas⁽¹⁵²⁾. En un metaanálisis sobre el pronóstico de la gestación en pacientes con infección, no se han hallado incrementos significativos en la frecuencia de muerte materna, desarrollo de la enfermedad, progresión de las entidades diagnósticas de SIDA o disminución del recuento de linfocitos CD4 por debajo de 200/ml⁽¹⁵³⁾. Estos hallazgos permiten afirmar que la gestación no ejerce un efecto desfavorable sobre el curso de la infección por VIH.

Efecto de la infección VIH sobre la gestación

Los acontecimientos adversos en el curso de la gestación de pacientes con infección por VIH suelen suceder como consecuencia de condiciones subyacentes a la propia infección, o de su tratamiento. Un metaanálisis destinado a evaluar este aspecto sugiere que la infección por VIH, especialmente en fases avanzadas, incrementa el riesgo obstétrico, y en concreto la probabilidad de parto pretérmino, bajo peso al nacimiento, crecimiento intrauterino retardado y aborto espontáneo, aunque los datos de los estudios analizados no pueden considerarse concluyentes⁽¹⁵⁴⁾. El riesgo de parto prematuro debido al tratamiento antirretroviral durante la gestación apuntado por las primeras publicaciones no se ha visto confirmado por los resultados de ulteriores estudios.

Riesgos de la terapia antirretroviral

La zidovudina o AZT es el agente más comúnmente administrado durante la gestación como profilaxis de la transmisión vertical y el mejor conocido. En el ensayo PACTG 076 se observó una tendencia a la aparición de anemia en los recién nacidos expuestos a AZT intraútero como único efecto relevante. En todos los casos, se trataba de anemia leve que se resolvía espontáneamente y sin necesidad de transfusión. Tampoco se ha evidenciado un incremento de la frecuencia de anomalías congénitas entre los niños expuestos a AZT

durante el periodo gestacional⁽¹¹⁶⁾. El seguimiento a largo plazo no ha revelado ningún efecto desfavorable del tratamiento con AZT sobre el crecimiento, el desarrollo neurológico y la inmunocompetencia de estos niños⁽¹⁵⁵⁾. En otro estudio longitudinal de alrededor de 700 niños con exposición gestacional a AZT no se ha observado incremento de la incidencia de tumores malignos hasta los seis años de edad⁽¹⁵⁶⁾.

Otros antivirales han demostrado mayor capacidad de producir efectos colaterales en estudios animales. El efavirenz, un potente inhibidor no nucleósido de la transcriptasa inversa ha mostrado efectos teratogénicos en modelos animales, a dosis equivalentes a las necesarias en terapia humana. La hidroxiurea, que no es un agente propiamente antiviral, ha formado parte como adyuvante de muchos esquemas clásicos de terapia combinada. Aunque la experiencia de sus efectos teratogénicos en humanos es muy limitada, se considera un teratógeno universal con capacidad para inducir malformaciones confirmada en muchas especies. El indanavir, un agente perteneciente al grupo de los inhibidores de las proteasas, se ha relacionado con casos de hiperbilirrubinemia y litiasis renal fetal⁽¹¹¹⁾. En consecuencia, estos tres fármacos deberían ser excluidos de futuros diseños de terapia combinada.

Una de las hipotéticas complicaciones del uso de los antirretrovirales más discutidas ha sido el posible incremento del riesgo de parto pretérmino. Este temor fue suscitado por los resultados de una pequeña serie clínica retrospectiva⁽¹¹¹⁾, que no han sido confirmados posteriormente. Por el contrario, la mayor parte de los estudios diseñados según el esquema del protocolo PACTG 076 han observado tasas de parto pretérmino en los grupos de pacientes tratadas con AZT similares o inferiores a las registradas en los grupos control^(155,157).

Otro de los riesgos aducidos en contra del tratamiento antiviral durante las gestaciones es el desarrollo de enfermedades por disfunción mitocondrial que ha derivado en dos casos en trastornos neurológicos severos⁽¹⁵⁸⁾. Estudios posteriores, efectuados a grandes grupos de población tratada y no tratada, no han encontrado evidencia de disfunción mitocondrial ni de incremento de alteraciones neurológicas severas en relación con el uso de AZT⁽¹¹¹⁾.

Riesgos para los trabajadores sanitarios y de contaminación cruzada

El riesgo estimado de transmisión de la infección por VIH derivado de una punción accidental con aguja es del 0,03%⁽¹⁵⁹⁾, por lo que puede considerarse bajo en relación con la probabilidad de contraer la infección por virus de la hepatitis B (30%) después de una exposición percutánea a sangre de un paciente con AgHBe⁽¹⁶⁰⁾, o de adquirir la infección por virus de la hepatitis C por la misma vía (2-10%)^(161,162). El riesgo de contagio derivado de la exposición mucocutánea al VIH es aproximadamente del 0,09%⁽¹⁶²⁾, y en relación con la exposición profesional a fluidos biológicos o tejidos no existen datos disponibles.

No existe evidencia de contaminación cruzada con VIH relacionada con procedimientos de laboratorio clínico si se observan las medidas de precaución preceptivas. Sin embargo, muchos

programas de reproducción asistida y algunas normativas oficiales han establecido serias limitaciones para la aplicación de tratamiento a pacientes con infección, invocando los casos registrados de contaminación cruzada con virus de la hepatitis B y C y las consecuencias de la infección por VIH⁽³⁻⁶⁾. En casos de exposición accidental al VIH, el tratamiento con AZT ha mostrado eficacia para reducir el riesgo de infección⁽¹⁶³⁾. Los criterios actuales son la utilización de una profilaxis postexposición constituida por la combinación de dos o tres agentes antoretrovirales, que debe iniciarse de forma inmediata y mantenerse durante 4 semanas⁽¹⁶⁴⁾.

Actitud ante parejas serodiscordantes

En caso de las parejas serodiscordantes con la mujer infectada, debe recomendarse el uso de la inseminación artificial. Resulta más problemático el tratamiento de parejas constituidas por mujeres seronegativas y hombres infectados. En estos casos, es necesario informar de que no existen procedimientos para evitar la transmisión de la infección con eficacia garantizada, con la excepción de la inseminación con semen de donante. No obstante, sí se dispone de técnicas que pueden reducir el riesgo a niveles muy bajos:

- La reducción de la carga viral mediante tratamiento antiviral hasta niveles indetectables debería reducir el riesgo de transmisión sexual, que se ha relacionado con la intensidad de la viremia⁽¹⁶⁵⁾. No obstante, no existe correlación entre la carga viral plasmática y seminal, y es posible detectar el virus en el tracto genital de pacientes sin viremia⁽¹¹¹⁾.
- Las técnicas de lavado y fraccionamiento seminal destinadas a reducir la cantidad de virus presente en semen fueron empleadas por Semprini⁽¹⁶⁶⁾ en una serie extensa de pacientes en los que se aplicó este procedimiento para el tratamiento de 350 parejas serodiscordantes a lo largo de más de 1.000 ciclos de inseminación artificial, con el resultado de 200 gestaciones y sin ningún caso de seroconversión de la mujer ni de infección vertical. Este autor propugna el fraccionamiento seminal mediante técnicas de centrifugación en gradientes de densidad, la congelación de la suspensión espermática resultante y el uso del plasma seminal para la detección mediante PCR del VIH; la negatividad de esta prueba se considera necesaria para el uso de los gametos previamente criopreservados con fines terapéuticos. Estudios posteriores realizados en España han obtenido resultados similares^(41,42). Otros autores han determinado que estas técnicas son eficaces en la reducción del RNA extracelular y del DNA proviral por debajo de los límites de detección, pero no en todos los casos^(167,168). Por este motivo, la aplicación sistemática de PCR antes del uso terapéutico de los gametos de estos pacientes resulta obligada (Tablas 3 y 4). Por otra parte, no está bien establecida la probabilidad de que el virus pueda servirse de las células germinales como vehículo y ser transmitido por un espermatozoide que lo contenga^(169,170).
- Recientes estudios ponen de manifiesto que la seguridad del procedimiento puede verse incrementada con el uso sistemático de técnicas de PCR anidada para la detección de la presencia de VIH⁽¹⁷²⁾. La elevada seguridad del procedimiento de depuración de VIH, establecida mediante la acumulación de series de tratamiento sin seroconversiones maternas ni neonatales, ha fundamentado propuestas aisladas de utilización de espermatozoi-

Tabla 3. Estudios de efectividad de eliminación de VIH mediante lavado seminal

Estudio	Población	Método	Resultados
Hanabusa 2000	12 hemofílicos VIH-1 + Recuento medio de CD4 328x10 ⁶ /ml	Gradientes densidad Swim-up Adición de 5x10 ⁶ copias ARN y evaluación	11/12 negativos con gradientes 12/12 con ambas técnicas Reducción de carga viral en semen infectado experimentalmente
Kim 1999	11 homosexuales VIH +	Gradientes densidad Swim-up	11/11 negativos 10/11 casos con ADN proviral en semen total
Pasquier 2000	32 varones VIH + asintomáticos Recuento medio de CD4 329x10 ⁶ /ml Recuento medio de copias ARN 414/ml	Gradientes densidad Swim-up	14 muestras seminales positivas 20% de plasmas seminales + tras fraccionar 100% de fracciones espermáticas analizadas negativas
Chrystie 1998	12 varones VIH - 20 varones VIH +	Percoll 2 fases+Swim up Percoll 3 fases+Swim up Ficoll+ Swim up	Reducción de carga viral a niveles indetectables. Mayor eficacia de Percoll
Leurez-Ville 2002	125 varones seropositivos	Gradientes densidad+ Swim-up PCR	RNA viral positivo: 6,4% DNA proviral positivo: 1,6% Aumento de la probabilidad de detección seminal con carga viral >10.000 copias/ml Ausencia de detección con viremia negativa
Meseguer 2002	41 varones seropositivos	Gradientes densidad+ Swim-up PCR PCR anidada	7 muestras positivas con nPCR y negativas con PCR convencional
Bujan 2004	94 varones seropositivos	Gradientes densidad+ Swim-up PCR/RT-PCR	14% plasmas seminales VIH + 8,7% fracciones celulares VIH + Fracciones espermáticas negativas. 10 muestras PCR+ con carga viral hemática indetectable. Incremento de la presencia de genoma viral en células seminales relacionado con leucitospermia y presencia de RNA viral en plasma seminal. Excreción viral intermitente en el 25% de los casos. 10% de casos con carga viral negativa en plasma seminal presentan genoma viral celular.

des de pacientes infectados por VIH para la aplicación de ICSI sin verificación de la negatividad frente a productos virales de la suspensión espermática obtenida mediante doble fraccionamiento seminal frente, aunque los propios autores de este estudio reconocen que no existe base actual para recomendar la generalización de esta conducta⁽¹⁷³⁾.

Tabla 4. Estudios de eficacia y seguridad del lavado seminal aplicado en TRA

Estudio	Población	Método	Resultados
Semprini 1992	29 parejas serodiscordantes varón seropositivo REM > 1,5x10 ⁶	Gradientes densidad+ Swim-up Detección de VIH mediante inmunofluorescencia indirecta Tratamiento con IAC	Ausencia de seroconversión en más de 50 ciclos
Semprini 1997	350 parejas serodiscordantes	Gradientes densidad+ Swim-up PCR IAC	>1.000 ciclos de IAC 200 nacidos sanos No seroconversiones
Marina 1998	63 parejas serodiscordantes	Gradientes densidad+ Swim-up PCR IAC	107 muestras lavadas 94,4% negativas 100 ciclos 31 gestaciones y 28 partos No seroconversiones
Marina 2001	332 varones seropositivos	Gradientes densidad+ Swim-up PCR frente a ADN y ARN IAC o FIV-ICSI	96,4% muestras negativas 233 pacientes 458 ciclos 116 gestaciones y 86 partos No seroconversiones
Veiga 1999	75 parejas serodiscordantes	Gradientes densidad+ Swim-up Detección de VIH mediante inmunofluorescencia indirecta Tratamiento con IAC-FIV-ICSI	75 pacientes 171 ciclos 36 gestaciones 21 partos No seroconversiones
Loutradis 2001	350 parejas serodiscordantes	Gradientes densidad+ Swim-up PCR Tratamiento con FIV-ICSI	2 ciclos de tratamiento 2 gestaciones No seroconversiones Se propone ICSI sistemático
Garrido 2004	134 parejas serodiscordantes (varones seropositivos VIH y/o VHC)	Gradientes densidad+ Swim-up PCR anidada Tratamiento con ICSI	VIH: 7,7% muestras + VIH+VHC: 11,5% VIH+, 11% VHC + VHC: 6,7% VHC+ 124 ciclos 41 gestaciones 23 neonatos No seroconversiones
Mencaglia 2005	43 parejas serodiscordantes (varones seropositivos VIH y/o VHC)	Gradientes densidad +Swim-up Tratamiento con ICSI	78 ciclos de tratamiento 22 gestaciones 23 neonatos No seroconversiones

Consideraciones finales

Una de las razones clásicamente aducidas para justificar la negativa a aplicar técnicas de reproducción asistida a pacientes con infección por VIH es la posibilidad de transmisión vertical. Como se ha argumentado, la probabilidad puede ser reducida actualmente a un 2% combinando el tratamiento antirretroviral con el uso de la cesárea electiva.

Por otra parte, también se ha argumentado que la reducción de la esperanza de vida de los padres, determinada por las consecuencias de la infección, determinaría una falta de atención adecuada de estos niños, sometidos a un alto riesgo de orfandad prematura. En la actualidad, el uso de la terapia antirretroviral de alta intensidad prolonga de forma muy significativa la supervivencia de estos pacientes, por lo que estas razones deberían ser reconsideradas.

La probabilidad de la extensión de la infección a la mujer seronegativa, o a la posible descendencia parece escasa si se aplican técnicas de reproducción asistida a una población masculina seropositiva seleccionada mediante la investigación de la presencia de VIH después de realizar fraccionamiento seminal.

Otro de los riesgos argüidos es la posibilidad de transmisión accidental durante el proceso de tratamiento de gametos y embriones en el laboratorio de reproducción asistida, bien al personal del mismo o bien a las células germinales o embrionarias de pacientes no infectados. No existen antecedentes conocidos de transmisión de la infección en el transcurso de la aplicación de tratamientos de reproducción asistida; las posibilidades teóricas estimadas por analogía con los casos registrados para el virus de la hepatitis B y C son probablemente mayores que las reales, considerando la mayor tasa de transmisión de los últimos en relación con el VIH. No obstante, debe subrayarse la necesidad de desarrollar, en condiciones de seguridad biológica, cualquier tratamiento que implique el manejo de productos biológicos potencialmente infectivos.

Finalmente, se han invocado los principios de equidad y beneficencia para sustentar actitudes proclives a la aplicación de estos tratamientos a individuos infectados:

- Apelando al primero de ellos, se sostiene que en la actualidad, la infección VIH se puede considerar una enfermedad crónica compatible con una supervivencia prolongada bajo tratamiento y cuyo riesgo de transmisión vertical se estima en un 2%. Aun admitiendo que la transmisión de la infección conlleva graves consecuencias, se argumenta que no debe impedirse el acceso de estas pacientes a los programas de reproducción asistida por razones similares a las que permiten no excluir de dichos tratamientos a pacientes portadoras de riesgo genético que conlleve una probabilidad similar de transmitir a la descendencia algún defecto grave.
- El principio de beneficencia, referido a la producción del mayor beneficio posible con el menor riesgo de causar perjuicio, debe regir cualquier actuación médica. En este sentido, se aduce que la aplicación de técnicas de reproducción asistida no debe ser electiva siempre que exista riesgo de transmisión horizontal y vertical, ya que resulta más segura que el propio proceso de reproducción natural, al que pueden verse abocados muchos pacientes no estériles y no estériles en caso de que se les niegue el acceso a estos tratamientos.

Las técnicas de fraccionamiento y lavado seminal eliminan o reducen la carga viral del eyaculado.	A
Para poder utilizar las muestras de varones VIH (+) tras el lavado seminal es preceptivo realizar una determinación de carga viral en la muestra resultante.	RSAA
Las técnicas de fraccionamiento y lavado seminal combinadas con la determinación de la carga viral disponibles en la actualidad representan una alternativa reproductiva razonablemente segura para las parejas en las que el varón es VIH (+).	C
A todo varón VIH (+) con deseo reproductivo debería podersele ofertar el lavado seminal con PCR en la muestra resultante.	RSAA
Las mujeres seropositivas pueden ser incluidas en los programas de TRA, ya que el riesgo de transmisión vertical es muy bajo si se utilizan los tratamiento antirretrovirales adecuados y el correspondiente manejo obstétrico.	RSAA
El manejo de gametos de pacientes VIH (+) requiere inexcusablemente la utilización de procedimientos de seguridad biológica en el laboratorio para poder evitar el riesgo de transmisión cruzada a otras muestras.	RSAA

BIBLIOGRAFÍA

1. Abusheikha N, Akagbosu F, Marcus S, Lass A, Cousins C, Brinsden P. Viral screening and assisted conception treatment—the Bourn Hall experience. *J Assist Reprod Genet* 1999; 16: 337-9.
2. The proposed position statement on the preliminary screening of hepatitis B and hepatitis C of tentative intra-couple medically assisted reproduction. The BLEFCO Federation. *Contracept Fertil Sex* 1997; 25: 313-24.
3. Solidarité MdEedl. Loi no. 94-654, Journal Officiel du 30-7-1994, pp 11059 relative au Don en a l'utilissation des éléments et produits du corps humain, a l'Assistance Médicale à la Procreation et au Diagnostic Prenatal. *J Offic Répub Franç* 1994.
4. Solidarité MdEedl. Arrêté du 12-1-1999, Journal Officiel du 28-2-99 relatif aux règles de Bonnes Pratiques cliniques et biologiques en Assistance Médicale a la Procréation. *J Offic Répub Franç* 1999; 50: 3061-9.
5. Ministerio de Sanidad y Consumo. Ley 35/1988 de 22 de Noviembre sobre Técnicas de Reproducción Asistida. *Boletín Oficial del Estado* 1988; 1988: 33373-33378.
6. Ministerio de Sanidad y Consumo. Real Decreto 412/1996, de 1 de marzo, por el que se establecen los protocolos obligatorios de estudio de los donantes y usuarios relacionados con las técnicas de reproducción humana asistida y se regula la creación y organización del Registro Nacional de Donantes de Gametos y Preembriones con fines de reproducción humana. *Boletín Oficial del Estado* 1996; 1996: 11253-6.
7. Touzet S, Kraemer L, Colin C, Pradat P, Lanoir D, Bailly F, et al. Epidemiology of hepatitis C virus infection in seven European Union countries: a critical analysis of the literature. HENCORE Group. (Hepatitis C European Network for Co-operative Research). *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12: 667-78.
8. Alvarado-Ramy F, Alter MJ, Bower W, Henderson DK, Sohn AH, Sinkowitz-Cochran RL, Jarvis WR. Management of occupational exposures to hepatitis C virus: current practice and controversies. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22: 53-5.
9. Liddle C. Hepatitis C. *Anaesth Intensive Care* 1996; 24: 180-3.
10. Mohsen AH, Group TH; Trent HCV Study Group. The epidemiology of hepatitis C in a UK health regional population of 5.12 million. *Gut* 2001; 48: 707-13.

11. Dienstag JL. Sexual and perinatal transmission of hepatitis C. *Hepatology* 1997; 26: 66S-70S.
12. Salleras L, Bruguera M, Vidal J, Plans P, Dominguez A, Salleras M, Navas E, Gali N. Importance of sexual transmission of hepatitis C virus in seropositive pregnant women: a case-control study. *J Med Virol* 1997; 52:164-7.
13. Chang MH. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Clin Invest Med* 1996; 19: 368-72.
14. Hsu HH, Wright TL, Luba D, Martin M, Feinstone SM, Garcia G, Greenberg HB. Failure to detect hepatitis C virus genome in human secretions with the polymerase chain reaction. *Hepatology* 1991; 14: 763-7.
15. Fried MW, Shindo M, Fong TL, Fox PC, Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM. Absence of hepatitis C viral RNA from saliva and semen of patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1992; 102: 1306-8.
16. Hershov RC, Riester KA, Lew J, Quinn TC, Mofenson LM, Davenny K, Landesman S, Cotton D, Hanson IC, Hillyer GV, Tang HB, Thomas DL. Increased vertical transmission of human immunodeficiency virus from hepatitis C virus-coinfected mothers. Women and Infants Transmission Study. *J Infect Dis* 1997; 176: 414-20.
17. Hunt CM, Carson KL, Sharara AI. Hepatitis C in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1997; 89: 883-90.
18. Conte D, Fraquelli M, Prati D, Colucci A, Minola E. Prevalence and clinical course of chronic hepatitis C virus (HCV) infection and rate of HCV vertical transmission in a cohort of 15,250 pregnant women. *Hepatology* 2000; 31: 751-5.
19. Roudot-Thoraval F, Pawlowsky JM, Thiers V, Deforges L, Girollet PP, Guillot F, Huraux C, Aumont P, Brechot C, Dhumeaux D. Lack of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus in human immunodeficiency virus-seronegative women: a prospective study with hepatitis C virus RNA testing. *Hepatology* 1993; 17: 772-7.
20. Ohto H, Terazawa S, Sasaki N, Hino K, Ishiwata C, Kako M, Ujije N, Endo C, Matsui A, et al. Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants. The Vertical Transmission of Hepatitis C Virus Collaborative Study Group. *N Engl J Med* 1994; 330: 744-50.
21. Halfon P, Quentin Y, Roquelaure B, Sarles J, Halimi G, Gerolami V, Khiri H, Bourliere M, Cartouzou G. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus: molecular evidence of superinfection by homologous virus in children. *J Hepatol* 1999; 30: 970-8.
22. Neuspiller F, Ardiles G, Requena A, García-Velasco J, Pellicer A, Remohí J. Actitud frente a situaciones especiales. In: Remohí J, Romero JL, Pellicer A, Simón C, Navarro J, eds. Manual práctico de esterilidad y reproducción humana. Madrid: Mc Graw-Hill/Interamericana, 2000: 129-50.
23. Mastromatteo AM, Rapaccini GL, Pompili M, Ursino S, Romano-Spica V, Gasbarrini G, Vanini G. Hepatitis C virus infection: other biological fluids than blood may be responsible for intrafamilial spread. *Hepato-gastroenterology* 2001; 48: 193-6.
24. Duffaut M, Valla D. Assisted reproduction and hepatitis C virus infection. *Contracept Fertil Sex* 1997; 25: 534-7.
25. Lesourd F, Izopet J, Mervan C, Payen JL, Sandres K, Monrozies X, Parinaud J. Transmissions of hepatitis C virus during the ancillary procedures for assisted conception. *Hum Reprod* 2000; 15: 1083-5.
26. Liou TC, Chang TT, Young KC, Lin XZ, Lin CY, Wu HL. Detection of HCV RNA in saliva, urine, seminal fluid, and ascites. *J Med Virol* 1992; 37:197-202.
27. McKee TA, Avery S, Majid A, Brinsden PR. Risks for transmission of hepatitis C virus during artificial insemination. *Fertil Steril* 1996; 66:161-3.
28. Terada S, Kawanishi K, Katayama K. Minimal hepatitis C infectivity in semen. *Ann Intern Med* 1992; 117:171-2.
29. Fiore RJ, Potenza D, Monno L, Appice A, DiStefano M, Giannelli A, LaGrasta L, Romanelli C, DiBari C, Pastore G. Detection of HCV RNA in serum and seminal fluid from HIV-1 co-infected intravenous drug addicts. *J Med Virol* 1995; 46: 364-7.
30. Tang Z, Yang D, Hao L, Huang Y, Wang S. Detection and significance of HCV RNA in saliva, seminal fluid and vaginal discharge in patients with hepatitis C. *J Tongji Med Univ* 1996; 16: 11-3.
31. Caldwell SH, Sue M, Bowden JH, Dickson RC, Driscoll CJ, Yeaton P, Stevenson WC, Ishitani MB, McCullough CS, Pruett TL, Lovell MA. Hepatitis C virus in body fluids after liver transplantation. *Liver Transpl Surg* 1996; 2: 124-9.
32. Semprini AE, Persico T, Thiers V, Oneta M, Tuveri R, Serafini P, Boschini A, Giuntelli S, Pardi G, Brechot C. Absence of hepatitis C virus and detection of hepatitis G virus/GB virus C RNA sequences in the semen of infected men. *J Infect Dis* 1998; 177: 848-54.
33. Hollingsworth RC, Jameson CL, Minton JE, Crowe M, Curran R, Rowe T, Grabowska AM, Pillay D, Irving WL, Ball JK. GBV-C/HGV coinfection in HIV-1-positive men: frequent detection of viral RNA in blood plasma but absence from seminal fluid plasma. *J Med Virol* 1998; 56: 321-6.

34. Pasquier C, Daudin M, Righi L, Berges L, Thauvin L, Berrebi A, Massip P, Puel J, Bujan L, Izopet J. Sperm washing and virus nucleic acid detection to reduce HIV and hepatitis C virus transmission in serodiscordant couples wishing to have children. *AIDS* 2000; 14: 2093-9.
35. Debono E, Halfon P, Bourliere M, Gerolami-Santandrea V, Gastaldi M, Castellani P, Cartouzou G, Botta-Fridlund D, Cau P, Gauthier A. Absence of hepatitis C genome in semen of infected men by polymerase chain reaction, branched DNA and in situ hybridization. *Liver* 2000; 20: 257-61.
36. Levy R, Tardy JC, Bourlet T, Cordonier H, Mion F, Lornage J, Guerin JF. Transmission risk of hepatitis C virus in assisted reproductive techniques. *Hum Reprod* 2000; 15: 810-6.
37. Lereuz-Ville M, Kunstmann JM, De Almeida M, Rouzioux C, Chaix ML. Detection of hepatitis C virus in the semen of infected men. *Lancet* 2000; 356: 42-3.
38. De Vos A, Nagy ZP, Van de Velde H, Joris H, Bocken G, Van Steirteghem A. Percoll gradient centrifugation can be omitted in sperm preparation for intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1997; 12:1980-4.
39. Levy R, Najjioullah F, Keppi B, Thouvenot D, Bosshard S, Lornage J, Lina B, Guerin JF, Aymard M. Detection of cytomegalovirus in semen from a population of men seeking infertility evaluation. *Fertil Steril* 1997; 68: 820-5.
40. Levy R, Layani-Milon MP, Giscard D'Estaing S, Najjioullah F, Lornage J, Aymard M, Lina B. Screening for Chlamydia trachomatis and Ureaplasma urealyticum infection in semen from asymptomatic male partners of infertile couples prior to in vitro fertilization. *Int J Androl* 1999; 22:113-8.
41. Marina S, Marina F, Alcolea R, Nadal J, Exposito R, Huguot J. Pregnancy following intracytoplasmic sperm injection from an HIV-1-seropositive man. *Hum Reprod* 1998; 13: 3247-9.
42. Marina S, Marina F, Alcolea R, Exposito R, Huguot J, Nadal J, Verges A. Human immunodeficiency virus type 1—serodiscordant couples can bear healthy children after undergoing intrauterine insemination. *Fertil Steril* 1998; 70: 35-9.
43. Roudot-Thoraval F, Bastie A, Pawlowsky JM, Dhumeaux D. Epidemiological factors affecting the severity of hepatitis C virus-related liver disease: a French survey of 6,664 patients. The Study Group for the Prevalence and the Epidemiology of Hepatitis C Virus. *Hepatology* 1997; 26: 485-90.
44. Howard RJ, Fry DE, Davis JM, Wiley TE, Rice CL. Hepatitis C virus infection in healthcare workers. *Surgical Infection Society. J Am Coll Surg* 1997; 184: 540-52.
46. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR* 1998; 47: 1-39.
47. Schvarcz R, Nystrom B, Oksanen A, Sonnerborg A. Prevention of nosocomial transmission of hepatitis C virus. *Lancet* 1995; 346: 190.
48. Milki AA, Fisch JD. Vaginal ultrasound probe cover leakage: implications for patient care. *Fertil Steril* 1998; 69: 409-11.
49. Natov SN, Pereira BJ. Hepatitis C in dialysis patients. *Adv Ren Replace Ther* 1996; 3: 275-83.
50. Pereira BJ, Levey AS. Hepatitis C virus infection in dialysis and renal transplantation. *Kidney Int* 1997; 51: 981-99.
51. MacDonald M, Crofts N, Kaldor J. Transmission of hepatitis C virus: rates, routes, and cofactors. *Epidemiol Rev* 1996; 18: 137-48.
52. van der Poel CL, Ebeling F. Hepatitis C virus: epidemiology, transmission and prevention. *Curr Stud Hematol Blood Transfus* 1998; 62: 208-36.
53. Quint WG, Fetter WP, van Os HC, Heijitink RA. Absence of hepatitis B virus (HBV) DNA in children born after exposure of their mothers to HBV during in vitro fertilization. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1099-100.
54. Tedder RS, Zuckerman MA, Goldstone AH, Hawkins AE, Fielding A, Briggs EM, Irwin D, Blair S, Gorman AM, Patterson KG, et al. Hepatitis B transmission from contaminated cryopreservation tank. *Lancet* 1995; 346: 137-40.
55. Clarke GN. Sperm cryopreservation: is there a significant risk of cross-contamination? *Hum Reprod* 1999; 14: 2941-3.
56. Tomlinson M, Sakkas D. Is a review of standard procedures for cryopreservation needed?: safe and effective cryopreservation-should sperm banks and fertility centres move toward storage in nitrogen vapour? *Hum Reprod* 2000; 15: 2460-3.
57. McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, Heyward WL, Bender TR, Francis DP, Maynard JE. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis* 1985; 151: 599-603.
58. Lok AS, Lai CL. A longitudinal follow-up of asymptomatic hepatitis B surface antigen-positive Chinese children. *Hepatology* 1988; 8:1130-3.

59. Liaw YF, Tai DI, Chu CM, Chen TJ. The development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis: a prospective study. *Hepatology* 1988; 8: 493-6.
60. Hsieh CC, Tzonou A, Zavitsanos X, Kaklamani E, Lan SJ, Trichopoulos D. Age at first establishment of chronic hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma risk. A birth order study. *Am J Epidemiol* 1992; 136:1115-21.
61. Lok AS, Chung HT, Liu VW, Ma OC. Long-term follow-up of chronic hepatitis B patients treated with interferon alfa. *Gastroenterology* 1993; 105: 1833-8.
62. Hyams KC. Risks of chronicity following acute hepatitis B virus infection: a review. *Clin Infect Dis* 1995; 20:992-1000.
63. Polish LB, Shapiro CN, Bauer F, Klotz P, Ginier P, Roberto RR, Margolis HS, Alter MJ. Nosocomial transmission of hepatitis B virus associated with the use of a spring-loaded finger-stick device. *N Engl J Med* 1992; 326:721-5.
64. Wong DK, Cheung AM, O'Rourke K, Naylor CD, Detsky AS, Heathcote J. Effect of alpha-interferon treatment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. A meta-analysis. *Ann Intern Med* 1993; 119:312-23.
65. Mahoney FJ. Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 351-66.
66. Xu ZY, Liu CB, Francis DP, Purcell RH, Gun ZL, Duan SC, Chen RJ, Margolis HS, Huang CH, Maynard JE. Prevention of perinatal acquisition of hepatitis B virus carriage using vaccine: preliminary report of a randomized, double-blind placebo-controlled and comparative trial. *Pediatrics* 1985;76:713-8.
67. Beasley RP, Hwang LY. Postnatal infectivity of hepatitis B surface antigen-carrier mothers. *J Infect Dis* 1983; 147: 185-90.
68. Margolis HS, Alter MJ, Hadler SC. Hepatitis B: evolving epidemiology and implications for control. *Semin Liver Dis* 1991; 11: 84-92.
69. Dominguez A, Bruguera M, Vidal J, Plans P, Salleras L. Changes in the seroepidemiology of hepatitis B infection in Catalonia 1989-1996. *Vaccine* 2000; 18: 2345-50.
70. Alamillos Ortega P, Failde Martinez I. [The prevalence of serological markers of the hepatitis B virus in the hospital and primary health care workers of the Jerez area (Cadiz)]. *Aten Primaria* 1999; 23: 212-7.
71. Pallas JR, Farinas-Alvarez C, Prieto D, Delgado-Rodriguez M. Coinfections by HIV, hepatitis B and hepatitis C in imprisoned injecting drug users. *Eur J Epidemiol* 1999; 15: 699-704.
72. Rodriguez R, Hernandez R, Fuster F, Torres A, Prieto P, Alberto J. [Genital infection and infertility]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001; 19: 261-6.
73. Navas E, Bayas JM, Taberner JL, Salleras L. [Efficiency of prevaccination screening of anti-HBc in the anti-hepatitis B vaccination programs]. *Med Clin (Barc)* 1992; 99:641-4.
74. Summary report and recommendations of the Expert Working Groups for Strain and Laboratory Surveillance of Hepatitis B Virus and Hepatitis C Virus. *Can Commun Dis Rep* 1999; 25:169-73.
75. Heathcote J, Cameron CH, Dane DS. Hepatitis-B antigen in saliva and semen. *Lancet* 1974; 1: 71-3.
76. Linnemann CC Jr, Goldberg S. Letter: Hepatitis-B antigen in saliva and semen. *Lancet* 1974; 1: 320.
77. Buttler ML, Johnson LF, Van Heertum RL. Letter: Semen and hepatitis B antigen. *Ann Intern Med* 1974; 80: 424.
78. Alter HJ, Purcell RH, Gerin JL, London WT, Kaplan PM, McAuliffe VJ, Wagner J, Holland PV. Transmission of hepatitis B to chimpanzees by hepatitis B surface antigen-positive saliva and semen. *Infect Immun* 1977; 16: 928-33.
79. Scott RM, Snitbhan R, Bancroft WH, Alter HJ, Tingpapong M. Experimental transmission of hepatitis B virus by semen and saliva. *J Infect Dis* 1980; 142: 67-71.
80. Ayoola EA, Odelola HA, Ladipo OA. Hepatitis B surface antigen in menstrual blood and semen. *Int J Gynaecol Obstet* 1980; 18: 185-7.
81. Ayoola EA, Ladipo OA, Odelola HA. Antibody to hepatitis B core antigen, e-antigen and its antibody in menstrual blood and semen. *Int J Gynaecol Obstet* 1981; 16: 921-3.
82. Hadchouel M, Scotto J, Huret JL, Molinie C, Villa E, Degos F, Brechet C. Presence of HBV DNA in spermatozoa: a possible vertical transmission of HBV via the germ line. *J Med Virol* 1985; 16: 61-6.
83. Naumova AK, Korenev VI, Leonov BV, Tsininogin VV, Kiselev LL. DNA of the hepatitis B virus in human generative cells. *Genetika* 1986; 22: 166-8.
84. Jenison SA, Lemon SM, Baker LN, Newbold JE. Quantitative analysis of hepatitis B virus DNA in saliva and semen of chronically infected homosexual men. *J Infect Dis* 1987; 156: 299-307.
85. Karayiannis P, Novick DM, Lok AS, Fowler MJ, Monjardino J, Thomas HC. Hepatitis B virus DNA in saliva,

- urine, and seminal fluid of carriers of hepatitis B e antigen. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985; 290: 1853-5.
86. Davison F, Alexander GJ, Trowbridge R, Fagan EA, Williams R. Detection of hepatitis B virus DNA in spermatozoa, urine, saliva and leucocytes, of chronic HBsAg carriers. A lack of relationship with serum markers of replication. *J Hepatol* 1987; 4: 37-44.
 87. Evans BA, McCormack SM, Bond RA, MacRae KD, Thorp RW. Human immunodeficiency virus infection, hepatitis B virus infection, and sexual behaviour of women attending a genitourinary medicine clinic. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1988; 296: 473-5.
 88. Worm AM, Lauritzen E, Jensen IP, Jensen JS, Christiansen CB. Markers of sexually transmitted diseases in seminal fluid of male clients of female sex workers. *Genitourin Med* 1997; 73: 284-7.
 89. Berry WR, Gottesfeld RL, Alter HJ, Vierling JM. Transmission of hepatitis B virus by artificial insemination. *Jama* 1987; 257: 1079-81.
 90. Mascola L, Guinan ME. Screening to reduce transmission of sexually transmitted diseases in semen used for artificial insemination. *N Engl J Med* 1986; 314: 1354-9.
 91. Schrader SM. Safety guidelines for the andrology laboratory. *Fertil Steril* 1989; 51: 387-9.
 92. Meseguer MA, Martinez Ferrer M, Mateos M. Semen donation: unexpected consequences. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1989; 7: 401-2.
 93. Mateos ML, Martinez Ferrer M, Meseguer MA. Prevention of viral infections transmitted by semen in volunteer donors for assisted reproduction. 2 years' experience. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1989; 7: 419-20.
 94. U.S. Public Health Service inter-agency guidelines for screening donors of blood, plasma, organs, tissues, and semen for evidence of hepatitis B and hepatitis C. *Can Dis Wkly Rep* 1991; 17: 251-7; discussion 257-8.
 95. British Andrology Society. British Andrology Society guidelines for the screening of semen donors for donor insemination (1999). *Hum Reprod* 1999; 14: 1823-6.
 96. Fagan EA, Alexander GJ, Davison F, Williams R. Persistence of free HBV DNA in body secretions and liver despite loss of serum HBV DNA after interferon-induced seroconversion. *J Med Virol* 1986; 20: 183-8.
 97. Pawlotsky JM. Assisted reproduction and viral hepatitis: the virologist's viewpoint. *Contracept Fertil Sex* 1997; 25: 530-3.
 98. Xiang PS. Detection of HBsAg in vaginal secretion, semen and saliva. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 1983; 4: 233-5.
 99. van Os HC, Drogendijk AC, Fetter WP, Heijtkink RA, Zeilmaker GH. The influence of contamination of culture medium with hepatitis B virus on the outcome of in vitro fertilization pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 152-9.
 100. Grosheide PM, van Osand HC, Schalm SW, Heijtkink RA. Immunoprophylaxis to limit a hepatitis B epidemic among women undergoing in vitro fertilization. *Vaccine* 1991; 9: 682-7.
 101. Steyaert SR, Leroux-Roels GG, Dhont M. Infections in IVF: review and guidelines. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 432-41.
 102. Saritha KR, Bongso A. Comparative evaluation of fresh and washed human sperm cryopreserved in vapor and liquid phases of liquid nitrogen. *J Androl* 2001; 22:857-62.
 103. Prevention CfDca. U.S. HIV and AIDS cases reported though December 2000. *HIV/AIDS Surveill Rep* 2000; 11: 1-41.
 104. Greenblatt R, Hessel N. Epidemiology and natural history of HIV infection in women. In: Anderson J, ed. *A guide to the clinical care of women with HIV*. Washington, D.C.: U.S. Department of Health and Human Services, Health Resources and Services Administration, HIV/AIDS Bureau, 2000: 1-33.
 105. Kahn JO, Walker BD. Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* 1998; 339: 33-9.
 106. Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996; 271: 1582-6.
 107. Shaheen F, Sison AV, McIntosh L, Mukhtar M, Pomerantz RJ. Analysis of HIV-1 in the cervicovaginal secretions and blood of pregnant and nonpregnant women. *J Hum Virol* 1999; 2:154-66.
 108. Evans JS, Nims T, Cooley J, Bradley W, Jagodzinski L, Zhou S, Melcher GP, Burke DS, Vahey M. Serum levels of virus burden in early-stage human immunodeficiency virus type 1 disease in women. *J Infect Dis* 1997; 175: 795-800.
 109. Farzadegan H, Hoover DR, Astemborski J, Lyles CM, Margolick JB, Markham RB, Quinn TC, Vlahov D. Sex differences in HIV-1 viral load and progression to AIDS. *Lancet* 1998; 352: 1510-4.

110. Sterling TR, Lyles CM, Vlahov D, Astemborski J, Margolick JB, Quinn TC. Sex differences in longitudinal human immunodeficiency virus type 1 RNA levels among seroconverters. *J Infect Dis* 1999; 180: 666-72.
111. Drapkin Lyerly A, Anderson J. Human immunodeficiency virus and assisted reproduction: reconsidering evidence, reframing ethics. *Fertil Steril* 2001; 75: 843-58.
112. Fauci AS, Pantaleo G, Stanley S, Weissman D. Immunopathogenic mechanisms of HIV infection. *Ann Intern Med* 1996; 124: 654-63.
113. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services and the Henry J. Kaiser Family Foundation. *Ann Intern Med* 1998; 128: 1079-100.
114. Hogg RS, O'Shaughnessy MV, Gataric N, Yip B, Craib K, Schechter MT, Montaner JS. Decline in deaths from AIDS due to new antiretrovirals. *Lancet* 1997; 349: 1294.
115. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, Aschman DJ, Holmberg SD. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 1998; 338: 853-60.
116. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ, VanDyke R, Bey M, Shearer W, Jacobson RL, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 1994; 331:1173-80.
117. Sperling RS, Shapiro DE, Coombs RW, Todd JA, Herman SA, McSherry GD, O'Sullivan MJ, Van Dyke RB, Jimenez E, Rouzioux C, Flynn PM, Sullivan JL. Maternal viral load, zidovudine treatment, and the risk of transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mother to infant. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 1996; 335: 1621-1629.
118. Prevention CfDCa. Public Health Service Task Force Recommendations for the Use of Antiretroviral Drugs in Pregnant Women Infected with HIV-1 for Maternal Health and for Reducing Perinatal HIV-1 Transmission in the United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1998; 47: 1-30.
119. Lindegren ML, Byers RH Jr, Thomas P, Davis SF, Caldwell B, Rogers M, Gwinn M, Ward JW, Fleming PL. Trends in perinatal transmission of HIV/AIDS in the United States. *Jama* 1999; 282: 531-8.
120. Shaffer N, Chuachoowong R, Mock PA, Bhadrakom C, Siriwasin W, Young NL, Chotpitayasunondh T, Chearskul S, Roongpisuthipong A, Chinayon P, Karon J, Mastro TD, Simonds RJ. Short-course zidovudine for perinatal HIV-1 transmission in Bangkok, Thailand: a randomised controlled trial. Bangkok Collaborative Perinatal HIV Transmission Study Group. *Lancet* 1999; 353: 773-80.
121. Saba J, Team tPTS. Interim analysis of aery efficacy of three short ZDV/3TC combination regimes to prevent mother-to -child transmission of HIV-1. In: 6th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 1999: 212.
122. Wade NA, Birkhead GS, Warren BL, Charbonneau TT, French PT, Wang L, Baum JB, Tesoriero JM, Savicki R. Abbreviated regimens of zidovudine prophylaxis and perinatal transmission of the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1998; 339: 1409-14.
123. Guay LA, Musoke P, Fleming T, Bagenda D, Allen M, Nakabiito C, Sherman J, Bakaki P, Ducar C, Deseyve M, Emel L, Mirochnick M, Fowler MG, Mofenson L, Miotti P, Dransfield K, Bray D, Mmiro F, Jackson JB. Intrapartum and neonatal single-dose nevirapine compared with zidovudine for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 in Kampala, Uganda: HIVNET 012 randomised trial. *Lancet* 1999; 354: 795-802.
124. Garcia PM, Kalish LA, Pitt J, Minkoff H, Quinn TC, Burchett SK, Burchett SK, Kornegay J, Jackson B, Moyo J, Hanson C, Zorrilla C, Lew JF. Maternal levels of plasma human immunodeficiency virus type 1 RNA and the risk of perinatal transmission. Women and Infants Transmission Study Group. *N Engl J Med* 1999; 341: 394-402.
125. Mofenson LM, Lambert JS, Stiehm ER, Bethel J, Meyer WA, 3rd, Whitehouse J, et al. Risk factors for perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 in women treated with zidovudine. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Study 185 Team. *N Engl J Med* 1999; 341:385-93.
126. Ioannidis JP, Abrams EJ, Ammann A, Bulters M, Goedert JJ, Gray L, Korber BT, Mayaux MJ, Mofenson LM, Newell ML, Shapiro DE, Teglas JP, Wilfert CM. Perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 by pregnant women with RNA virus loads <1000 copies/ml. *J Infect Dis* 2001; 183: 539-45.
127. Chuachoowong R, Shaffer N, Siriwasin W, Chaisilwatana P, Young NL, Mock PA, Chearskul S, Waranawat

- N, Chaowanachan T, Karon J, Simonds RJ, Mastro TD. Short-course antenatal zidovudine reduces both cervicovaginal human immunodeficiency virus type 1 RNA levels and risk of perinatal transmission. Bangkok Collaborative Perinatal HIV Transmission Study Group. *J Infect Dis* 2000; 181: 99-106.
128. Mandelbrot L, Mayaux MJ, Bongain A, Berrebi A, Moudoub-Jeanpetit Y, Benifla JL, Ciraru-Vigneron N, Le Chenadec J, Blanche S, Delfraissy JF. Obstetric factors and mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1: the French perinatal cohorts. SEROGEST French Pediatric HIV Infection Study Group. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 661-7.
129. Lee MJ, Hallmark RJ, Frenkel LM, Del Priore G. Maternal syphilis and vertical perinatal transmission of human immunodeficiency virus type-1 infection. *Int J Gynaecol Obstet* 1998; 63: 247-52.
130. Taha TE, Hoover DR, Dallabetta GA, Kumwenda NI, Mtimavalye LA, Yang LP, Liomba GN, Broadhead RL, Chipangwi JD, Miotti PG. Bacterial vaginosis and disturbances of vaginal flora: association with increased acquisition of HIV. *Aids* 1998; 12: 1699-706.
131. Rodriguez EM, Mofenson LM, Chang BH, Rich KC, Fowler MG, Smeriglio V, Landesman S, Fox HE, Diaz C, Green K, Hanson IC. Association of maternal drug use during pregnancy with maternal HIV culture positivity and perinatal HIV transmission. *AIDS* 1996; 10: 273-82.
132. Turner BJ, Hauck WW, Fanning TR, Markson LE. Cigarette smoking and maternal-child HIV transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1997; 14: 327-37.
133. Kuhn L, Steketee RW, Weedon J, Abrams EJ, Lambert G, Bamji M, Schoenbaum E, Farley J, Nesheim SR, Palumbo P, Simonds RJ, Thea DM. Distinct risk factors for intrauterine and intrapartum human immunodeficiency virus transmission and consequences for disease progression in infected children. Perinatal AIDS Collaborative Transmission Study. *J Infect Dis* 1999; 179: 52-8.
134. Goldenberg RL, Vermund SH, Goepfert AR, Andrews WW. Choriodecidual inflammation: a potentially preventable cause of perinatal HIV-1 transmission? *Lancet* 1998; 352: 1927-30.
135. International Perinatal HIV Group. Duration of ruptured membranes and vertical transmission of HIV-1: a meta-analysis from 15 prospective cohort studies. *AIDS* 2001; 15: 357-68.
136. The mode of delivery and the risk of vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1—a meta-analysis of 15 prospective cohort studies. The International Perinatal HIV Group. *N Engl J Med* 1999; 340: 977-87.
137. Elective caesarean-section versus vaginal delivery in prevention of vertical HIV-1 transmission: a randomised clinical trial. The European Mode of Delivery Collaboration. *Lancet* 1999; 353: 1035-9.
138. Brocklehurst P. Interventions aimed at decreasing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; (2): CD000102.
139. Committee on Obstetric Practice. ACOG committee opinion scheduled Cesarean delivery and the prevention of vertical transmission of HIV infection. Number 234, May 2000. *Int J Gynaecol Obstet* 2001; 73: 279-81.
140. Zaba B, Gregson S. Measuring the impact of HIV on fertility in Africa. *AIDS* 1998; 12 Suppl 1:S41-50.
141. Gregson S, Zaba B, Garnett GP. Low fertility in women with HIV and the impact of the epidemic on orphanhood and early childhood mortality in sub-Saharan Africa. *AIDS* 1999; 13 Suppl A: S249-57.
142. Laudat A, Blum L, Guechot J, Picard O, Cabane J, Imbert JC, Giboudeau J. Changes in systemic gonadal and adrenal steroids in asymptomatic human immunodeficiency virus-infected men: relationship with the CD4 cell counts. *Eur J Endocrinol* 1995; 133: 418-24.
143. Muller CH, Coombs RW, Krieger JN. Effects of clinical stage and immunological status on semen analysis results in human immunodeficiency virus type 1-seropositive men. *Andrologia* 1998; 30 Suppl 1: 15-22.
144. Politch JA, Mayer KH, Abbott AF, Anderson DJ. The effects of disease progression and zidovudine therapy on semen quality in human immunodeficiency virus type 1 seropositive men. *Fertil Steril* 1994; 61: 922-8.
145. Grosskurth H, Gray R, Hayes R, Mabey D, Wawer M. Control of sexually transmitted diseases for HIV-1 prevention: understanding the implications of the Mwanza and Rakai trials. *Lancet* 2000; 355: 1981-7.
146. Cu-Uvin S, Hogan JW, Warren D, Klein RS, Peipert J, Schuman P, Holmberg S, Anderson J, Schoenbaum E, Vlahov D, Mayer KH. Prevalence of lower genital tract infections among human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and high-risk HIV-seronega-

- tive women. HIV Epidemiology Research Study Group. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 1145-50.
147. Greenblatt RM, Bacchetti P, Barkan S, Augenbraun M, Silver S, Delapenha R, Garcia P, Mathur U, Miotti P, Burns D. Lower genital tract infections among HIV-infected and high-risk uninfected women: findings of the Women's Interagency HIV Study (WIHS). *Sex Transm Dis* 1999; 26:143-51.
 148. Cohen CR, Sinei S, Reilly M, Bukusi E, Eschenbach D, Holmes KK, Bwayo J, Ndinya-Achola JO, Kreiss J. Effect of human immunodeficiency virus type 1 infection upon acute salpingitis: a laparoscopic study. *J Infect Dis* 1998; 178: 1352-8.
 149. Barbosa C, Macasaet M, Brockmann S, Sierra MF, Xia Z, Duerr A. Pelvic inflammatory disease and human immunodeficiency virus infection. *Obstet Gynecol* 1997; 89: 65-70.
 150. Hoegsberg B, Abulafia O, Sedlis A, Feldman J, Des-Jalais D, Landesman S, Minkoff H. Sexually transmitted diseases and human immunodeficiency virus infection among women with pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 1135-9.
 151. Weisser M, Rudin C, Battagay M, Pfluger D, Kully C, Egger M. Does pregnancy influence the course of HIV infection? Evidence from two large Swiss cohort studies. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998; 17: 404-10.
 152. Burns DN, Landesman S, Minkoff H, Wright DJ, Waters D, Mitchell RM, Rubinstein A, Willoughby A, Goedert JJ. The influence of pregnancy on human immunodeficiency virus type 1 infection: antepartum and postpartum changes in human immunodeficiency virus type 1 viral load. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 355-9.
 153. French R, Brocklehurst P. The effect of pregnancy on survival in women infected with HIV: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Br J Obstet Gynaecol* 1998; 105: 827-35.
 154. Brocklehurst P, French R. The association between maternal HIV infection and perinatal outcome: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Br J Obstet Gynaecol* 1998; 105: 836-48.
 155. Culpnane M, Fowler M, Lee SS, McSherry G, Brady M, O'Donnell K, et al. Lack of long-term effects of in utero exposure to zidovudine among uninfected children born to HIV-infected women. *Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 219/076 Teams. Jama* 1999; 281: 151-7.
 156. Hanson IC, Antonelli TA, Sperling RS, Oleske JM, Cooper E, Culpnane M, Fowler MG, Kalish LA, Lee SS, McSherry G, Mofenson L, Shapiro DE. Lack of tumors in infants with perinatal HIV-1 exposure and fetal/neonatal exposure to zidovudine. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1999; 20: 463-7.
 157. Martin R, Boyer P, Hammill H, Peavy H, Platzker A, Settlege R, Shah A, Sperling R, Tuomala R, Wu M. Incidence of premature birth and neonatal respiratory disease in infants of HIV-positive mothers. The Pediatric Pulmonary and Cardiovascular Complications of Vertically Transmitted Human Immunodeficiency Virus Infection Study Group. *J Pediatr* 1997; 13: 851-6.
 158. Blanche S, Tardieu M, Rustin P, Slama A, Barret B, Firtion G, Ciraru-Vigneron N, Lacroix C, Rouzioux C, Mandelbrot L, Desguerre I, Rotig A, Mayaux MJ, Delfraissy JF. Persistent mitochondrial dysfunction and perinatal exposure to antiretroviral nucleoside analogues. *Lancet* 1999; 354: 1084-9.
 159. Bell DM. Occupational risk of human immunodeficiency virus infection in healthcare workers: an overview. *Am J Med* 1997; 102: 9-15.
 160. Alter HJ, Seeff LB, Kaplan PM, McAuliffe VJ, Wright EC, Gerin JL, Purcell RH, Holland PV, Zimmerman HJ. Type B hepatitis: the infectivity of blood positive for e antigen and DNA polymerase after accidental needlestick exposure. *N Engl J Med* 1976; 295: 909-13.
 161. Petrosillo N, Puro V, Ippolito G, Di Nardo V, Albertoni F, Chiaretti B, Rava' L, Sommella L, Ricci C, Zullo G, et al. Hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus infection in health care workers: a multiple regression analysis of risk factors. *J Hosp Infect* 1995; 30: 273-81.
 162. Puro V, De Carli G, Petrosillo N, Ippolito G. Risk of exposure to bloodborne infection for Italian health-care workers, by job category and work area. *Studio Italiano Rischio Occupazionale da HIV Group. Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22: 206-10.
 163. Cardo DM, Culver DH, Ciesielski CA, Srivastava PU, Marcus R, Abiteboul D, Heptonstall J, Ippolito G, Lot F, McKibben PS, Bell DM. A case-control study of HIV seroconversion in health care workers after percutaneous exposure. *Centers for Disease Control and Prevention Needlestick Surveillance Group. N Engl J Med* 1997; 337: 1485-90.
 164. Public Health Service guidelines for the management of health care worker exposures to HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. *Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep* 1998; 47: 1-33.
 165. Quinn TC, Wawer MJ, Sewankambo N, Serwadda D, Li C, Wabwire-Mangen F, Meehan MO, Lutalo T, Gray RH. Viral load and heterosexual transmission of human

- immunodeficiency virus type 1. Rakai Project Study Group. *N Engl J Med* 2000; 342: 921-9.
166. Semprini AE, Fiore S, Pardi G. Reproductive counselling for HIV-discordant couples. *Lancet* 1997; 349: 1401-2.
167. Chrystie IL, Mullen JE, Braude PR, Rowell P, Williams E, Elkington N, de Ruiter A, Rice K, Kennedy J. Assisted conception in HIV discordant couples: evaluation of semen processing techniques in reducing HIV viral load. *J Reprod Immunol* 1998; 41: 301-6.
168. Hanabusa H, Kuji N, Kato S, Tagami H, Kaneko S, Tanaka H, Yoshimura Y. An evaluation of semen processing methods for eliminating HIV-1. *AIDS* 2000; 14: 1611-6.
169. Pudney J, Nguyen H, Xu C, Anderson DJ. Microscopic evidence against HIV-1 infection of germ cells or attachment to sperm. *J Reprod Immunol* 1998; 41: 105-25. Corrected and republished in *J Reprod Immunol* 1999; 44: 57-77.
170. Pudney J, Nguyen H, Xu C, Anderson DJ. Microscopic evidence against HIV-1 infection of germ cells or attachment to sperm. *J Reprod Immunol* 1999; 44: 57-77.
171. Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Patsoula E, Bletsas R, Michalas S. Birth of two infants who were seronegative for human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) after intracytoplasmic injection of sperm from HIV-1-seropositive men. *Fertil Steril* 2001;75:210-2.
172. Garrido N, Meseguer M, Bellver J, Remohi J, Simon C, Pellicer A. Report of the results of a 2 year programme of sperm wash and ICSI treatment for human immunodeficiency virus and hepatitis C virus serodiscordant couples. *Hum Reprod* 2004;19:2581-6.
173. Mencaglia L, Falcone P, Lentini GM, Consigli S, Pisoni M, Lofiego V, et al. ICSI for treatment of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus-serodiscordant couples with infected male partner. *Hum Reprod* 2005;20:2242-6.