

PRISCILA QUEIROZ¹

CLAUDIA TADDEO TANIL¹

CAMILA MADASCHI²

DEBORA RODRIGUES LOPES¹

ASSUMPTO IACONELLI JUNIOR³

FABIO FIRMBACH PASQUALOTTO⁴

EDSON BORGES JUNIOR⁵

Obtenção de gametas seguros por meio de associação de técnicas de processamento seminal para casais sorodiscordantes para HIV

Safe gametes acquisition through association of seminal processing techniques with HIV serodiscordant couples

Artigos originais

Palavras-chave

HIV
Sêmen
Injeções de esperma intracitoplásmicas
Taxa de gravidez
Implantação do embrião

Keywords

HIV
Semen
Sperm injections, intracytoplasmic
Pregnancy rate
Embryo implantation

Resumo

OBJETIVO: o objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros laboratoriais e clínicos de pacientes submetidos à reprodução humana assistida, associando técnicas de processamento seminal para eliminação de partículas virais da amostra de sêmen em casais nos quais o homem é infectado pelo vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV). **MÉTODOS:** foram avaliados 11 ciclos de injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI) realizados em casais nos quais os homens eram infectados pelo HIV (Grupo HIV), e 35 ciclos de ICSI nos quais se utilizaram espermatozóides doados (Grupo Controle). As amostras de sêmen dos doadores foram submetidas à análise seminal completa, processamento seminal (lavagem) e criopreservação. Os homens do Grupo HIV receberam antibioticoterapia prévia e realizou-se análise seminal, lavagem e gradiente descontínuo de densidade antes da criopreservação. As amostras foram avaliadas para carga viral e a ICSI foi realizada quando não houve detecção do HIV. **RESULTADOS:** quanto aos resultados da análise seminal, os grupos se mostraram comparáveis em relação à concentração e motilidade progressiva dos espermatozóides. Entretanto, a porcentagem de espermatozóides morfológicamente normais foi maior no Grupo Controle (14,3%) comparado ao HIV (5,8%; $p=0,002$). Na avaliação dos parâmetros embrionários, as taxas de fertilização normal (Controle: 74,7% e HIV: 71,7; $p=0,838$) e de bons embriões (Controle: 42,4% e HIV: 65,1%; $p=0,312$) foram semelhantes. Por outro lado, o Grupo Controle apresentou melhores resultados clínicos que o HIV (gestação continuada: 52,9 e 12,5%; $p=0,054$; implantação: 42,6 e 10,4%; $p=0,059$, respectivamente), apesar de as diferenças não serem estatisticamente significantes. Após o nascimento, não houve soroconversão das mães e das crianças nascidas. **CONCLUSÕES:** a associação de técnicas de processamento seminal para eliminação do HIV de amostras seminais não interferiu nos parâmetros laboratoriais de ciclos de reprodução humana assistida. Por outro lado, demonstrou excelentes resultados na obtenção de gametas seguros para casais sorodiscordantes.

Abstract

PURPOSE: the propose of this study was to analyze the clinical and laboratorial parameters of patients submitted to human assisted reproduction techniques with association of sperm processing techniques, in order to remove virus particles from semen samples of couples in which men was infected by human immunodeficiency virus (HIV). **METHODS:** it was assessed 11 intracytoplasmatic sperm injection (ICSI) cycles from couples whose men were HIV seropositive (HIV Group), and 35 cycles in which semen donors' samples were used in ICSI procedures (Control Group). Semen samples from Control Group were submitted to routine semen analysis, sperm wash and cryopreservation. The man from HIV Group received previous antibiotic therapy; the semen samples were analyzed routinely and prepared by sperm wash and density gradient method before cryopreservation. Those samples were evaluated to viral load and ICSI was performed when no HIV was detected. **RESULTS:** regards to semen analysis the groups were similar to sperm concentration and progressive motility. Nevertheless, the percentage of sperm with normal morphology were higher on Control Group (14.3%) than HIV (5.8%; $p=0.002$). On embryo parameters assessment, the normal fertilization (CT: 74.7% and HIV: 71.7; $p=0.838$, respectively) and good embryos rate (CT: 42.4% and HIV: 65.1%; $p=0.312$, respectively) were comparable. On the other hand, the Control Group presented better clinic results than HIV Group

Correspondência:

Edson Borges Jr.
Fertility – Centro de Fertilização Assistida
Avenida Brigadeiro Luís Antônio, 4.545
CEP 01402-001 – São Paulo/SP
Fone: (11) 3885-9858
E-mail: edson@fertility.com.br

Recebido

27/11/07

Aceito com modificações

31/3/08

Trabalho realizado no Fertility – Centro de Fertilização Assistida – São Paulo (SP), Brasil.

¹ Embriologista do Laboratório de Andrologia e Fertilização *in vitro*, Fertility – Centro de Fertilização Assistida – São Paulo (SP), Brasil.

² Embriologista responsável pelo Laboratório de Andrologia e Fertilização *in vitro*, Fertility – Centro de Fertilização Assistida – São Paulo (SP), Brasil.

³ Diretor da Fertility – Centro de Fertilização Assistida – São Paulo (SP), Brasil.

⁴ Professor Titular do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul – UCS – Caxias do Sul (RS), Brasil.

⁵ Diretor Clínico da Fertility – Centro de Fertilização Assistida – São Paulo (SP), Brasil; Diretor da Associação Instituto *Sapientiae* – Centro de Estudos e Pesquisa – São Paulo (SP), Brasil.

(ongoing pregnancy rate: 52.9% versus 12.5%; $p=0.054$, and implantation rate: 42.6 versus 10.4%; $p=0.059$, respectively), however the differences were not statistically significant. After delivery, no seroconversion was observed on mother and child. **CONCLUSIONS:** the association of sperm processing techniques in order to remove HIV from semen samples does not influence in laboratorial parameters of assisted reproduction techniques cycles. On the other hand, it has been demonstrated excellent results getting safety gametes to serodiscordant couples.

Introdução

Atualmente, estima-se que mais de 40 milhões de pessoas estejam infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV) e que aproximadamente 86% dessa população esteja em idade reprodutiva¹. Os recentes avanços na terapia antiretroviral e o tratamento das infecções oportunistas vêm aumentando a expectativa e a qualidade de vida dos indivíduos infectados com o HIV², e o uso da terapia antiretroviral durante a gravidez e/ou parto tem reduzido o risco de transmissão vertical para índices menores que 2%³.

Dentro desta realidade, a reprodução humana assistida (RHA) tem um impacto significativo na prevenção da transmissão do HIV, possibilitando a casais sorodiscordantes, em que apenas o homem é infectado, a reprodução de forma segura e um adequado planejamento familiar. Há mais de uma década, alguns centros de fertilização *in vitro* (FIV) tratam estes casais, em que somente o homem possui a doença, a fim de reduzir o risco de transmissão do vírus ao parceiro não infectado e ao bebê, e resolvendo possíveis problemas de infertilidade decorrentes da doença^{4,5}. Esses tratamentos podem envolver inseminações artificiais com ou sem estimulação ovariana^{6,7}, FIV clássica ou injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI) no oócito^{4,5}.

Diversos estudos constataram a presença do HIV no ejaculado de homens infectados, mesmo quando não houve detecção de vírus no sangue destes pacientes⁸. Apesar de os dados sugerirem que a qualidade seminal não é alterada nos estágios iniciais da infecção⁹, não há comprovação dos efeitos do vírus na amostra seminal, já que nem todos os pacientes infectados possuem análise seminal anterior à infecção e, dessa forma, os parâmetros não puderam ser comparados.

O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade seminal de pacientes soropositivos para o HIV e os respectivos resultados laboratoriais e clínicos dos ciclos de RHA com ICSI, comparados a ciclos de pacientes não infectados pelo HIV.

Métodos

Neste estudo, foram avaliadas retrospectivamente duas populações de pacientes atendidas no Fertility – Centro de Fertilização Assistida, entre junho de 2001 e maio de

2007: 11 casais submetidos à RHA devido à sorodiscordância, quando o homem era infectado pelo HIV (Grupo HIV), e 35 casais soronegativos para o HIV, submetidos a técnicas de RHA devido à presença de azoospermia, para os quais amostras de sêmen de doador foram utilizadas (Grupo Controle).

Os pacientes incluídos neste trabalho não realizaram qualquer procedimento diferente daqueles já realizados na rotina. Este estudo baseou-se apenas em levantamento de dados e foi aprovado por uma Comissão de Ética do Serviço. Todos os pacientes assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) concordando com a realização das técnicas de RHA e com a publicação dos resultados em trabalhos científicos.

As amostras de sêmen de doadores, ou seja, aquelas incluídas no Grupo Controle, foram coletadas por masturbação em frasco estéril, mantidas em repouso para liquefação e submetidas à análise seminal, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS)¹⁰, e à análise de morfologia, de acordo com o critério estrito de Kruger et al.¹¹. As amostras foram imediatamente criopreservadas adicionando o mesmo volume de crioprotetor contendo glicerol (Test-yolk buffer, Irvine Scientific, EUA) e seguindo protocolo de congelamento lento em vapor de nitrogênio líquido.

Os pacientes infectados pelo HIV receberam antibioticoterapia (Norfloxacin, 400 mg/dia) durante três semanas e, em seguida, amostras de sêmen foram coletadas por masturbação, em frasco estéril e mantidas em repouso a 37°C por 15 a 30 minutos, para liquefação. Realizaram-se análise seminal¹⁰ e análise de morfologia por critério estrito de Kruger et al.¹¹. Em seguida, uma alíquota da amostra foi retirada para avaliação da presença de RNA do HIV, por meio da técnica de reação em cadeia de polimerase (Cobas amplicor HIV-1 monitor, v1. 5 - Roche Diagnóstica Corporation, EUA). A sensibilidade desta metodologia permitiu detectar até 120 cópias/mL.

O restante da amostra foi submetida a uma associação de técnicas de processamento seminal. Primeiramente, a amostra foi lavada, acrescentando o mesmo volume de meio HTF modificado (mHTF) (Human tubal factor, Irvine Scientific, EUA), seguido de centrifugação a 300 g por oito minutos; o sobrenadante foi desprezado e o precipitado ressuspenso em 1,0 mL do mesmo meio. O material resultante foi, então, submetido à técnica de gradiente descontínuo de densidade, em coluna com camadas de densidades de 90

e 45% (ISolate[®], Irvine Scientific, EUA), seguido de nova centrifugação a 300 g por 20 minutos.

O precipitado obtido foi lavado duas vezes, pelo mesmo procedimento de lavagem anteriormente descrito, e ressuspendido em 0,5 mL de mHTF. As amostras foram, assim, criopreservadas, adicionando-se crioprotetor contendo glicerol (Test-yolk buffer, Irvine Scientific, EUA) na proporção 1:1, e submetidas a protocolo convencional de congelamento lento em vapor de nitrogênio líquido. O armazenamento de amostras de sêmen proveniente de pacientes soropositivos para HIV foi realizado em container específico.

As mulheres foram submetidas a bloqueio hipofisário com agonista GnRH (Lupron[®], Abbot Laboratórios, França), por pelo menos 14 dias, e a estímulo ovariano controlado utilizando FSH recombinante (Gonal-F[®], Serono Laboratórios, Brasil) em doses regressivas. Quando pelo menos dois folículos atingiram diâmetro de aproximadamente 18 mm, foi administrado hCG para maturação folicular final, hCG recombinante – 250 µg (Ovidrel, Serono Laboratórios, Brasil) ou hCG urinário – 10.000 UI (Profasi, Serono Laboratórios, Brasil). A punção folicular foi realizada 35 a 36 horas após, guiada por ultra-sonografia.

Os oócitos obtidos foram incubados por quatro horas em meio de cultura não tamponado (G-1TM V3-Plus, Vitrolife, Suíça) e, a seguir, as células do cumulus foram retiradas após exposição em meio de cultura contendo hialuronidase (80 UI/mL) (Hyaluronidase solution (HTF), Irvine Scientific, EUA) por 30 segundos. Os oócitos foram avaliados em relação ao grau de maturação e a ICSI foi realizada naqueles classificados em metáfase II, de acordo com técnica descrita por Palermo et al.¹².

Imediatamente antes da ICSI, as amostras de sêmen de ambos os grupos foram descongeladas em temperatura ambiente e lavadas em HTF (Irvine Scientific, EUA). As amostras foram ressuspendidas em 0,5 mL do mesmo meio, e avaliadas para concentração e motilidade dos espermatozoides. De acordo com o resultado obtido, as amostras foram novamente processadas pela técnica de migração ascendente de espermatozoides ou gradiente descontínuo de densidade, para, então, os espermatozoides serem selecionados para a ICSI. No Grupo HIV, todas as amostras apresentaram resultado de carga viral negativa (n=11) e foram utilizadas para a ICSI.

Os pré-embriões foram cultivados em meio HTF suplementado com 10% de albumina humana (human serum albumin, Irvine Scientific, EUA) e avaliados segundo características morfológicas, desde a checagem da fertilização até o dia da transferência embrionária.

Para a análise dos dados, as variáveis numéricas foram comparadas por teste de média (teste *t*), a saber: parâmetros seminais (volume do sêmen, concentração de espermatozoides, motilidade total e progressiva, e

morfologia), embrionários (taxa de fertilização e bons embriões) e taxa de implantação. O teste do χ^2 foi utilizado para análise de proporções para taxa de gestação clínica. Quando as variáveis numéricas não apresentavam distribuição normal, foram submetidas à transformação logarítmica na base 10 e, subsequentemente, avaliadas utilizando teste *t*. Valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significante.

Resultados

As mulheres incluídas nos Grupos Controle e HIV apresentaram idades semelhantes ($30,7 \pm 4,3$ e $33,6 \pm 4,4$ anos; $p = 0,063$) e boa resposta ao estímulo ovariano controlado, relatado pelo número de oócitos maduros (MII) recuperados, apesar de diferentes estatisticamente entre os grupos (Controle: $13,7 \pm 7,2$ e HIV: $8,9 \pm 8,7$; $p = 0,042$).

Em relação aos homens, as idades foram também similares (Controle: $35,9 \pm 7,1$, HIV: $37,9 \pm 4,7$ anos; $p = 0,244$) e todas as avaliações das amostras de sêmen do Grupo HIV para presença de RNA do vírus apresentaram-se negativas após os procedimentos.

As características seminais foram comparadas entre os grupos nas amostras a fresco e após o descongelamento (Tabela 1). Quando avaliadas antes da criopreservação, observou-se diferença estatística entre os grupos em relação à morfologia dos espermatozoides, pois o Grupo HIV apresentou porcentagem de espermatozoides morfolologicamente normais (5,82%) significativamente inferior ao Grupo Controle (14,3%; $p = 0,002$).

Em relação à avaliação das amostras após descongelamento, observou-se redução na concentração dos espermatozoides no Grupo HIV ($2,79 \pm 2,52 \times 10^6$ /mL), em relação ao Grupo Controle ($23,1 \pm 48,8 \times 10^6$ /mL; $p = 0,040$) – o que era esperado, já que as amostras do Grupo HIV foram lavadas e processadas pela técnica de gradiente descontínuo de densidade, enquanto as amostras do Grupo Controle foram criopreservadas sem passar por qualquer técnica de processamento.

Os parâmetros laboratoriais referentes à FIV mostraram-se comparáveis para taxa de fertilização normal, caracterizada pela presença de dois pronúcleos, e taxa de bons embriões. Foram transferidos em média 2,3 embriões de boa qualidade no Grupo Controle e 2,0 no Grupo HIV ($p = 0,676$); entretanto, o Grupo Controle apresentou uma tendência a melhores resultados clínicos que o Grupo HIV, evidenciados pelas taxas de implantação e gestação clínica, apesar de a análise estatística não ter atingido uma diferença estatisticamente significativa (Tabela 2).

Após o tratamento dos casais sorodiscordantes, não se observou soroconversão da mãe ou do bebê.

Tabela 1 - Comparação das características seminais nos Grupos Controle e HIV, antes e após a criopreservação

Parâmetros seminais	Grupo Controle (n=35)	Grupo HIV (n=11)	p
Amostra a fresco			
Volume (mL)	4,20±2,32	2,94±1,41	0,127
Concentração (x10 ⁶ espermatozoides/mL)	47,0±19,5	79,9±63,9	0,141
Motilidade total (%)	52,3±30,5	63,1±11,0	0,979
Motilidade progressiva (%)	47,6±28,0	53,4±12,9	0,896
Morfologia (%)	14,30±7,66	5,82±3,49	0,002
Após descongelamento			
Concentração (x10 ⁶ espermatozoides/L)	23,1±48,8	2,79±2,52	0,040
Motilidade total (%)	66,1±29,4	72,1±26,2	0,557
Motilidade progressiva (%)	58,2±29,3	65,1±29,2	0,436

Tabela 2 - Parâmetros embrionários e resultados clínicos nos Grupos Controle e HIV

Parâmetros avaliados	Grupo Controle	Grupo HIV	p
Taxa de fertilização normal	74,7%	71,7%	0,838
Taxa de bons embriões	42,4%	65,1%	0,312
Taxa de implantação	42,6%	10,4%	0,059
Taxa de gestação clínica	52,9%	12,5%	0,054

Discussão

Nesse estudo, descreveram-se as características seminais de uma população de homens soropositivos para o HIV livres dos sintomas clínicos da infecção. Todos esses pacientes estavam sendo submetidos à terapia antiretroviral potente e buscavam as técnicas de RHA, a fim de obter segurança em seu planejamento familiar.

Os recentes avanços nas terapias antiretrovirais para indivíduos infectados pelo HIV apresentaram redução aguda da mortalidade e incrível melhora na qualidade de vida, permitindo a constituição de uma família. Para muitos casais em que o homem é soropositivo e a mulher soronegativa, o cuidado e o aconselhamento reprodutivo podem oferecer uma considerável redução nas taxas de transmissão sexual e vertical do HIV. As técnicas de reprodução assistida são o primeiro passo para tornar isso possível e, dessa maneira, o processamento seminal adequado, associado à técnica de ICSI, tem sido constantemente proposto para estes casais¹³.

Devido ao fato de os pacientes do Grupo HIV terem procurado o centro de RHA não por algum fator de infertilidade, mas para assegurar a reprodução sem o risco de transmissão do HIV, supõe-se que estes casais, em princípio, não apresentavam problemas de fertilidade. A fim de selecionar um Grupo Controle para estes pacientes, foram incluídos casais cujos homens apresentavam azoospermia e utilizaram amostras de sêmen de doadores para realização do ciclo de RHA. O objetivo desta estratégia

foi selecionar casais que não apresentavam alterações na qualidade seminal ou na qualidade oocitária, tornando homogêneos os grupos de estudo.

Alguns autores demonstraram que partículas do HIV estão presentes no ejaculado, na espermatogônia¹⁴ e, em menor frequência (<1%), nas espermátides¹⁵. Entretanto, conforme inicialmente descrito por Semprini et al.¹⁶, a utilização da inseminação intra-uterina com amostra de sêmen ejaculado submetida à técnica de lavagem, para reprodução de casais sorodiscordantes em que o homem é infectado pelo HIV, demonstrou-se segura e eficaz¹⁷⁻¹⁹.

Por outro lado, estudos demonstram que partículas virais são capazes de se ligar à superfície²⁰ e até penetrar no espermatozóide utilizando receptores alternativos²¹. Outra fonte de partículas virais no sêmen são os linfócitos, os quais são considerados reservatórios virais mesmo em pacientes sob terapia antiretroviral potente^{22,23}.

A fim de eliminar possíveis fontes virais da amostra seminal, utilizou-se uma modificação da técnica descrita por Semprini et al.¹⁶. Baseado em estudos que demonstraram que a leucocitospermia é prevalente em homens infectados pelo HIV²⁴ e que estes leucócitos são potenciais vetores do HIV²⁵, os pacientes soropositivos para HIV foram submetidos à antibioticoterapia profilática, a fim de eliminar possíveis infecções no trato genital e, conseqüentemente, os leucócitos carreadores do vírus.

A técnica de lavagem do sêmen apenas retira o líquido seminal, entretanto, não é capaz de separar os espermatozóides de outros tipos celulares presentes na amostra. Baseado neste conceito e em estudos demonstrando que apenas a associação de pelo menos duas técnicas de processamento da amostras seminal é eficiente em eliminar partículas virais da amostra de sêmen^{26,27}, as amostras de sêmen foram submetidas a lavagem para retirada do plasma seminal e, em seguida, foram realizadas as técnicas de gradiente descontínuo de densidade e congelamento, em nosso centro e neste estudo. No momento da utilização, após o descongelamento, a amostra foi novamente processada por gradiente descontínuo de densidade ou migração ascendente de espermatozóides, de acordo com a qualidade da mesma.

A fim de garantir ainda mais a segurança da amostra de sêmen, uma alíquota foi submetida à análise de carga viral e o restante foi criopreservado até o resultado do teste. Apenas amostras de sêmen com carga viral negativa foram descongeladas e utilizadas nas técnicas de fertilização *in vitro*^{28,29}.

Com isso, esperou-se eliminar partículas virais livres no plasma seminal, leucócitos que são possíveis carreadores do HIV e, ao mesmo tempo, selecionar espermatozóides móveis livres de vírus, garantido pela carga viral negativa após teste específicos da amostra a ser utilizada para a técnica de RHA.

Todos os pacientes soropositivos para o HIV incluídos neste estudo realizaram a ICSI para obtenção de embriões para transferência. Alguns autores sugeriram que a micromanipulação de gametas, ao invés da inseminação intra-uterina, expõe o oócito a um menor risco de contaminação, já que apenas um espermatozóide é utilizado para obter a fertilização^{30,31}. Por outro lado, é discutível a exposição desnecessária do oócito à membrana e acrossoma do espermatozóide, além da ruptura da membrana do oócito promovido pela ICSI^{32,33}.

Existem ainda outras vantagens da ICSI sobre as diferentes técnicas de RHA, que incluem altas taxas de sucesso e menor número de tentativas para que seja atingida a gestação, o que deve também reduzir o potencial de exposição viral aos ciclos repetidos³⁴.

Em relação às características seminais, muitos autores identificaram alterações no volume do ejaculado, motilidade e concentração dos espermatozoides, sendo estas alterações, de maneira geral, diretamente proporcionais à contagem de células CD4 e utilização de medicamentos antiretrovirais^{35,36}.

Apesar do pequeno tamanho da amostra em nosso grupo de pacientes infectados pelo HIV, não se observaram diferenças na concentração e motilidade dos espermatozoides, mas se encontrou uma redução na porcentagem de espermatozoides morfológicamente normais nas amostras frescas, segundo o critério estrito de Kruger et al.¹¹, quando comparado às amostras de sêmen de doadores (Grupo Controle).

Embora a morfologia dos espermatozoides, em relação aos outros parâmetros seminais, seja menos discutida na literatura, é um importante fator prognóstico nas técnicas

de RHA, e parece também estar relacionada à utilização da terapia antiretroviral e contagem de células CD4³⁶.

Após o descongelamento das amostras, a diferença observada entre os grupos quanto à concentração de espermatozoides é justificada pelas diversas técnicas de processamento seminal a que foram submetidas as amostras dos pacientes infectados pelo HIV, enquanto as amostras de doadores foram apenas lavadas.

Além disso, a associação de técnicas de processamento seminal realizada parece não afetar os resultados laboratoriais, tais como taxa de fertilização e de bons embriões. Estes achados estão de acordo com Melo et al.³⁷, que também encontraram resultados laboratoriais semelhantes.

Já os resultados clínicos obtidos no Grupo HIV foram numericamente inferiores aos do Grupo Controle, evidenciados pelas taxas de implantação e gestação continuada, apesar de as diferenças encontradas não serem estatisticamente significativas. Estes achados poderiam ser justificados pelo pequeno número de amostras incluídas neste estudo, já que não é evidenciada, na literatura, qualquer influência das técnicas de processamentos seminal, da própria infecção pelo HIV ou da terapia antiretroviral nos resultados clínicos de casais submetidos às técnicas de RHA^{18,37}. Outros estudos prospectivos randomizados e com maior número de pacientes seriam necessários para confirmar tais achados.

Em conclusão, este estudo sugere que o uso de terapia antiretroviral potente e de antibioticoterapia profilática prévia, acompanhado da associação de processamentos seminais para casais sorodiscordantes em que o homem é infectado pelo HIV, demonstra excelentes resultados na eliminação das fontes ativas de transmissão do vírus e obtenção de gametas seguros, resultando em gestações saudáveis, sem a soroconversão da mãe e do bebê.

Referências

1. UNAIDS. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. 2006 report on the global AIDS epidemic. Geneva: UNAIDS; 2006.
2. Lee LM, Karon JM, Selik R, Neal JJ, Fleming PL. Survival after AIDS diagnosis in adolescents and adults during the treatment era, United States, 1984-1997. *JAMA*. 2001;285(10):1308-15.
3. Brocklehurst P, Volmink J. Antiretrovirals for reducing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002;(1):CD003510.
4. Ohl J, Partisani M, Wittemer C, Lang JM, Viville S, Favre R. Encouraging results despite complexity of multidisciplinary care of HIV-infected women using assisted reproduction techniques. *Hum Reprod*. 2005;20(11):3136-40.
5. Terriou P, Auquier P, Chabert-Orsini V, Chinchole JM, Cravello L, Giorgetti C, et al. Outcome of ICSI in HIV-1-infected women. *Hum Reprod*. 2005;20(10):2838-43.
6. Semprini AE, Fiore S, Pardi G. Reproductive counselling for HIV-discordant couples. *Lancet*. 1997;349(9062):1401-2.
7. Weigel MM, Gentili M, Beichert M, Friese K, Sonnenberg-Schwan U. Reproductive assistance to HIV-discordant couples—the German approach. *Eur J Med Res*. 2001;6(6):259-62.
8. Dornadula G, Zhang H, VanUitert B, Stern J, Livornese L Jr., Ingerman MJ, et al. Residual HIV-1 RNA in blood plasma of patients taking suppressive highly active antiretroviral therapy. *JAMA*. 1999;282(17):1627-32.
9. Dulioust E, Du AL, Costagliola D, Guibert J, Kunstmann JM, Heard I, et al. Semen alterations in HIV-1 infected men. *Hum Reprod*. 2002;17(8):2112-8.
10. World Health Organization. Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction. WHO Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. Cambridge: Cambridge University Press; 1992.
11. Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, Lombard CJ, Van der Merwe JP, van Zyl JA, et al. Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1986;46(6):1118-23.

12. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*. 1992;340(8810):17-8.
13. Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Patsoula E, Bletsas R, Michalakis 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(1):210-2.
14. Baccetti B, Benedetto A, Burrini AG, Collodel G, Ceccarini EC, Crisà N, et al. HIV-particles in spermatozoa of patients with AIDS and their transfer into the oocyte. *J Cell Biol*. 1994;127(4):903-14.
15. Muciaccia B, Filippini A, Ziparo E, Colelli F, Baroni CD, Stefanini M. Testicular germ cells of HIV-seropositive asymptomatic men are infected by the virus. *J Reprod Immunol*. 1998;41(1-2):81-93.
16. Semprini AE, Levi-Setti P, Bozzo M, Ravizza M, Taglioretti A, Sulpizio P, et al. Insemination of HIV-negative women with processed semen of HIV-positive partners. *Lancet*. 1992;340(8831):1317-9.
17. Semprini AE, Bujan L, Englert Y, Smith CG, Guibert J, Hollander L, et al. Establishing the safety profile of sperm washing followed by ART for the treatment of HIV discordant couples wishing to conceive. *Hum Reprod*. 2007;22(10):2793-4.
18. Savasi V, Ferrazzi E, Lanzani C, Oneta M, Parrilla B, Persico T. Safety of sperm washing and ART outcome in 741 HIV-1-serodiscordant couples. *Hum Reprod*. 2007;22(3):772-7.
19. Bujan L, Hollander L, Coudert M, Gilling-Smith C, Vucetich A, Guibert J, Vernazza P, Ohl J, Weigel M, Englert Y, Semprini AE; CREAThE network. Safety and efficacy of sperm washing in HIV-1-serodiscordant couples where the male is infected: results from the European CREAThE network. *AIDS*. 2007;21(14):1909-14.
20. Muciaccia B, Padula F, Gandini L, Lenzi A, Stefanini M. HIV-1 chemokine co-receptor CCR5 is expressed on the surface of human spermatozoa. *AIDS*. 2005;19(13):1424-6.
21. Cardona-Maya W, López-Herrera A, Velilla-Hernández P, Rugeles MT, Cadavid AP. The role of mannose receptor on HIV-1 entry into human spermatozoa. *Am J Reprod Immunol*. 2006;55(4):241-5.
22. Craigo JK, Patterson BK, Paranjpe S, Kulka K, Ding M, Mellors J, et al. Persistent HIV type 1 infection in semen and blood compartments in patients after long-term potent antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2004;20(11):1196-209.
23. Nunnari G, Otero M, Dornadula G, Vanella M, Zhang H, Frank I, et al. Residual HIV-1 disease in seminal cells of HIV-1-infected men on suppressive HAART: latency without on-going cellular infections. *AIDS*. 2002;16(1):39-45.
24. Umapathy E. STD/HIV association: effects on semen characteristics. *Arch Androl*. 2005;51(5):361-5.
25. Quayle AJ, Xu C, Mayer KH, Anderson DJ. T lymphocytes and macrophages, but not motile spermatozoa, are a significant source of human immunodeficiency virus in semen. *J Infect Dis*. 1997;176(4):960-8.
26. Kato S, Hanabusa H, Kaneko S, Takakuwa K, Suzuki M, Kuji N, et al. Complete removal of HIV-1 RNA and proviral DNA from semen by the swim-up method: assisted reproduction technique using spermatozoa free from HIV-1. *AIDS*. 2006;20(7):967-73.
27. Bujan L, Daudin M, Matsuda T, Righi L, Thauvin L, Berges L, et al. Factors of intermittent HIV-1 excretion in semen and efficiency of sperm processing in obtaining spermatozoa without HIV-1 genomes. *AIDS*. 2004;18(5):757-66.
28. Lervuez-Ville M, de Almeida M, Tachet A, Dulioust E, Guibert J, Mandelbrot L, et al. Assisted reproduction in HIV-1-serodifferent couples: the need for viral validation of processed semen. *AIDS*. 2002;16(17):2267-73.
29. Anderson DJ, Politch JA. Providing fertility care to HIV-1 serodiscordant couples: a biologist's point of view. *Am J Bioeth*. 2003;3(1):47-9.
30. Peña JE, Thornton MH, Sauer MV. Assessing the clinical utility of in vitro fertilization with intracytoplasmic sperm injection in human immunodeficiency virus type 1 serodiscordant couples: report of 113 consecutive cycles. *Fertil Steril*. 2003;80(2):356-62.
31. Sauer MV, Chang PL. Establishing a clinical program for human immunodeficiency virus 1-seropositive men to father seronegative children by means of in vitro fertilization with intracytoplasmic sperm injection. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;186(4):627-33.
32. Piomboni P, Baccetti B. Spermatozoon as a vehicle for HIV-1 and other viruses: a review. *Mol Reprod Dev*. 2000;56(2 Suppl):238-42.
33. Gordon JW. Micromanipulation of gametes and embryos may be a risk for human germ-line gene transfer. *Fertil Steril*. 2002;78(3):455-9.
34. Chu MC, Pena JE, Thornton MH 2nd, Sauer MV. Assessing the treatment efficacy of IVF with intracytoplasmic sperm injection in human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) serodiscordant couples. *Reprod Biomed Online*. 2005;10(1):130-4.
35. Bujan L, Sergerie M, Moinard N, Martinet S, Porte L, Massip P, et al. Decreased semen volume and spermatozoa motility in HIV-1-infected patients under antiretroviral treatment. *J Androl*. 2007;28(3):444-52.
36. Coll O, Lopez M, Vidal R, Figueras F, Suy A, Hernandez S, et al. Fertility assessment in non-infertile HIV-infected women and their partners. *Reprod Biomed Online*. 2007;14(4):488-94.
37. Melo MA, Meseguer M, Bellver J, Remohí J, Pellicer A, Garrido N. Human immunodeficiency type-1 virus (HIV-1) infection in serodiscordant couples (SDCs) does not have an impact on embryo quality or intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcome. *Fertil Steril*. 2008;89(1):141-50.