



Academiejaar 2013-2014

**REPRODUCTIEVE BIJSTAND VOOR SERODISCORDANTE
KOPPELS BIJ HIV BESMETTING: EEN
LITERATUURONDERZOEK.**

Adeline HEYNDRICKX

Promotor: Prof. Dr. Etienne Van den Abbeel

Co-promotor: Dr. An De Baerdemaeker

Scriptie voorgedragen in de 2^{de} Master in het kader van de opleiding tot
MASTER IN DE GENEESKUNDE

Deze pagina is niet beschikbaar omdat ze persoonsgegevens bevat.
Universiteitsbibliotheek Gent, 2021.

This page is not available because it contains personal information.
Ghent University, Library, 2021.

VOORWOORD

Nu ik klaar ben met de wetenschappelijke raffinage, waarschijnlijk onvolledige spellings- en grammatica controle en eindeloos getokkel rest mij enkel nog de immer belangrijke taak: het dankwoord. Graag wil ik via deze weg een aantal mensen bedanken, zonder wie ik deze masterproef niet tot een goed einde zou kunnen gebracht hebben. Ere aan wie ere toekomt:

Mijn promotor, Prof. Dr. Van den Abbeel, voor zijn uitstekende bereikbaarheid, zijn motiverende woorden, zijn tijd en vertrouwen in de studie.

Mijn co-promotor, Dr. De Baerdemaeker, voor haar aanstekelijk enthousiasme, haar deskundig advies en haar tijd en vertrouwen in deze studie.

Mijn ouders en zus, voor hun luisterend oor, hun kritische opmerkingen, koffie en taart en hun voortdurende interesse.

Mijn vriend, voor zijn kritische opmerkingen, voor zijn tips tijdens de realisatie van de masterproef, voor de ventilatie tijdens de moeilijker momenten en om mijn af en toe vanachter mijn bureau te halen voor de nodige ontspanning.

INHOUDSTAFEL

I.	ABSTRACT	1
II.	INLEIDING.....	3
III.	METHODOLOGIE	6
IV.	ACHTERGROND.....	8
1.	DE HIV-1 GEINFECTEERDE PATIENT.....	8
1.1.	De HIV-1 geïnfekteerde man.....	8
1.1.1.	HIV-1 in de mannelijke genitale tractus.....	8
	HIV-1 en spermatozoale cellen	8
	Intermittente shedding.....	9
	Oorsprong van HIV-1 in semen	10
1.1.2.	HIV-1 en mannelijke fertiliteit	11
1.1.3.	HAART en mannelijke fertiliteit.....	13
1.2.	De HIV-1 geïnfekteerde vrouw	15
1.2.1.	HIV-1 in de vrouwelijke genitale tractus	15
1.2.2.	HIV-1 en vrouwelijke fertiliteit.....	15
1.2.3.	HAART en vrouwelijke fertiliteit	16
V.	RESULTATEN	17
1.	SITUATIESCHETS	17
2.	DE PRECONCEPTUELE ZORG	18
3.	REPRODUCTIEVE BIJSTAND VOOR SEROPOSITIEVE KOPPELS: OVERZICHT.....	21
4.	REPRODUCTIEVE BIJSTAND VOOR SERODISCORDANTE KOPPELS	23
4.1.	Het HIV-1 serodiscordante koppel waarvan de man geïnfecteerd is.....	23
4.1.1.	De kunstmatige voortplantingsmethode	23
	Historisch kader: het pioniersschap van Semprini	23
	Spermaverwerking.....	24
	HIV-1 detectie	28
	Medisch begeleide voortplanting	30
	Evaluatie van de kunstmatige voortplantingsmethode	33
4.1.2.	De natuurlijke voortplantingsmethode: een veilig alternatief?.....	34
	Vrijen zonder condoom: alle gekheid op een stokje?.....	34
	Evaluatie van de natuurlijke voortplantingsmethode	37
4.2.	Het HIV-1 serodiscordante koppel waarvan de vrouw geïnfecteerd is	39
4.2.1.	De natuurlijke voortplantingsmethode	40

Bedside inseminatie.....	40
Onbeschermd seksueel contact.....	41
Evaluatie van de natuurlijke voortplantingsmethode	41
4.2.2. De kunstmatige voortplantingsmethode	42
Evaluatie van de kunstmatige voortplantingsmethode	42
5. REPRODUCTIEVE BIJSTAND VOOR SEROCONCORDANTE KOPPELS	43
6. IN DE KANTLIJN	44
6.1. Nood aan aparte laboratoria.....	44
6.2. Het UZ Gent protocol: van intake tot zwangerschap	46
VI. DISCUSSIE.....	47
VII. REFERENTIES.....	50
VIII. BIJLAGEN.....	I

I. ABSTRACT

Achtergrond De ontdekking van de eerste infecties met het HIV-1 virus in de jaren '80 zijn op heden uitgegroeid tot een wereldwijde pandemie die bijna 40 miljoen slachtoffers telt. Sindsdien stond het klinisch veld niet stil: de ontwikkeling van effectieve therapeutische regimes, gekend onder de naam HAART (Highly Active AntiRetroviral Therapy), deed de HIV-1 infectie evolueren van doodsvonnis tot chronische ziekte. De verlengde levensduur opent heel wat nieuwe deuren voor de geïnfecteerde patiënt. Zelfs ouderschap, jarenlang taboe, is ethisch gezien niet meer zo onmogelijk. Maar wat als het HIV-1 virus wordt overgedragen naar de partner (horizontale transmissie) of naar de kroost (verticale transmissie)? De HIV-1 transmissie blijft de grootste bekommernis in reproductieve bijstandssituaties bij geïnfecteerde wensouders. Dit risico doet zich voor in omstandigheden waar geen voorzorgen worden genomen. Er is dus nood aan veilige en effectieve reproductieve technieken om dit risico zoveel mogelijk in te perken.

Vraagstelling De belangrijkste vraag die we ons kunnen stellen in het kader van reproductieve bijstand voor HIV-1 geïnfecteerde patiënten betreft de manier waarop we het HIV-1 transmissierisico maximaal kunnen inperken. De vraagstelling kan verfijnd worden tot drie specifieke situaties: het HIV-1 serodiscordant geïnfecteerde koppel, waarvan de man, respectievelijk de vrouw geïnfecteerd is en het HIV-1 seroconcordant geïnfecteerde koppel, waarvan zowel man als vrouw geïnfecteerd zijn. Van serodiscordante koppels spreekt men wanneer slechts één van de twee partners met het HIV-1 virus geïnfecteerd is. Van seroconcordante koppels spreekt men wanneer beide partners met het HIV-1 virus geïnfecteerd zijn. Aan de hand van de literatuur wordt getracht de reproductieve aanpak in deze situaties te beschrijven en te reflecteren.

Resultaten Bij een HIV-1 geïnfecteerd koppel, waarvan de man geïnfecteerd is, bestaat de primaire methode om een biologische zwangerschap toe te laten uit de kunstmatige voortplantingsmethode. Cumulatieve data tonen aan dat dit een veilige en effectieve methode is ter vermindering van de HIV-1 transmissie. De kunstmatige voortplantingsmethode bestaat voornamelijk uit drie grote stappen: de spermaverwerking, de HIV-1 virale validatie en de eigenlijke medisch begeleide voortplanting. Alternatief kan men opteren voor de natuurlijke voortplantingsmethode: onbeschermd seksuele contacten al dan niet in combinatie met timed intercourse en/of pre-exposure profylaxis. Voor het HIV-1 geïnfecteerde koppel, waarvan de

vrouw HIV-1 geïnfecteerd is, is medisch begeleide voortplanting, in tegenstelling tot het serodiscordant koppel waarbij de man geïnfecteerd is, enkel geïndiceerd in geval van subfertiliteit. De voorkeur gaat in deze situatie uit naar de laagtechnologische benadering of de natuurlijke voortplantingsmethode, meer bepaald zelfinseminatie. Alternatief kan onbeschermd seksueel contact worden voorgesteld. Ten slotte nog een woord over het HIV-1 geïnfecteerde koppel, waarvan zowel man als vrouw HIV-1 geïnfecteerd zijn. In dit geval is het belangrijk te vermelden dat kruisbesmetting (“superinfectie”) met andere HIV-1 stammen mogelijk is. Medisch begeleide voortplanting is niet noodzakelijk, maar kan gebruikt worden om enerzijds het risico op superinfectie te voorkomen en/of anderzijds subfertiliteit te overwinnen na herhaaldelijke pogingen om op natuurlijke wijze zwanger te worden. Meestal wordt zelfinseminatie aangeraden omdat het risico op superinfectie van de man hierbij uitgesloten is, al kan de vrouw wel nog met een andere HIV-1 stam geïnfecteerd geraken.

Conclusie Het is niet verbazingwekkend dat steeds meer HIV-1 geïnfecteerde koppels een kinderwens uiten. Vandaag de dag – 20 jaar na het pionierschap van Semprini – ligt nog geen zwart op wit antwoord klaar voor de meeste vragen: er zijn nog geen gestandaardiseerde technieken noch voor spermaverwerking, noch voor HIV-1 detectie. Er is geen consensus over de verdiensten van IUI of ICSI in de preventie van HIV-1 transmissie. Het is dit gebrek aan zekerheid dat het opstellen van een ideaal protocol bijzonder moeilijk maakt. Maar met de huidige kennis is het wel reeds mogelijk om een aantal houdingen aan te nemen ten opzichte van – al dan niet vroegere – punten van discussie: zo zeggen we ja voor de systematische screening voor de medische begeleide voortplanting, ja voor de behandeling van chronisch geïnfecteerde patiënten, ja voor aparte laboratoria en procedures, maar ook neen tegen het systematische gebruik van ICSI ter preventie van de contaminatie en neen tegen het overslaan van de virale validatiestap.

II. INLEIDING

Ophef in het begin van de jaren '80. Een tot dan onbekende ziekte stak de kop op in Amerika en even later in Europa. De mysterieuze ziekte kenmerkte zich door een aantasting van het immuunsysteem. Later zou het blijken te gaan om een infectie met het retrovirus humane immunodeficiëntie virus (HIV) verantwoordelijk voor het Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). Vandaag de dag is de HIV infectie uitgegroeid tot een pandemie, waarbij wereldwijd geen enkele regio gespaard is gebleven. Het aantal geïnfecteerde wordt geschat op 38,5 miljoen en er zouden reeds 25 miljoen dodelijke slachtoffers zijn (1).

De HIV-1 besmetting

De voornaamste besmettingswijzen zijn bloed-op-bloed-contact, onder andere via injectienaalden tijdens bloedtransfusies of drugsgebruik, onbeschermd seksueel contact en moeder-op-kind transmissie bij de geboorte. Om het virus over te dragen moet er een bepaalde hoeveelheid virus aanwezig zijn (de virale lading). In secreties als speeksel, zweet, traanvocht en neussceet is de virale lading onvoldoende om een overdracht mogelijk te maken. Geïnfecteerd bloed, vaginaal vocht, sperma, in mindere mate voorvocht en etter kunnen het virus wel overdragen. Voor de overdracht is eveneens een “ingangspoort” noodzakelijk. Een intacte huid zal het virus niet doorlaten. Wondjes, blaasjes en zweertjes op het lichaam daarentegen zijn poorten waarlangs het virus wél kan binnendringen. Naast de huid zijn vooral de slijmvliezen een belangrijke toegangspoort. Besmetting is mogelijk als het virus in contact komt met de slijmvliezen van de schaamlippen, baarmoederhals, vagina, eikel, urinebuis, anus, keel, darm, mond en oog - zeker als die slijmvliezen niet helemaal intact meer zijn.

De HIV-1 levenscyclus

Eens in het lichaam heeft HIV-1 een gastheer nodig. In het geval van HIV-1 is deze gastheer de CD-4+ T-cel. Deze behoort tot de groep van de lymfocyten die normaal gezien het immuunsysteem coördineert in het geval van een infectie. Op deze wijze is het virus niet alleen in staat zichzelf te vermenigvuldigen, maar schakelt het ook het mechanisme uit waarmee het lichaam zich tegen pathogenen beschermt. Door de sterke vermindering van het aantal CD4+ T-cellen na verloop van tijd kunnen ook andere ziekteverwekkers, die normaal door het immuunsysteem onder controle worden gehouden, een ziekmakende infectie veroorzaken. Meestal zijn het deze opportunistische infecties waaraan een aidspatiënt

overlijdt. Veel aidspatiënten ontwikkelen ook zeldzame vormen van kanker (o.a. het kaposisarcoma) die het immuunsysteem onder normale omstandigheden een halt toe zou roepen.

De CD-4+ T-cellen kunnen als HIV-1 fabriekjes worden gezien. Ze worden door het virus opgezocht en eens gevonden, bindt het virus zich via een “sleutel-slot” mechanisme. Proteïnen op het oppervlak van HIV-1 binden aan de complementaire proteïnen op het oppervlak van de gastheercellen. Eens aan de cel gebonden, injecteert het virus zijn eigen cytoplasma in de gastheercel, waardoor fusie optreedt tussen de celmembraan van de gastheercel enerzijds en de buitenste enveloppe van het HIV-1 virus anderzijds.

Vooraleer het virale genetisch materiaal (RNA) kan gebruikt worden voor reproductie moet de protectieve coating rond het virus oplossen. Eens in de cel wordt het enkelstrengige virale RNA omgezet tot dubbelstrengig DNA met hulp van het enzym reverse transcriptase. Dit dubbelstrengige DNA bevat de genetische informatie noodzakelijk voor HIV-1 reproductie. Om de gastheercel als reproductor te gebruiken, moet het nieuwgevormde DNA geïntegreerd worden in de celnucleus. Na de integratie moet HIV “wachten” op andere bouwstenen die door de gastheercel worden aangemaakt. Dit is de zogenaamde virale latentieperiode. Eens alle bouwstenen beschikbaar zijn, worden ze na cleavage opnieuw geassembleerd tot nieuwe HIV-1 partikels. Een visuele voorstelling van de HIV-1 levenscyclus samen met de mogelijke aangrijpingspunten voor therapie worden in bijlage 1 meegedeeld ter illustratie.

HIV-1 en reproductie: tijd voor behandeling

Vanaf zijn initiële presentatie tot de jaren '90 leidde een besmetting met het HIV-1 virus onoverkomelijk tot aids, wat toen als een doodsvonniss kon worden beschouwd. In 1981, wanneer aids voor het eerst aan het licht kwam, bestond geen behandeling voor de geïnfecteerde patiënten. De gemiddelde levensverwachting na diagnose bedroeg dan ook slechts enkele maanden. Familieplanning werd hen ten sterkste ontraden. Argumenten waren de beperkte levensverwachting van de geïnfecteerde, het gebrek aan bewezen efficaciteit van een omslachtige medische interventie ten opzichte van onbeschermd seksueel contact en vooral het risico op contaminatie van zowel partner (horizontale transmissie) als kind (verticale transmissie). Na verloop van tijd werd duidelijk dat zo goed als 1 besmette moeder op 4 de infectie doorgaf aan haar kind. De prognose voor het geïnfecteerde kind bleek bijzonder grimmig. Bovendien zou het niet-geïnfecteerde kind dan weer op jonge leeftijd ouderloos worden. Redenen genoeg voor de meeste fertilititeitsartsen om familieplanning in deze patiëntengroep ten sterkste af te raden. De koppels werden geadviseerd condoms of

andere contraceptiva te gebruiken. Werd de vrouw toch zwanger, raadde men eerste trimester abortus aan. Door gebrek aan enige vorm van begeleiding tijdens de zwangerschapswens, neigden de koppels afstand te doen van medische diensten, waarvan ze zich buitengesloten voelden. Zo opteerden heel wat voor onbeschermd seksueel contact. Een gevaarlijke keuze, gezien de gekende transmissierisico's reeds voordien besproken (2).

De introductie van antiretrovirale therapie (HAART) zorgde hier voor een belangrijke kentering. Een drastische verbetering in levensverwachting alsook levenskwaliteit voor zowel volwassenen als kinderen werd sinds die introductie mogelijk. Dankzij de zeer effectieve therapie wordt een infectie met het HIV-1 virus in ontwikkelde landen - met andere woorden daar waar toegang is tot de antiretrovirale therapie - steeds meer als een chronische ziekte beschouwd. In de meeste fertilitieitscentra wordt gescreend naar HIV-1 en andere chronische aandoeningen. Echter slechts een handvol ervan is bereid te behandelen indien één of beide partners HIV-1 positief testen. Hoewel heel wat gelijkenissen kunnen worden gevonden tussen HIV-1 infectie en andere ooit fatale aandoeningen die vrouwen in hun reproductieve periode aantastten. Denk aan cystische fibrose, congenitale hartaandoeningen, diabetes, ex-kankerpatiënten,... Slechts zelden wordt biologisch ouderschap in deze gevallen afgewezen. Is het dan ethisch nog verantwoord een fertilitieitsbehandeling af te slaan bij HIV-1 geïnficeerde koppels? Het heeft lang geduurd, maar vandaag is het antwoord duidelijk. Het ontzeggen van een fertilitieitsbehandeling aan HIV-1 geïnficeerde patiënten met een kinderwens valt niet meer te rechtvaardigen. Daarom wordt aangeraden aan elke patiënt die zich voor een fertilitieitsbehandeling aanbiedt routinematig te testen voor HIV-1. Niet met de bedoeling HIV-1 positieve patiënten een behandeling te ontzeggen, maar wel met de bedoeling hen preconceptueel advies, risico-reducerende counseling en antenatale zorg aan te bieden (2),(3).

In deze scriptie wordt aan de hand van de literatuur uitgepluisd hoe men tegenwoordig omgaat met HIV-1 positieve patiënten die een kinderwens uiten. Hoe ziet het huidige beleid eruit? Zijn er alternatieven? Wat is nu eigenlijk de beste benadering? De onderzoeksvraag wordt opgesplitst in drie situaties: het HIV-1 positieve koppel, waarvan de man geïnficeerd is, het HIV-1 positieve koppel, waarvan de vrouw geïnficeerd is en het HIV-1 geïnficeerde koppel, waarvan zowel man als vrouw geïnficeerd zijn. Vooraleer zich in deze situaties te verdiepen, wordt achtergrondkennis opgedaan om een totaalplaatje rond de kwestie te kunnen vormen. Zo vangt men aan met de invloed van zowel virus als therapie op fertiliteit, wat op zich een sleutelrol speelt in het reproductief succes.

III. METHODOLOGIE

In deze narratieve literaire review wordt onderzoek uitgevoerd gebaseerd op publicaties die zich toespitsen op HIV serodiscordante en seroconcordante koppels met een kinderwens. In de eerste fase van deze literatuurstudie werd gezocht naar reviews die over het onderwerp handelen om een algemeen kader te scheppen. De reviews werden gehaald uit de Pubmed en ISI Web of Science databases onder de zoektermen: “HIV AND assisted reproductive technique” met behulp van de verfijningsknop ‘reviews’. Van de 73 bekomen resultaten werden 16 geëxcludeerd op basis van de taal, 22 op basis van het publicatiejaar en nog 10 op basis van de titel. Van de 25 overblijvende reviews werd de abstract gelezen. Hieruit werden 13 artikels geselecteerd voor het lezen van het volledige artikel. Daarvan werden 9 opgenomen in de literatuurstudie. Na het doornemen van de reviews werd duidelijk dat de onderzoeksvraag in drie grote delen kon worden opgedeeld: de reproductieve bijstand voor het HIV-1 geïnfecteerde koppel, waarvan de man geïnfecteerd is, de reproductieve bijstand voor het HIV-1 geïnfecteerde koppel, waarvan de vrouw geïnfecteerd is en het HIV-1 geïnfecteerde koppel waar zowel man als vrouw geïnfecteerd zijn.

Vooraleer zich te verdiepen in de onderzoeksvraag, bleek het belangrijk om eerst achtergrondkennis op te doen. Goed voor de tweede fase van de literatuurstudie. In de databases werd onder de zoektermen “HIV AND male genital tract”, “HIV AND fertility”, “HIV AND semen quality”, “HAART AND fertility” gezocht. Met behulp van verfijningsknoppen werd een eerste selectie uitgevoerd. Enkel de artikels in het Engels, de laatste 15 jaar gepubliceerd en waarvan een volledige tekst beschikbaar is werden opgevraagd. In totaal werden 766 resultaten bekomen. Daarvan konden heel wat geëxcludeerd worden op basis van de titel. De belangrijkste exclusiefactoren waren duplicaten en derdewereld studies. Men ging ervan uit dat de patiënten uit ontwikkelingslanden niet zomaar gelijk konden gesteld worden aan patiënten uit ontwikkelde landen, aangezien de klinische profielen vaak verschillen. Wat de duplicaten betreft, opteerde men voor de recentste studies met het grootst aantal geïncludeerde patiënten. Van de resterende selectie werden alle abstracts gelezen, zodat slechts 42 artikels volledig werden gelezen. 29 artikels werden in de scriptie geïncludeerd. Daaraan werden 14 artikels toegevoegd, bekomen uit de referenties van voorgaande artikels.

In de derde fase werd voor elk van de drie bovengenoemde situaties verfijnd op zoek gegaan naar publicaties in de databases Pubmed en ISI Web of Science. De volgende zoektermen werden gehanteerd: “HIV AND assisted reproductive techniques (ART)”, “ HIV AND infertility (infertility therapy)”, “HIV AND sperm washing”, “HIV AND IVF”, “ HIV AND IUI”, “HIV serodiscordant couples”, HIV AND pre-exposure profylaxis”, HIV AND timed intercourse”, “HIV positive women AND fertility”. Op de verzamelde artikels werd geen tijdsbeperking, maar wel een taalbeperking opgelegd. Enkel de Engelse artikels werden geselecteerd. Studies uitgevoerd in ontwikkelingslanden werden geëxcludeerd. Zo werden verschillende studietypes bekomen: niet vergelijkende open interventies, observationele cohorte studies, case controle studies en gerandomiseerde controle studies (al waren deze laatste vaak niet beschikbaar om ethische redenen). Voor verdere exclusie werd gekeken naar het type studie, het aantal geïncludeerde patiënten, de impact factor van het artikel, de follow-up periode en de uitkomsten van de studie. Zoekwerk uit de databases leverde 24 artikels op. Tot slot werd ook nog handmatig zoekwerk uitgevoerd uit de referentielijst van de geselecteerde artikels, goed voor 8 extra geïncludeerde studies.

Gaandeweg werden nog 6 artikels bijgevoegd. Zij werden bekomen uit de referenties van de gelezen artikels en betreffen thema's die een kader scheppen rond de onderzoeksvraag: de ethische kwestie, de preconceptuele counseling en de nood aan veilige laboratoria.

IV. ACHTERGROND

1. DE HIV-1 GEINFECTEERDE PATIENT

1.1. De HIV-1 geïnfecteerde man

1.1.1. HIV-1 in de mannelijke genitale tractus

In het lichaam van de HIV-1 geïnfecteerde mannelijke patiënt is het HIV-1 virus zowel aanwezig in anatomische compartimenten als in lichaamsvochten, waarvan bloed en semen de twee voornaamste zijn. Microscopisch is semen voor 10% uit cellulaire elementen en voor 90% uit plasma opgebouwd. Het seminaal plasma ontstaat uit secreties afkomstig van de seminale vesikels en prostaatklieren en reflecteert daardoor vocht distaal van de vas deferens. Onder de cellulaire elementen worden de spermatozoale cellen (SC) en de non-spermatozoale cellen (NSC) - zoals CD4-positieve lymfocyten en macrofagen - onderscheiden.

In het semen van een geïnfecteerde patiënt kan het HIV-1 virus onder verschillende vormen aanwezig zijn, zowel geassocieerd aan een cel als niet cel-geassocieerd, zijnde een celvrij partikel. Voor de detectie van het virus maakt men gebruik van de polymerase kettingreactie (PCR). Met behulp van deze techniek worden ondetecteerbaar kleine hoeveelheden genetisch materiaal (DNA of RNA) via amplificatie omgezet tot detecteerbare hoeveelheden. Op die manier kan het HIV-1 virus in het semen van de asymptomatische HIV-1 geïnfecteerde man worden teruggevonden als celvrij HIV-1 RNA partikel in het seminaal plasma en als cel-geassocieerd virus in de niet-spermatozoale cellen onder de vorm van proviraal HIV-1 DNA (4). Een visuele voorstelling van de PCR techniek wordt in bijlage 2 meegedeeld.

HIV-1 en spermatozoale cellen

Over de aanwezigheid van HIV-1 als cel-geassocieerd virus in de spermatozoale cellen werd lange tijd hevig gedebatteerd. Vandaag de dag wordt algemeen aanvaard dat motiele spermatozoa niet productief worden geïnfecteed door het HIV-1 virus, maar dat is niet altijd zo geweest (5). Diegene die pleitten voor de productieve infectie van de spermatozoale cellen toonden aan dat proviraal HIV-1 DNA en/of RNA kan gedetecteerd worden met behulp van PCR in gepurifieerde spermatozoa van geïnfecteerde mannen. Diegene die pleitten tegen veronderstelden dat deze positieve bevindingen afkomstig waren van contaminatie van de spermatozoa door geïnfecteerde leukocyten uit de fractie of het gevolg zijn van vals positieve testresultaten (6),(7),(8). En inderdaad, deze laatsten hadden het bij het rechte eind. Wanneer PCR wordt uitgevoerd op gepurifieerde spermatozoale fracties die naast een dichtheitsgradiënt

centrifugatie ook een swim-up stap of dubbele buis technieken ondergingen, kan in het algemeen geen HIV-1 genetisch materiaal worden gedetecteerd (9),(10),(11),(12). Met een niet reproductieve infectie wil men zeggen dat het HIV-1 virus niet actief wordt gerepliceerd. Dit wordt gestaafd door de bevinding dat de CD-4 receptor - de HIV-1 hoofdreceptor – noodzakelijk voor de *cellulaire entry* van HIV-1 niet op de spermatozoale cellen kan worden aangetoond (9). Ze kunnen echter wel als “carriers” fungeren, wat betekent dat ze het virus kunnen overbrengen naar cellen die wel tot actieve replicatie in staat zijn. Dit doen ze door de virale partikels te binden aan bindingsmoleculen die op hun oppervlakte kunnen worden aangetoond. In overeenstemming met deze bevinding toonden HIV-1 spiking experimenten¹ aan dat spermatozoale cellen als carriers optreden die het virus transmitteren naar de gevoelige leukocyten (13). Latere gelijkaardige studies duiden microscopisch de aanwezigheid van HIV-1 partikels en immuno-gelabelde proteïnen aan het oppervlak of geïnternaliseerd (14).

Samenvattend kan men stellen dat op het spermatozoale oppervlak receptoren aanwezig zijn, die kunnen instaan voor HIV-1 specifieke binding gedurende hun progressie doorheen de mannelijke genitale tractus. Op die manier kunnen spermatozoa als carriers acteren, maar niet als actieve replicatoren. De exacte mechanismen van deze interactie tussen HIV-1 en spermatozoa en hun impact op de morfologie zijn verre van ontrafeld en verder onderzoek is hier noodzakelijk. De meeste studies kunnen HIV-1 genetisch materiaal niet aantonen in verwerkt motiel sperma. Enkele gerapporteerde uitzonderingen wijzen waarschijnlijk op vals positieve resultaten of op uitzonderlijke gebeurtenissen.

Intermittente shedding

Intermittente shedding van HIV-1 RNA is het meest voorkomend patroon van HIV-1 aanwezigheid in semen. Voor dit fenomeen zijn twee verklaringen. Ten eerste verschilt de samenstelling van het ejaculaat tussen verschillende mannen onderling als met de tijd bij éénzelfde man. Ten tweede kan lokale inflammatie de HIV-1 RNA concentratie in het semen doen stijgen, onafhankelijk van de HIV-1 RNA concentratie in het bloed (15).

In een onbehandelde HIV-1 infectie is de concentratie HIV-1 RNA in semen gemiddeld 10 keer lager dan in bloedplasma. Niettemin bestaan hierop uitzonderingen bij sommige individuen, waarbij de HIV-1 RNA concentratie in het seminaal plasma hoger is dan in het bloedplasma (4). Bij therapie vertonen bloedplasma en seminaal plasma een parallelle

¹ HIV-1 spiking experimenten zijn experimenten waarbij men gebruikt maakt van het semen van HIV-1 negatieve donoren waar een gekende hoeveelheid HIV-1 virus aan wordt toegevoegd.

virologische respons bepaald aan de hand van de HIV-1 RNA concentratie in bloed en in plasma. Hoe suppressiever de therapie, hoe beter en hoe meer continu de respons (8).

Het gevolg van deze intermittente shedding is dat er occasionele discrepanties kunnen ontstaan tussen HIV-1 RNA in bloedplasma en seminaal plasma waarbij HIV-1 RNA kan gedetecteerd worden in seminaal plasma ondanks adequate suppressie van HIV-1 RNA in bloedplasma (9),(16),(17),(18).

Oorsprong van HIV-1 in semen

De exacte oorsprong van HIV-1 in de mannelijke genitale tractus (MGT) is tot op heden onduidelijk. Oorspronkelijk ging men ervan uit dat HIV-1 geproduceerd werd in de lumina van de mannelijke genitale tractus, waardoor HIV-1 in het semen kon gedetecteerd worden. Deze hypothese werd door Lowe et al. (2004) weerlegd aan de hand van 3 virologische (i, ii, iii) en 1 immunologisch (iv) argument:

- i) De HIV-1 RNA concentratie gradiënt tussen bloedplasma en seminaal plasma (4);
- ii) De parallelle virologische respons op therapie in bloedplasma en seminaal plasma (8);
- iii) Vasectomie heeft geen invloed op seminale plasma HIV-1 RNA concentratie waardoor verondersteld wordt dat het grootste deel van het HIV-1 RNA in het seminaal plasma afkomstig is van seminale vesikels en prostaat (19);
- iv) Aangezien spermatozoa immunogeen zijn, moeten leukocyten anergisch worden. Het gevolg van de immunosuppressieve status van het lumen en de luminal lining cells van de mannelijke genitale tractus is enerzijds dat lokale CD-4+ cellen minder makkelijk geïnfecteerd geraken en nauwelijks HIV-1 produceren en anderzijds de totstandkoming van een natuurlijke barrière voor de ontwikkeling van drugsresistentie, compatibel met de bevinding dat drugresistente mutaties zelden eerst in het semen worden teruggevonden (1).

Lowe et al. (2004) stelde een nieuwe hypothese op, met name dat HIV-1 in semen waarschijnlijk zijn oorsprong vindt buiten het lumen van de mannelijke genitale tractus en via spillover uit de luminale lining cellen en/of het bloed/extraluminaal weefsel - welke volledig blootstaan aan antiretrovirale therapie - in de mannelijke genitale tractus terechtkomen. Een waarschijnlijk gevolg van deze hypothese is dat in geval van adequate virale suppressie (bloedplasma <50 kopijen/ml) de HIV-1 transmissie via het semen niet kan plaatsvinden. Een kleine minderheid vormt hierop een uitzondering. Bij hen kunnen bepaalde lokale factoren wél resulteren in lokale luminale HIV-1 productie. Bijgevolg zijn zij gevoeliger voor de

ontwikkeling van therapieresistente HIV-1 in de mannelijke genitale tractus. Tot deze factoren behoren een gevorderd stadium van de infectie, een (a)symptomatische lokale infectie/inflammatie en een leukocytospermie. Dit rechtvaardigt de agressieve screening naar en behandeling van soa's en lokale inflammatie bij deze patiënten (4).

Naar analogie met de definities van *viraal compartiment*, *viraal reservoir* en *sanctuary site*² is de tubulus seminiferus noch een virologisch compartiment noch een sanctuary site voor HIV-1 gezien de afwezigheid van target cellen. De luminale resten van de mannelijke genitale tractus zijn zowel een viraal compartiment als viraal reservoir door de aanwezigheid van CD-4+ leukocyten als doelcellen, maar eveneens geen sanctuary site aangezien onder normale omstandigheden de virale replicatie wordt gearresteerd door de lokale immunosuppressieve status.

Concluderend stelt men dat ondanks de ongedefinieerde oorsprong, HIV-1 RNA aanwezig is in de mannelijke genitale tractus, weliswaar in variabele frequenties en concentraties.

1.1.2. HIV-1 en mannelijke fertiliteit

Fertiliteit is een subjectief gegeven. Om een fertiliteitsstatus na te gaan zijn objectiveerbare parameters nodig. Semen kwaliteit is daar een van. Verschillende parameters zoals morfologie, motiliteit, volume,... worden in semenanalyses onderzocht. In bijlage 3 worden de WHO referentiewaarden voor elk van deze parameters ter illustratie meegegeven (20).

Verschillende studies hebben de kwaliteit van semen parameters in HIV-1 geïnfecteerde mannen onderzocht met inconsistente resultaten. Deze tegenstrijdige resultaten kunnen te wijten zijn aan verschillen in i) rekrutering van HIV-1 geïnfecteerde mannen en de fertiliteitsstatus van de controlegroep; ii) methodologische variaties in de semen analyse; iii) de proportie mannen die deelneemt aan de medisch begeleide voortplanting; iv) inclusie van andrologische informatie (bv. cryptorchidie, varicocele, genitale infecties,...) (21). Het is erg moeilijk om tot een conclusie te komen over de relatie tussen HIV-1 status en de semen parameters in asymptomatische (lees: vroege) HIV-1 patiënten. De eerste studies suggereren dat de semen kwaliteit niet wordt aangetast in een asymptomatisch HIV-1 infectie. Men spreekt van “stabiele” semen parameters (22),(23),(24). Echter, Nicopoullou et al. (2004)

²*Viraal compartiment*: een anatomische site waarin bij onbehandelde patiënten het virus zich ontwikkelt vanuit andere anatomische sites of vanuit de hoofdpool geïnfecteerde cellen

Viraal reservoir: een anatomische site of celtype waarin het replicatie competente virus langer persisteert dan in de hoofdpool geïnfecteerde cellen dat de infectie onderhoudt. Vanuit dit viraal reservoir kan de hoofdpool worden heraangevuld.

Sanctuary site: een anatomisch afgegrensd gebied waarin antiretrovirale middelen niet of nauwelijks kunnen doordringen en waarin de vermenigvuldiging van het HIV-1 virus kan plaatsvinden ondanks HAART.

beschreef een occasionele reductie in spermamotiliteit en in percentage spermatozoa met normale morfologie (25). Critici argumenteren dat de mannen onder en zonder HAART als één groep worden beschouwd, waardoor onduidelijk is of deze waarnemingen het gevolg zijn van de HIV-1 infectie zelf of van de antiretrovirale therapie. Als schaduwzijde van die eerste studies geldt het feit dat de meeste subjecten reeds geïnfecteerd zijn op het moment van de eerste semen analyse, waardoor geen vergelijking kan worden gemaakt tussen de semen parameters voor en na HIV-1 infectie (22),(26),(27). Studies die de semen parameters bestuderen voor en na HIV-1 contaminatie blijven tot op heden beperkt tot één enkele case report. Het betreft een man die aan een semen donatie programma participeerde. Omdat van alle monsters een semen analyse beschikbaar was voor de cryopreservatie konden de semen parameters voor, tijdens en na de acute HIV-1 infectie worden vergeleken. Deze case report is de eerste die het effect van een acute HIV-1 infectie op de semen kwaliteit beschrijft. De resultaten tonen een reductie in sperma motiliteit en morfologisch normale spermatozoa evenals een toename in sperma concentratie na HIV-1 contaminatie aan. In alle andere tot nu toe bekende onderzoeken, waarvan de meeste suggereren dat de semen kwaliteit niet wordt aangetast in een vroege HIV-1 infectie, waren de mannen reeds met HIV-1 geïnfecteerd voordat de semen analyse werd uitgevoerd. Echter, doordat dit onderzoek slechts op 1 man betrekking heeft, is de klinische significantie onduidelijk en kunnen geen definitieve conclusies worden getrokken. Een longitudinale cohorte studie over de effecten van een HIV-1 infectie op de semen kwaliteit zou nodig zijn om deze bevindingen te bevestigen (28). Dezelfde auteur onderzocht het effect van een onbehandelde asymptomatische HIV-1 infectie op de semen kwaliteit. Dankzij de longitudinale design van de studie was het mogelijk het effect van een lopende HIV-1 infectie na te gaan op de semen parameters. Geen enkele semen parameter veranderde significant tijdens de follow-up periode, maar de progressieve motiliteit en het semen volume waren - volgens de WHO criteria - laagnormaal op elk tijdstip. Dit onderzoek is geruststellend in het opzicht dat het uitstellen van behandeling in de vroege HIV-1 infectie, wegens de bekommernis over de lange termijn effecten van de behandeling, geen negatieve weerslag heeft op de seminale parameters (29).

In 2011 bevestigde Nicopoullou et al. het reeds gekende ongunstige effect van de HIV-1 infectie op de semen parameters door een negatieve correlatie tussen CD4 cell count en ziekteprogressie enerzijds en semen parameters anderzijds aan te tonen. In dezelfde studie werd eveneens het potentieel negatief effect van HAART op de semen parameters aangetoond, welke de voordelen van een reductie in virale lading en een toename in aantal CD4 cellen kunnen teniet doen (zie 1.1.3.). Echter, ondanks deze significante bevindingen

zijn de correlatie coëfficiënten laag, wat een gradueel effect suggereert. Dit betekent dat de gemiddelde semen parameter waarden voldoen aan de voorwaarden voor spontane conceptie en daarom geschikt voor IUI (30).

1.1.3. HAART en mannelijke fertiliteit

HAART (Highly Active AntiRetroviral Therapy) is een verzamelnaam voor combinatieschema's van antiretrovirale middelen die door HIV-1 geïnfecteerde patiënten levenslang worden ingenomen. Deze medicatie is zeer effectief in het onderdrukken van het virus en werkt op die manier levensverlengend, maar is niet zonder gevolgen op de lange termijn: afwijkingen in het vetmetabolisme, insuline resistentie, premature atherosclerose, neuropathieën en lipodystrofiën kunnen ontstaan. Aan de basis ligt mitochondriale toxiciteit (31).

Nucleoside reverse transcriptase inhibitoren (NRTI) vormen de hoeksteen van de HAART combinatie regimes. Niettemin is geweten dat deze agentia het potentieel hebben een variëteit aan bijwerkingen te veroorzaken, waarvan velen te wijten zouden zijn aan mitochondriale schade. Mitochondria, de energie producerende organellen zijn uniek in het hebben van hun eigen DNA: het mitochondriaal DNA (mtDNA). Het enzym polymerase gamma staat in voor de replicatie van mtDNA. De functie van dit enzym kan worden aangetast door NRTI's, leidende tot een depletie van het mtDNA of tot kwalitatieve wijzigingen. Ook andere mechanismen leidend tot mitochondriale dysfunctie zijn voorgesteld als bijdragend tot de NRTI toxiciteit syndromen. Naast HAART kan ook de HIV-1 infectie zelf resulteren in een mtDNA depletie in de perifere bloed mononucleaire cellen. Het mechanisme hierachter is tot nu toe onbekend (32),(31). Mitochondria zijn in spermatozoa in overvloed aanwezig en leveren energie voor de bewegelijkheid ervan. De afname in aantal progressief motiele spermatozoa na het opstarten van HAART, zoals beschreven door Van Leeuwen et al. (2008) (33) zou dus kunnen veroorzaakt worden door de mitochondriale toxiciteit als gevolg van de penetratie van NRTI's in spermatozoa of hun precursoren. Echter, deze hypothese dient nog te worden bewezen.

Ondanks de herkenning van de rol van de mitochondriale toxiciteit in HIV-1 en HAART complicaties voor meer dan 20 jaar is de pathogenese ervan nog steeds niet volledig ontrafeld (32).

Het effect van HAART op de semen kwaliteit wordt nog onderzocht, maar is belangrijk om weten aangezien de kwaliteit van de semen parameters een sleutelrol speelt bij reproductief succes. Het effect van antiretrovirale therapie is moeilijk te onderscheiden van het effect van de HIV-1 infectie. Daarom onderzocht Van Leeuwen et al. (2004) het effect van HAART op semen kwaliteit aan de hand van een longitudinale cohorte studie met data over semen parameters voor en tijdens de eerste 48 weken HAART. Een cohorte van 34 mannen, net met HAART startend, werd gedurende 48 weken opgevolgd. Het percentage progressief motiele spermatozoa - afgemeten aan de WHO normen - was op alle tijdstippen laag en daalde tijdens de follow-up statistisch significant. Alle andere semen parameters waren binnen de normale waarden en bleven stabiel. Door de kleine cohorte en de beperkte follow-up periode kan geen uitspraak worden gemaakt over de gevolgen van nog een langdurigere blootstelling van spermatozoa aan HAART, noch over welke HAART samenstelling het meest schadelijk is en welk mechanisme verantwoordelijk is voor de afname in beweeglijkheid van de spermatozoa. Omdat een HIV-1 infectie zelf geen significant effect - de semen parameters blijven binnen de grenzen van de WHO normen - heeft op semen parameters (29), werd geconcludeerd dat de afname in progressief motiele spermatozoa waarschijnlijk veroorzaakt wordt door HAART (33). Een meer recente studie toont het potentieel negatief effect van HAART op de semen parameters, welke de voordelen van een reductie in virale lading en een toename in CD4 cell count kunnen teniet doen (30).

Een oudere studie toont – volgens de WHO criteria - normale semen parameters die stabiel blijven na introductie van zidovudine in monotherapie bij 5 geïnfecteerde mannen (26), maar verbeteren in 20 geïnfecteerde mannen na een aantal weken HAART (34). Deze geobserveerde verbetering valt mogelijks te verklaren door de verbetering in algemene gezondheid na HAART. Spijtig genoeg is de follow-up periode van 70 dagen te kort om een uitspraak te doen over een potentieel schadelijk effect op de spermatogenese.

1.2. De HIV-1 geïnficeerde vrouw

1.2.1. HIV-1 in de vrouwelijke genitale tractus

HIV-1 kan gedetecteerd worden in zowel vaginale als cervicale secreties als zowel celvrij virus als cel-geassocieerd virus (35), (36). Het grootste deel van HIV-1 in de vrouwelijke genitale tractus is uit de cervix afkomstig (37). Bloed plasma HIV-1 RNA concentratie is de belangrijkste predictor voor HIV-1 genitale shedding (38). Geassocieerd aan een toegenomen genitale shedding zijn het gebruik van orale anticonceptiva, vitamine A deficiëntie, Candida Albicans infectie en gonorrhoea cervicitis (39), (40). HAART is dan weer geassocieerd met een afgenomen genitale shedding, ondanks de nog steeds detecteerbare HIV-1 RNA in de genitale secreties in 33% van de vrouwen bij wie de bloedplasma HIV-1 RNA concentratie <500 kopijen/ml bedroeg en in 25% van de vrouwen bij wie de bloedplasma HIV-1 RNA concentratie <50 kopijen/ml bedroeg (38). Dit kan verklaren waarom het risico op verticale en horizontale transmissie via HAART kan gereduceerd worden, maar nooit volledig geëlimineerd. Dit was lange tijd een argument om bijgevolg, ook al is HAART succesvol, onbeschermd seksueel contact te allen tijde te vermijden.

1.2.2. HIV-1 en vrouwelijke fertiliteit

Polymenorrhea en oligomenorrhea, respectievelijk een zeer korte of een lange menstruele cyclus, beiden geassocieerd met subfertiliteit zijn even prevalent in asymptomatische HIV-1 geïnficeerde vrouwen en negatieve controles. Echter, in een meer gevorderde immunodeficiëntie vindt men significant meer menstruele dysfuncties terug (41). Resultaten wat betreft de ovariële reserves zijn wisselend. Sommige beschrijven een normale ovariële reserve (42), waar andere een hogere incidentie aan ernstige ovariële dysfuncties, met name prematuur ovarieel falen (POF) aantonen (43).

Case controle studies suggereren lagere zwangerschapsratio's in HIV-1 geïnficeerde vrouwen in vergelijking met HIV-1 case controls, onafhankelijk van een vroeger doorgemaakt of lopende seksueel overdraagbare aandoening (SOA) (44). Progressie van de HIV-1 ziekte resulteert in een dramatische afname van zwangerschapsratio's en levend geboren kinderen (45).

Belangrijk zich te realiseren is dat de meeste data gegenereerd worden door studies uitgevoerd in Afrika en deze data weerspiegelen niet altijd de situatie in de rest van de wereld (42).

1.2.3. HAART en vrouwelijke fertiliteit

Op dit moment kunnen door gebrek aan data geen conclusies worden getrokken.

V. RESULTATEN

1. SITUATIESCHETS

Een HIV-1 geïnfecteerd koppel dat zich met een kinderwens aanmeldt, onderscheidt zich in een aantal opzichten van een niet geïnfecteerd koppel. Het belangrijkste onderscheid omvat het risico op virale transmissie naar zowel partner (horizontaal) als kind (verticaal). Tot voor kort werd familieplanning ten sterkste ontraden aan deze patiënten. De belangrijkste argumenten waren het risico op overdragen van het virus met een bijzonder grimmige prognose voor het geïnfecteerde kind. Had het kind het geluk niet geïnfecteerd te zijn, kon het dan weer op jonge leeftijd ouderloos worden. Redenen genoeg voor de meeste fertilitairtsen om tegen zwangerschap te adviseren. De introductie van antiretrovirale therapie (HAART) bracht hierin een belangrijke kentering. Een drastische verbetering in levensverwachting alsook levenskwaliteit voor zowel volwassenen als kinderen werd sinds die introductie vastgesteld. De verlengde levensduur opent heel wat nieuwe deuren voor de geïnfecteerde patiënt. Zelfs ouderschap, jarenlang taboe, is ethisch gezien niet meer zo onmogelijk. Op die manier wordt een infectie met het HIV-1 virus in ontwikkelde landen, met andere woorden voor diegene die tot de antiretrovirale therapie toegang krijgen, steeds meer als een chronische ziekte beschouwd. Stilaan kreeg fertiliteitsbijstand voor HIV-1 geïnfecteerde patiënten een plaats en deze wordt vandaag de dag in de Westerse wereld met regelmaat toegepast. Maar wat als het HIV-1 virus wordt overgedragen naar de partner (horizontale transmissie) of naar de kroost (verticale transmissie)? De HIV-1 transmissie blijft de grootste bekommernis in reproductieve bijstandssituaties bij de geïnfecteerde wensouders. Dit risico doet zich voor in omstandigheden waar geen voorzorgen worden genomen. Er is dus nood aan veilige en effectieve reproductieve technieken om dit risico zoveel mogelijk in te perken. De belangrijkste vraag die we ons kunnen stellen in het kader van reproductieve bijstand voor HIV-1 geïnfecteerde patiënten betreft de manier waarop we het HIV-1 transmissierisico kunnen inperken. De vraagstelling kan verfijnd worden tot drie specifieke situaties: het HIV-1 geïnfecteerde koppel, waarvan de man, respectievelijk de vrouw geïnfecteerd is en het HIV-1 geïnfecteerde koppel, waarvan zowel man als vrouw geïnfecteerd zijn.

2. DE PRECONCEPTUELE ZORG

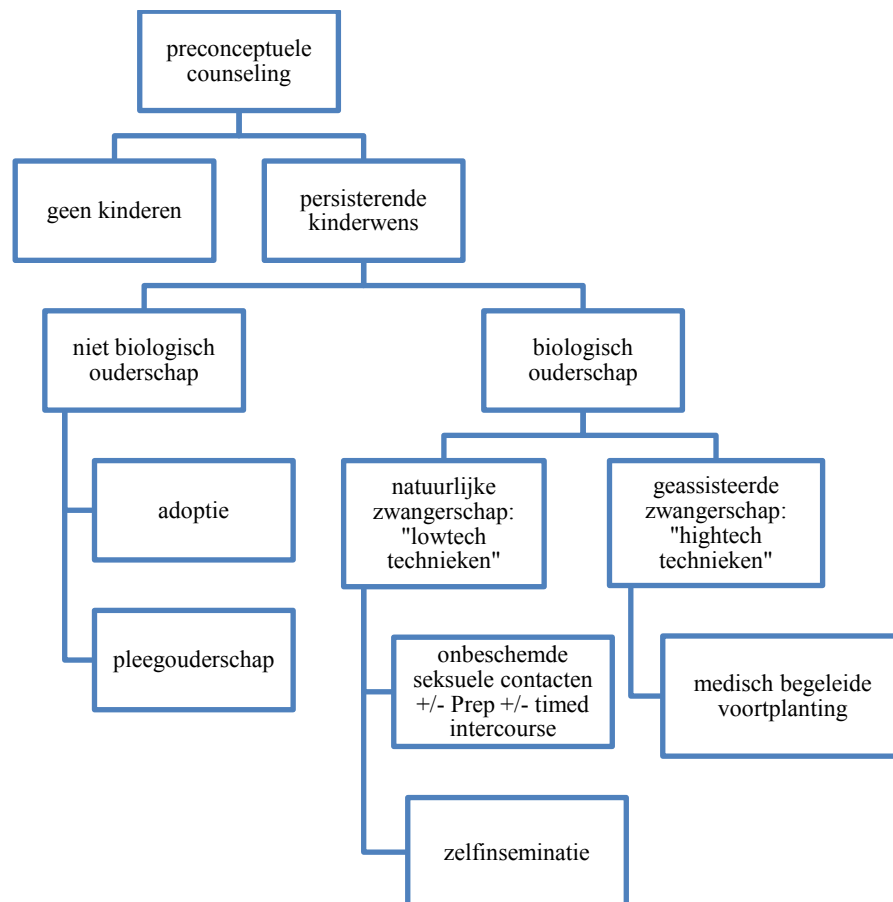
Om op het terrein van zwangerschap en bevalling gezondheidswinst te kunnen boeken is het concept van de preconceptionele zorg ontstaan. De Gezondheidsraad heeft preconceptionele zorg gedefinieerd als: het geheel van maatregelen ter bevordering van de gezondheidstoestand van de zwangere en haar kind, dat om effectief te kunnen zijn bij voorkeur al start voor de conceptie. Getracht wordt het gezondheidsbevorderende gedrag al voor de zwangerschap te beïnvloeden om bepaalde risico's te vermijden en zo de zwangerschap-uitkomsten voor moeder en kind te verbeteren. Preconceptionele zorg is dan een vorm van primaire preventie. Preconceptionele zorg heeft niet alleen betrekking op de moeder maar strekt zich ook uit tot de aanstaande vader. Waarschijnlijk heeft iedere vrouw baat bij de preconceptionele zorg. Echter bij sommige patiënten, zij met een overduidelijk verhoogd risico op een niet-optimale zwangerschapuitkomst, is de preconceptionele zorg een absolute noodzaak. Zo ook voor de HIV-1 geïnfecteerde koppels. Bij hen is het doel van deze preconceptuele zorg te verzekeren dat iedere zwangerschap gepland en goed getimed is, en het HIV-1 transmissierisico zo veel mogelijk gereduceerd wordt. Om dit doel te bereiken moeten gezondheidszorgmedewerkers op een proactieve manier te werk gaan. Met de volgende aspecten dient rekening te worden gehouden: i) de nood aan reductie van het transmissierisico naar niet geïnfecteerde partner of kroost; ii) de betrokkene in staat stellen geïnformeerde reproductieve beslissingen te maken; iii) het koppel informeren over HIV-1 transmissierisico's en zwangerschapskansen zowel bij natuurlijke zwangerschap als bij medisch begeleide voortplanting; iv) het koppel voorbereiden op de psychologische impact van medisch begeleide voortplanting; v) de opties adoptie en pleegouderschap bespreken; vi) het koppel informeren en adviseren over het transmissierisico van andere, frequent geassocieerde infecties (HBV, HCV,...). Barreiro et al. (2007) stelde een flowchart op om op een gestandaardiseerde manier te werk te gaan. Men begint met een persoonlijk interview van elke partner, daarna volgt een klinische evaluatie en tot slot een evaluatie van het fertiele potentieel van elke partner (46).

Proposed protocol to evaluate HIV- serodiscordant couples wanting to be parents

1. General discussion with the couple
 - Risk of HIV transmission and other infections (hepatitis B or C), to seronegative partner and/or newborn
 - Factors affecting transmission
 - HIV-RNA and CD4+ cell counts
 - Genital tract: infections, dysbacteriosis, inflammation, dysplasia, erosions, etc. (both members of the couple)
 - Tobacco, alcohol and illicit drugs
 - Stability and duration of couple relationship
 - Life expectancy of HIV- positive partner
 - Age of the mother: risk for birth defects and reduced fertility
 - Fertility impairment due to HIV infection and/or antiretrovirals
 - Reproductive options
 - Natural conception
 - Self insemination
 - Assisted reproduction
 - Other options
 - Adoption
 - Accepting no children
2. Clinical evaluation of each partner
 - History: special attention to
 - HIV- status: opportunistic events, CD-4 count, viral load
 - Fertility: menstrual cycles, infertility factors Antiretrovirals: adherence, tolerance, experienced in pregnancy, teratogenicity
 -
 - General examination
 - Pelvic examination: bacterial vaginosis, cervical dysplasia
 - Investigations
 - Hematology and biochemistry. Blood type
 - Screening for: HIV, Hepatitis A, B and C, Cytomegalovirus, Herpes simplex, Rubella, Toxoplasma and Syphilis
 - Culture of the genital secretions: Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis and Trichomonas vaginalis etc,...
 - Vaccination status: consider rubella, varicella, hepatitis A/B
3. Evaluation of fertile potential (specially indicated if history of aids, urologic/ gynaecologic complications or advanced age)
 - Male partner: spermogram (count, motility, morphology)
 - Female partner
 - Thyroid hormones
 - LH, FSH, estradiol, progesterone, prolactin
 - Pelvic ultrasound
 - Hysteroslapingogram (if recommended according to past history)

TABEL 1. Preconceptionele zorg flowchart volgens Barreiro et al. (2007) (46).

Het kan zijn dat na de preconceptuele counseling het koppel besluit geen eigen of biologische kinderen te krijgen. Indien de kinderwens echter blijft persisteren zijn er meerdere opties. Welke optie uiteindelijk zal worden gekozen, hangt af van de bevindingen uit de preconceptuele counseling en de voorkeur van het koppel. Ofwel kiest het koppel voor het “veilige” niet biologisch ouderschap: adoptie of pleegouderschap. Hier gaat men verder niet op in. Wenst het koppel een biologische zwangerschap, moet een keuze gemaakt worden tussen een natuurlijke zwangerschap of een geassisteerde zwangerschap. Uiteraard zijn aan elke optie voorwaarden gekoppeld. De opties worden in het volgende hoofdstuk besproken. We maken een onderscheid tussen drie verschillende situaties: het serodiscordante koppel, waarvan de man HIV-1 geïnfecteerd is, het serodiscordante koppel, waarvan de vrouw HIV-1 geïnfecteerd is en het HIV-1 seroconcordante koppel. Van serodiscordante koppels spreekt men wanneer slechts één van de twee partners met het HIV-1 virus geïnfecteerd is. Van seroconcordante koppels spreekt men wanneer beide partners met het HIV-1 virus geïnfecteerd zijn.



FIGUUR 1. Reproductieve opties voor het HIV-1 geïnfecteerde koppel.

3. REPRODUCTIEVE BIJSTAND VOOR SEROPOSITIEVE KOPPELS: OVERZICHT

Na de reproductieve counseling kan men als arts kiezen om reproductieve bijstand te verlenen. Het doel van de reproductieve bijstand is zowel de horizontale transmissie naar de niet-geïnfecteerde partner als de verticale transmissie naar het kind te voorkomen. Reproductieve bijstand beperkt zich niet enkel tot geassisteerde zwangerschappen, maar neemt ook de counseling van zwangerschappen bekomen op natuurlijke wijze in rekening. De term is dus veel breder dan enkel de hoogtechnologisch medisch begeleide voortplanting. Het omvat eveneens de counseling van niet-technologische interventies zoals onder andere zelfinseminatie en onbeschermd seksueel contact al dan niet in combinatie met timed intercourse en/of pre-exposure profylaxis. In de Engelse literatuur maakt men wel eens een onderscheid tussen de laagtechnologische (“*low-tech*”) reproductieve bijstand en de hoogtechnologische (“*high-tech*”) reproductieve bijstand. De rationale van reproductieve bijstand voor HIV-1 geïnfecteerde koppels kan driedelig zijn: i) het overwinnen van subfertiliteit voor dezelfde indicaties als niet HIV-1 geïnfecteerde koppels; ii) het risico op HIV-1 transmissie bij HIV-1 serodiscordante koppels reduceren; iii) het voorkomen van HIV-1 superinfectie met een andere HIV-1 stam bij HIV-1 seroconcordante koppels.

Drie verschillende situaties worden beschreven met elk hun eigen reproductieve bijstandsopties.

Reproductieve bijstand in HIV-1 discordante en concordante koppels.

Man	Vrouw	Risico op superinfectie van de partner	op de HIV processing	semen	Hoofddoel van de reproductieve bijstand
HIV+	HIV -	Ja	Ja		Preventie HIV-1 transmissie
HIV-	HIV+	Neen ^a	Neen		Overwinnen subfertiliteit
HIV+	HIV+	Neen ^b	Neen		Overwinnen subfertiliteit
HIV+	HIV+	Ja ^b	Ja		Preventie van HIV-1 transmissie

^a Wanneer zelf- inseminatie wordt gebruikt;

^b et risico op superinfectie hangt af van het feit of de partner al dan niet met dezelfde HIV stam geïnfecteerd is, en of een dan wel beide partners met HAART worden behandeld.

TABEL 2. *Reproductieve bijstand in HIV-1 discordante en concordante koppels. Tabel naar E. Leeuwen et al. (2007) (47).*

Het serodiscordante koppel, waarbij de man HIV-1 geïnfecteerd is

De serodiscordante koppels, waarbij de man HIV-1 geïnfecteerd is, kunnen op twee manieren benaderd worden: zowel met de hoog- als de laagtechnologische benadering. De hoogtechnologische benadering omvat de combinatie van spermawassing³, waar men HIV-1 vrije spermatozoale fracties tracht te bekomen, en medisch begeleide voortplanting om transmissie te voorkomen. Deze benadering vergt de bijstand van een reproductieve specialist of een fertilitetskliniek. In de laagtechnologische benadering heeft het geïnfecteerde koppel, onder strikte voorwaarden, onbeschermde seksuele contacten. Eventueel beperkt tot de fertiele dagen van de vrouw (*timed intercourse*) en/of aangevuld met het gebruik van topische of orale agentia door de seronegatieve partner voorafgaand aan de blootstelling om een infectie met het virus te vermijden (*pre-exposure prophylaxis*). Ondanks het feit dat bij deze laagtechnologische benadering het transmissierisico minimaal is, kan het niet als zo veilig mogelijk beschouwd worden.

Het serodiscordante koppel, waarbij de vrouw HIV-1 geïnfecteerd is

Bij de serodiscordante koppels, waarbij de vrouw HIV-1 geïnfecteerd is, is een hoogtechnologische benadering niet noodzakelijk. Medisch begeleide voortplanting kan wel geïndiceerd zijn als de zwangerschap zich niet instelt onder laagtechnologische technieken ter overwinning van de subfertiliteit. Het risico op seksuele transmissie van het virus naar de partner is dan onbestaand. Echter meestal wordt in eerste instantie geopteerd voor zelfinseminatie rond de ovulatieperiode. De methode, zonder enig risico op seksuele transmissie, kan als 100% veilig beschouwd worden. Daarnaast kan ook dit koppel opteren voor onbeschermde seksuele contacten om hun kinderwens te vervullen. Het is uiterst belangrijk dat zij tijdens de preconceptuele counseling uiterst attent worden gemaakt op het mogelijke transmissiegevaar in deze laatste situatie.

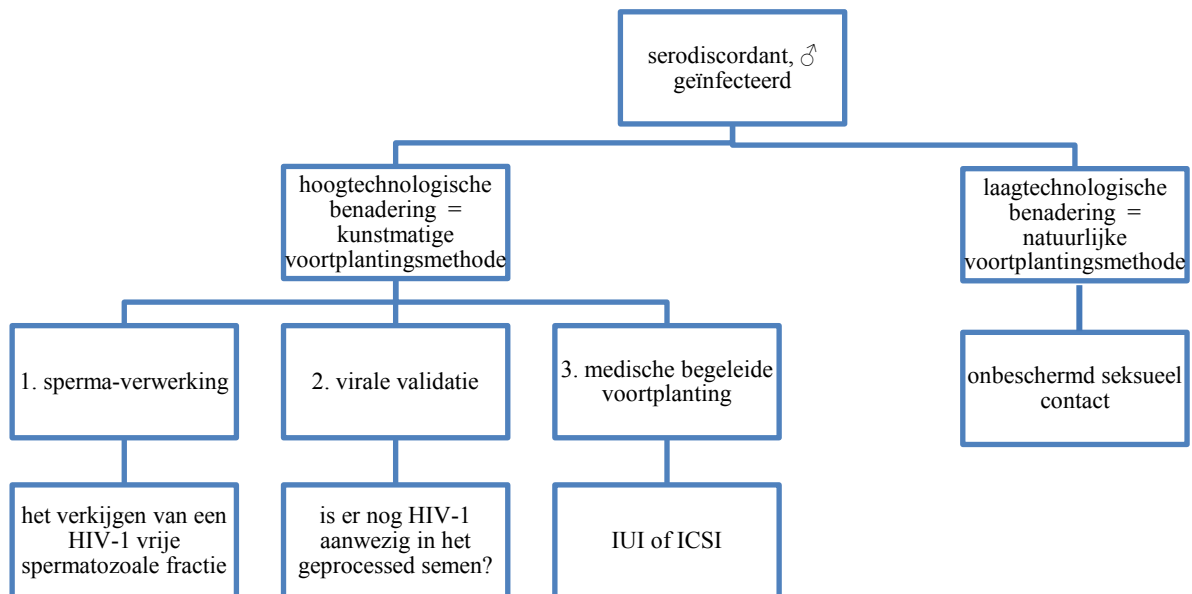
Het seroconcordante koppel

In geval van seroconcordantie is het belangrijk te vermelden dat kruisbesmetting (“superinfectie”) met andere HIV-1 stammen nog mogelijk is. Medisch begeleide voortplanting is niet noodzakelijk, maar kan gebruikt worden om enerzijds het risico op superinfectie te voorkomen en/of anderzijds om subfertiliteit te overwinnen na herhaaldelijk gefaalde pogingen om op natuurlijke wijze zwanger te worden.

³ In de nederlandsstalige literatuur verstaat men onder spermawassing het volledige spermaverwerkingsproces. Dit proces bestaat in zijn klassieke vorm uit drie opeenvolgende stappen: de dichtheitsgradiënt centrifugatie (1), de spermawassing (2) en de swim-up (3). Zie verder 3.1.1.1.

4. REPRODUCTIEVE BIJSTAND VOOR SERODISCORDANTE KOPPELS

4.1. Het HIV-1 serodiscordante koppel waarvan de man geïnficeerd is



FIGUUR 2. Reproductieve opties voor het HIV-1 serodiscordante koppel waarvan de man geïnficeerd is. De hoogtechnologische benadering of de kunstmatige voortplantingsmethode met zijn drie opeenvolgende stappen vormt de eerste keuze methode. Alternatief kan men opteren voor de laagtechnologische benadering of de natuurlijke voortplantingsmethode.

4.1.1. De kunstmatige voortplantingsmethode

De primaire methode om aan serodiscordante koppels, waarvan de man seropositief is, een biologische zwangerschap toe te laten bestaat uit de kunstmatige voortplantingsmethode, ook wel de hoogtechnologische benadering. Deze omvat de combinatie van spermaverwerking, HIV-1 testing postverwerking en finaal de medisch begeleide voortplanting. Dankzij deze drie opeenvolgende stappen kan het HIV-1 transmissierisico significant beperkt worden.

Historisch kader: het pionierschap van Semprini

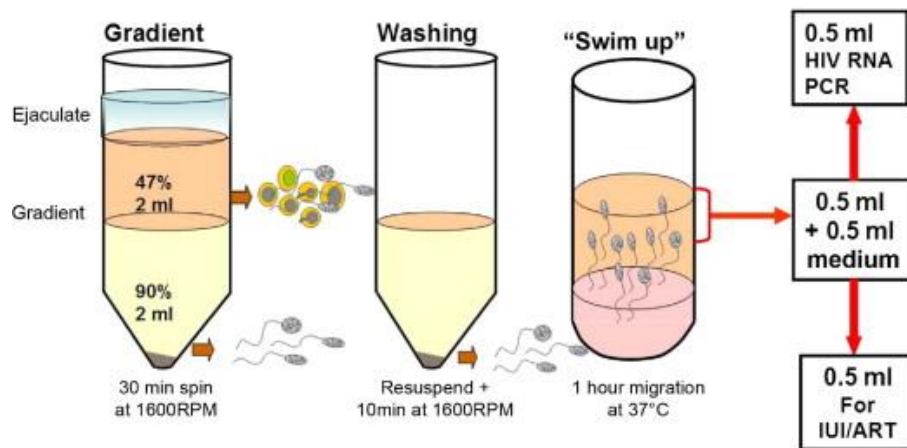
Het pionierschap van de medisch begeleide voortplanting vindt plaats in 1990. In een tijdperk waar nog geen data beschikbaar waren over HIV-1 in semen, begon de Italiaanse gynaecoloog Semprini intra-uteriene inseminaties (IUI) van HIV-1 negatieve vrouwen met het verwerkte semen van hun HIV-1 geïnficeerde partners uit te voeren. Het doel was een reductie van het

horizontale transmissierisico te bekomen. In de hoop HIV-1 vrije motiele spermatozoa te verkrijgen, verwerkte Semprini het semen van de HIV-1 geïnfecteerde mannen door een combinatie van dichtheitsgradiënt centrifugatie met spermatozoale swim-up. Na negatieve testing voor HIV-1 werd de finale spermatozoale fractie gebruikt voor IUI, waarbij het verwerkte semen direct wordt ingebracht in de uteriene caviteit (48),(49). Er kwam heel wat kritiek op het werk van Semprini. Critici gooiden de volgende tegenargumenten in de strijd: i) de korte levensduur van de vader; ii) de zeer lage sensitiviteit en daardoor hoge kans op een vals-negatief testresultaat van de test voor de detectie van residueel HIV-1 in het verwerkte semen voor inseminatie; iii) de beschreven seroconversie in een case-controle studie van het Centre for Disease Control. Echter in deze specifieke case werd het semen niet verwerkt door de combinatie van dichtheitsgradiënt centrifugatie en spermatozoale swim-up zoals door Semprini uitgevoerd, noch werden residuele HIV-1 resten opgespoord na de spermaverwerking en voor de inseminatie (50). In 1996, door de introductie van HAART, kwam hierin heel wat verandering. De spectaculaire toename in levensverwachting, aidsvrije overleving en levenskwaliteit creëerde een hele nieuwe klinische context, waar men na jaren debatteren tot de consensus kwam dat het onethisch zou zijn deze behandeling te weigeren aan HIV-1 geïnfecteerde patiënten. In de lijn van deze mindshift is de Semprini- methode door vele andere overgenomen en verfijnd, en worden de medisch begeleide voortplantingstechnieken wereldwijd steeds meer aangeboden aan geïnfecteerde koppels.

Spermaverwerking

Het doel van de spermaverwerking is het verkrijgen van een spermatozoale fractie gescheiden van alle andere seminale componenten zoals geïnfecteerde non-spermatozoale cellen (NSC) en vrije HIV-1 partikels, dat voldoende morfologisch normale spermatozoa met progressieve motiliteit bevat. We spreken van een succesvolle spermaverwerking wanneer een spermatozoale fractie wordt bekomen met voldoende motiele spermatozoa en een valide, negatieve HIV-1 test. Factoren die het succes van de spermaverwerking bepalen zijn de semen kwaliteit, de HIV-1 RNA concentratie in het semen voor de verwerking en de toegepaste laboratorium techniek (8),(12),(18).

Over wat nu juist de optimale spermaverwerkingsmethode is, is men het nog niet eens. De uitgangsmethode is de Semprini methode of de gradiënt/swim-up methode. Deze bestaat uit drie opeenvolgende stappen: de dichtheitsgradiënt centrifugatie, de sperma wassing en de swim up. In bijlage 4 worden de drie stappen ter illustratie in detail besproken.



FIGUUR 3. De drie opeenvolgende stappen van de gradiënt/swim-up methode of de Semprini methode. (1) de densiteitsgradiënt centrifugatie, (2) de spermawassing, (3) de swim-up procedure. Figuur naar Semprini et al. (51).

(1) De densiteitsgradiënt centrifugatie

Met behulp van deze stap worden de hoge kwaliteitsspermatozoa uitgeselecteerd. Het ejaculaat wordt gecentrifugeerd over een densiteitsgradiënt bestaande uit colloïdaal silicium gecoat met silicaan, welke cellen scheidt op basis van hun densiteit. Daarbij zwemmen motiele spermatozoa actief doorheen het gradiëntmateriaal om zo een pellet te vormen op de bodem van de buis. Het supernatans wordt verwijderd en het sperma pellet op de bodem wordt teruggewonnen. Het resultaat van deze stap is een fractie hoog motiele spermatozoa, vrij van virale partikels, debris, gecontamineerde leukocyten en non-spermatozoale cellen.

(2) De spermawassing

Het teruggewonnen spermapellet wordt gesuspenseerd met vers sperma washing medium omdat de hoge densiteitsfractie mogelijks nog gecontamineerd is. Het geheel wordt opnieuw gecentrifugeerd. Het supernatans wordt verwijderd en het spermapellet op de bodem wordt teruggewonnen.

(3) De swim-up procedure

Finaal wordt afgesloten met de swim-up stap. Spermatozoa worden geselecteerd op basis van hun vermogen uit het seminaal plasma te zwemmen in het cultuurmedium. Enkel de motiele cellen migreren, waardoor het restant aan hoge densiteitscellen op de bodem blijft. Het zijn deze spermatozoa, in het supernatans van de swim-up procedure, die na groen licht van de kwaliteitscontrole gebruikt worden voor inseminatie (48).

Sinds 1992 zijn heel wat varianten ontwikkeld op de Semprini-methode. Ze verschillen van elkaar in gebruikt medium, stappen in de verwerking, concentratie van de gradiëtsoluties, centrifugatietijd en methode om de bodemlaag te collecteren. In onderstaande tabel wordt een overzicht gegeven van de verschillende spermaverwerkingsmethodes.

Gepubliceerde studies over humane spermaverwerking.

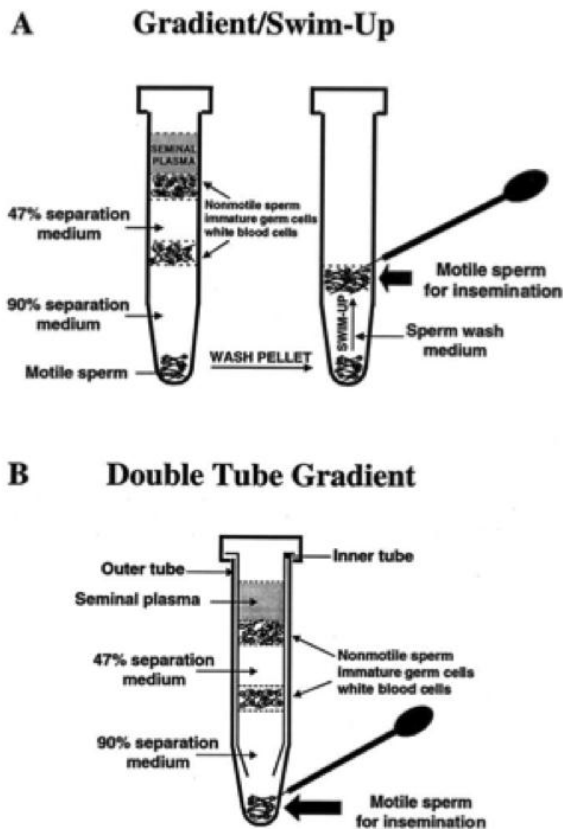
Study	Sperm-washing techniques
Semprini et al. (1992); Savasi et al.(2007)	Whole semen, double-density gradient, one wash, swim up
Hanabusa et al. (2000)	Semen dilution 1:1, quadruple density gradient in double tube (glass capillary tube), swim up
Sauer and Chang (2002)	Whole semen, double-density gradient, two washes
Marina et al. (1998a,b); Mencaglia et al. (2005) Garrido et al. (2005)	Semen dilution, one wash triple density gradient, one wash, swim up
Politch et al. (2004)	Whole semen, triple density gradient, two washes, swim up
Loskutoff et al. (2005)	Semen dilution 1:4, one wash, triple density gradient (trypsin added) in double tube, two washes
Kato et al. (2006)	Semen dilution 1:2 precipitation of debris, filtration of suspension, Percoll centrifugation, double-density gradient, tube cut, swim up

TABEL 3. Gepubliceerde studies over humane spermaverwerking. De meeste auteurs brachten eerder discrete veranderingen aan de Semprini-methode, echter Politch et al. (2004) ontwikkelde een volledig nieuwe methode: de dubbele buis methode. Tabel naar Savasi et al.(2013) (52).

Hoewel men heeft aangetoond dat de Semprini-methode significant de HIV-1 lading reduceert, is de techniek niet perfect. Zo'n 5% van alle motiele spermatozoale fracties van de seropositieve mannen blijft na de procedure positief voor HIV-1 (6). Verder gaan een significant aantal motiele spermatozoa verloren tijdens de verschillende stappen van de procedure, waardoor uiteindelijk slechts een klein aantal spermatozoa overblijft in vergelijking met andere spermaverwerkingsprocedures. Dit kan bijzonder nadelig zijn in bepaalde gevallen zoals bijvoorbeeld bij patiënten met oligozoöspemie. Ten slotte is de procedure tijdrovend en vergt ze een zekere technische expertise (53). Politch et al. (2004) ontwikkelde, in tegenstelling tot de andere wetenschappers die eerder subtiele veranderingen aanbrachten aan de Semprini-methode, een volledig nieuwe methode: de dubbele buis methode. In vergelijking met de Semprini-methode wordt dezelfde gradiënt aanpak gehanteerd, maar de gradiënt wordt hier gevormd in de binnenste buis. Deze binnenste buis

heeft een opening aan de onderkant, dat motiele sperma toelaat een pellet te vormen op de bodem van de buitenste buis, in tegenstelling tot de restfractie. Dit gecontamineerd materiaal in de bovenste gradiënt lagen kan netjes verwijderd worden wat het risico op contaminatie van de motiele fractie reduceert, want het zou in deze stap van de procedure zijn dat heel wat contaminaties plaatsvinden.

Schematic representations of sperm-processing techniques.



FIGUUR 4. Schematische representatie van verschillende spermaverwerkingstechnieken.

A: de gradiënt/swim-up methode

B: de dubbele buis methode

Figuur naar Politch et al. (2004) (53).

Politch, Removal of HIV-1 from motile sperm fraction. Fertil Steril 2004.

Politch et al. (2004) vergeleek in zijn studie twee zaken. Enerzijds verschillende spermaverwerkingstechnieken aan de hand van de aanwezigheid van HIV-1 RNA in de verwerkte spermafractione en anderzijds twee verschillende separatiemedia, in de verschillende separatiemethoden toegepast, aan de hand van de sperm yield⁴ in de motiele spermafractionen geproduceerd door verschillende separatiemethoden gebruik makende van twee verschillende sperma separatiemedia (Percoll en Isolate). Uit de studie resulteerde het volgende: (i) HIV-1 contaminatie is significant hoger in sperma bewerkt met enkel de swim-up methode in vergelijking met sperma bewerkt met de enkele buis of dubbele buis methode;

⁴ Een sperm yield is een moleculaire biologische term dat het niveau of de kwantiteit van motiele spermatozoa in een gedefinieerd volume beschrijft.

(ii) HIV-1 contaminatie verschilt niet significant tussen sperma bewerkt met de dubbele buis methode en sperma bewerkt met de gradiënt/swim-up methode. Echter de dubbele buis methode produceert lagere HIV-1 contaminatie dan eender welke andere methode, ongeacht van het gebruikte sperma separatie medium; (iii) Voor beide media produceren de enkele buis methode en de dubbele buis gradiënt methode een significant hogere sperm yield dan de gradiënt/swim-up methode.

Poltich et al. (2004) concludeerde dat de dubbele buis methode superieur is aan de andere methoden voor wat betreft de exclusie van HIV-1 uit de motiele sperma fractie. Overigens produceert de dubbele buis methode een significant hogere spermayield dan de gradiënt/swim-up methode, welke momenteel de courante methode is. Bovendien dient nota te worden genomen dat de dubbele buis methode minder tijd en technische expertise vergt dan de gradiënt/swim-up methode. Veelbelovend aldus, maar helaas nog niet commercieel beschikbaar (53).

Welke methode ook wordt gebruikt, alle onderzoekers zijn het eens dat het onmogelijk is te garanderen dat alle virale partikels verwijderd zijn in een verwerkt semen staal. Het is dan ook essentieel dat beide partners goed verstaan dat spermaverwerking een risico reducerende, eerder dan een risicovrije methode is. Hieruit volgt de nood aan een kwaliteitscontrole van het verwerkte sperma.

HIV-1 detectie

Detectie wordt gebruikt als “virale validatie” (i.e. de confirmatie van niet detecteerbaar HIV-1) in motiele spermafracties gebruikt voor de medisch begeleide voortplanting in HIV-1 serodiscordante koppels. In de oudste studies werd deze stap niet uitgevoerd. Later ontwikkelden zich twee kampen: sommige detecteerden wel, anderen niet. Voorstanders argumenteerden dat als het doel van de behandeling het verkrijgen van excellentie in medisch begeleide voortplantingstechnieken en de extreme reductie in HIV-1 transmissierisico is, het testen van de aanwezigheid van HIV-1 in het verwerkte sperma zonder twijfel veiliger is dan het niet testen. In de lijn van deze gedachtegang wordt op heden de virale validatietest algemeen toegepast. Spijtig genoeg voegt dit enige complexiteit en kostelijkheid toe aan een anders eenvoudige en goedkope procedure. Bovendien zijn de faciliteiten om het HIV-1 in semen te testen niet altijd even gemakkelijk beschikbaar in alle centra. HIV-1 testing op dezelfde dag is vaak moeilijk in de meeste laboratoria, waardoor cryopreservatie noodzakelijk wordt. Dit zou waarschijnlijk de efficaciteit van de medisch begeleide voortplanting reduceren.

Meestal gebruikt men een aangepaste versie van de commercieel beschikbare PCR kits, ontworpen voor de detectie van HIV-1 DNA en RNA in bloed, aangezien tot nu toe nog geen enkele DNA of RNA test is ontworpen voor de detectie van HIV-1 in gepurifieerde spermatozoa alleen. Dit verklaart waarom resultaten kunnen uiteenlopen tussen verschillende centra. Een aantal bedenkingen dienen in acht te worden genomen wat betreft PCR testing. Ten eerste testen sommige voor zowel HIV-1 DNA als voor HIV-1 RNA, terwijl anderen enkel testen voor HIV-1 RNA. Een argument tegen de testing van HIV-1 DNA kan zijn dat de detectie ervan niet noodzakelijk op een infectieus virus wijst. Zo kan HIV-1 DNA geïntegreerd zijn in het gastheer DNA van een lymfocyt, welke niet over de capaciteit tot HIV-1 replicatie bezit. Ten tweede testen sommige slechts één keer op de aanwezigheid van HIV-1 RNA. Echter, wetende dat intermitterende shedding het meest voorkomende patroon van voorkomen van HIV-1 RNA in semen is, zou deze strategie ontmoedigd moeten worden. De derde bedenking betreft de sensibiliteit van HIV-1 testing. Deze varieert van 1 HIV-1 RNA kopie tot 400 HIV-1 RNA kopijen en wordt uitgedrukt als kopijen/ml of kopijen/10⁶ spermatozoa. HIV-1 spiking experimenten tonen aan dat de sensitiviteit van HIV-1 PCR afhankelijk is van het aantal spermatozoa in de fractie. Testresultaten zouden zodus beter worden uitgedrukt in aantal kopijen/aantal constante spermatozoa in plaats van aantal kopijen/ml. Ten slotte is het niet duidelijk wat dient te gebeuren in situaties van ernstige oligozoöpermie of azoöpermie wanneer een testiculaire biopsie noodzakelijk is. In deze situatie zou het aantal geteste cellen wel eens te laag kunnen zijn om tot een betrouwbaar testresultaat te komen.

Heel wat varianten op de uitgangspCR methode worden toegepast. Welke techniek juist wordt toegepast is laboratorium-afhankelijk. Een aantal ervan worden toegelicht. Vroeger maakte men nogal eens gebruik van in situ PCR. Een combinatie van in situ hybridisatie en PCR. Hierbij treedt de amplificatie “in situ” met andere woorden in de intacte cel op. Dit in tegenstelling tot de andere technieken waarbij de cellen eerst gelyseerd worden. Een aantal pioniers gebruikten in situ PCR, maar door non-specifieke hybridisatie konden vals negatieve resultaten ontstaan. Tengevolge van deze methodologische limitaties werd de techniek inmiddels verlaten. Vandaag de dag is vooral nested PCR een populaire techniek. Hiermee kan de specificiteit van de DNA amplificatie verhogen. Aan de hand van 2 primersets die worden gebruikt in 2 opeenvolgende reacties gaat men niet-specifieke hybridisatie tegen. Bij real time PCR (qPCR) vindt de detectie plaats in “real time” met andere woorden de amplificatie evenals de kwantificatie van het product treedt tegelijkertijd op. Eens de PCR van

start is gegaan wordt fluorescent licht uitgezonden. Een grafische uitzetting hiervan heeft kwantitatieve informatie over de hoeveelheid DNA. Dit is een snelle methode om micro-organismen op te sporen, waardoor cryopreservatie niet meer noodzakelijk is.

Men dient nota te nemen dat een aantal componenten in het seminaal plasma, zoals lactoferrines, peroxiden en vooral zink een inhiberende werking kunnen uitoefenen op het Taq polymerase, waardoor vals-negatieve resultaten kunnen ontstaan. Onderzoek toonde aan dat silicium deze inhibitoren kan verwijderen. Ze binden de nucleïnezuren en kunnen worden gebruikt om DNA of RNA op te zuiveren. Het gebruik van silicium bevattende sperma separatiemedia tijdens de spermaverwerking zijn daarom een must (54). De best gekende zijn Percoll, Isolate en PureSperm. Vroeger werd vooral Percoll gebruikt. Deze PVP - gecoate silicia partikels colloïdale suspensie werd zeer effectief bevonden in het verwijderen van HIV-1 uit het semen. Echter deze media lijken een potentieel inhibitorische werking uit te oefenen op het RT-PCR, met een mogelijke onderschatting van de contaminatie tot gevolg. Nu gebruikt men eerder Isolate of PureSperm. Dit zijn siliane-gecoate silicia partikels colloïdale suspensies. Deze bevatten de potentieel inhibitorische werking niet en zijn even effectief in het verwijderen van HIV-1 uit het semen (53).

Medisch begeleide voortplanting

Elk centrum heeft zijn eigen inclusiecriteria om vast te stellen welke geïnfecteerde man een geschikte patiënt is voor de behandeling. Als de patiënt aan deze criteria voldoet en het kwaliteitslaboratorium groen licht heeft gegeven, kan het verwerkte sperma gebruikt worden voor inseminatie. Hiervoor bestaan drie mogelijke opties: IUI, IVF en ICSI. Ze worden alle drie in een notendop toegelicht in termen van seronegatieve koppels (55).

Intra-uteriene inseminatie (IUI) is de alleroudste methode beschikbaar om een kinderwens te vervullen. Kort gezegd wordt het sperma zo dicht mogelijk bij de oocyt geplaatst op het juiste ogenblik. De conceptie vindt dus in vivo plaats. Het semen wordt verwerkt om schadelijke substanties die mogelijks een nadelig effect op het fertilisatieproces hebben te verwijderen. Op het juiste ogenblik, zijnde dat van de ovulatie, wordt het semen in de baarmoeder geplaatst en laat men de natuur zijn werk doen. De ovulatie kan tegenwoordig zeer precies worden opgevolgd aan de hand van LH-piek in het bloed of urine of via ovulatietesten op urinestalen. Meestal wordt IUI uitgevoerd tijdens een spontane cyclus, vindt conceptie niet plaats dan kan

na minstens drie pogingen in een natuurlijke cyclus, de cyclus gestimuleerd worden met clomifeencitraat of gonadotrofines.

De belangrijkste factor die in vitro fertilisatie (IVF) en intracytoplasmatische sperma injectie (ICSI) onderscheidt van IUI is de plaats waar de conceptie plaatsvindt. Bij IUI gebeurt dit in de baarmoeder van de vrouw (in vivo), waar dit bij IVF en ICSI in het laboratorium plaatsvindt (in vitro). IVF en ICSI verschillen dan weer in de manier waarop deze conceptie plaatsvindt. De voorbereiding is wel identiek en bestaat uit drie stappen. Tijdens de ovariële hyperstimulatie streeft men naar de maturatie van meerdere follikels. Dit doet men met behulp van een GnRH agonist om de hypofyse te onderdrukken en met gonadotrofines om de ovaria te stimuleren. Met echografie en hormonale bloedwaarden bepaalt men het ogenblik waarop een maximaal aantal follikels een rijpe eicel bevatten. Eens dit stadium wordt bereikt, dient men HCG toe om deze eicellen te laten matureren. Zo'n 35 uur later worden de eicellen geaspireerd via een transvaginale punctie onder echografische controle. Bij IVF brengt de laborant een oöcyt samen met meerde spermatozoa. Spontane fertilisatie van de oöcyt door een van de spermatozoa wordt afgewacht. In ICSI selecteert de laborant een enkele spermatozoön met goede mobiliteit per oöcyt. Deze spermatozoön wordt geaspireerd en geïnjecteerd in de oöcyt. Dit betekent dat een deel van de natuurlijke selectie die bij IVF plaatsvindt hierbij verloren gaat. Na de fertilisatie wordt het embryo teruggeplaatst met een intra-uteriene katheder.

Twintig jaar na het pioniersschap van Semprini bestaat nog steeds geen zwart op wit antwoord over wat de beste medische begeleide voortplantingsmethode is. Daarvoor zouden gerandomiseerde controle studies moeten worden opgesteld die de methodes onderling met elkaar vergelijken. Algemeen lijkt het behandelingsprotocol onderhevig te zijn aan internationale variatie. Daar waar Europa eerder opteert voor IUI, zegeviert ICSI in de Verenigde Staten.

IUI is een eenvoudige, economische en patiëntvriendelijke optie. Deze techniek brengt echter het plaatsen van miljoenen spermatozoa in de uterus met zich mee en een hoger risico op transmissie van HIV-1 dragende lymfocyten. Daar waar ICSI slechts het in vitro contact van één enkele spermatozoön met een oöcyt vereist, zou deze techniek het risico op transmissie van virale partikels, vaak in het semen aanwezig, dramatisch moeten reduceren. Desalniettemin zijn verschillende publicaties verschenen die de afwezigheid van virale transmissie aantonen bij het gebruik van IUI. Savasi et al. (2007) rapporteerde hoge zwangerschapsratio's van 78 % per koppel. Deze hoge succesratio's werden bekomen door

het uitsluiten van vrouwelijke infertiliteitsfactoren voor IUI, het gebruik van vers sperma en het gebruik van gecontroleerde ovariële stimulatie (56). Bujan et al. (2004) voerde 213 IUI's uit, die in 37 zwangerschappen resulteerden; 50% van de vrouwen konden hun kinderwens vervullen en geen enkele vrouw geraakte geïnfecteerd. Hij concludeerde dat hun studie de efficiëntie van een IUI programma met verwerkte en virologisch geteste spermatozoa aantoonde, wat de koppels toelaat kinderen te krijgen, zonder de transmissie van het virus naar de vrouwelijke partner (57).

In 1997 begon de Colombia University IVF/ICSI aan te bieden aan HIV-1 seropositieve mannen om de virale blootstelling te beperken tot een klein aantal motiele spermatozoa (58). Sauer et al. (2009) stelde met IVF-ICSI een zwangerschapsratio per embryonale transfer van 39% vast, zonder enige seroconversie (59). Ze beweren echter dat IVF-ICSI niet geschikt is voor alle patiënten, gezien het kostelijker, arbeidsintensiever, invasiever en mogelijk met meer obstetrische complicaties gepaard gaat dan zwangerschappen bekomen met IUI, door het hogere incidentie aan meerlingzwangerschappen en het risico op het ovariële hyperstimulatie syndroom (OHSS). Bovendien is men nog onzeker over wat er zou gebeuren indien het geïnjecteerde spermatozoön HIV-1 drager is. Wat er gebeurt bij een accidentele injectie van een viraal partikel in het oöcyt, is niet helemaal opgeklaard. Hypothetisch zou een nieuw endogeen virus kunnen ontstaan met een actieve HIV-1 productie in het embryo. Echter meer data zijn nodig om deze hypothese te staven. De onzekerheid hieromtrent heeft ervoor gezorgd dat ICSI in dit kader in veel landen verboden is. Bijgevolg kunnen heel wat mannen, die omwille van hun subfertiliteitsprofiel voor ICSI in aanmerking komen, niet behandeld worden.

Samenvattend kan men zeggen dat in de aanwezigheid van versturende variabelen, zoals mannelijke of vrouwelijke subfertiliteit, ICSI de enige realistische optie is. Mannen met een a priori lage semen kwaliteit of met minder dan twee miljoen spermatozoa na spermaverwerking kunnen met IUI niet geholpen worden. In de meeste andere gevallen, is het onduidelijk welke techniek superieur is aan de andere. Een overzicht van de argumentering uit de literatuur wordt in tabel 3 meegedeeld (60), (61).

Pro's en contra's van IUI en ICSI uit de literatuur

IUI: pro's	ICSI: pro's
<ul style="list-style-type: none"> • eenvoudig • laag invasief • goedkoop • sinds de introductie is nog geen seroconversie gerapporteerd 	<ul style="list-style-type: none"> • slechts 1 spermatozoön wordt gebruikt voor de fertilisatie, waardoor de contaminatie waarschijnlijk afneemt • fertilisatie vindt plaats buiten het lichaam van de vrouw, waardoor ze niet wordt blootgesteld aan veel sperma • sinds de introductie is nog geen seroconversie gerapporteerd
IUI: contra's	ICSI: contra's
<ul style="list-style-type: none"> • gezien het natuurlijk risico op seroconversie laag is, zijn veel data noodzakelijk om de ultieme veiligheid van de techniek na te gaan • argumentering voor IUI als veilige methode is enkel gebaseerd op observationele data en niet op de zekerheid over de afwezigheid van HIV-1 in het semen na spermaverwerking kan het zijn dat het aantal spermatozoa onvoldoende is voor IUI 	<ul style="list-style-type: none"> • invasiever dan IUI • kostelijker dan IUI • arbeidsintensiever dan IUI • meer obstetrische complicaties dan IUI • verhoogt de zwangerschapsratio's per koppel niet in geval van fertiele koppels • stelt de patiënt bloot aan bijwerkingen van deze methode • wat als het gebruikte spermatozoön met HIV-1 geïnfecteerd is?

TABEL 4. Pro's en contra's van IUI en ICSI uit de literatuur.

Evaluatie van de kunstmatige voortplantingsmethode

Wat verstaan we juist onder een ideale reproductieve benadering? Onder een ideale reproductieve benadering zou het virale transmissierisico naar nul herleid worden (optimale veiligheid) en zou iedere benadering resulteren in een succesvolle zwangerschap (optimale effectiviteit). Naar deze situatie dient gestreefd te worden tijdens de ontwikkeling van nieuwe reproductieve technieken. De beste manier om de huidige reproductieve benaderingen te evalueren, is aan de hand van deze objectiveerbare parameters. Vitorino et al. (2011) voerde grote systematische review uit over de effectiviteit en veiligheid van de medisch begeleide voortplanting in een serodiscordante patiëntenpopulatie, waar de man de seropositive partner is. 685 observationele studies werden geïncludeerd. RCT's tussen medisch begeleide voortplanting en onbeschermd seksueel contact zouden om verscheidene redenen onethisch zijn. De effectiviteit werd nagegaan van aan de hand van aantal zwangerschappen per cycli en het cumulatief aantal zwangerschappen. De veiligheid werd nagegaan aan de hand van seroconversie. De effectiviteit bleek vergelijkbaar met de algemene populatie en op vlak van

veiligheid werd geen enkele seroconversie vastgesteld. Deze cumulatieve data tonen dat medisch begeleide voortplanting een veilige en effectieve methode is ter vermijding van de HIV-1 transmissie in serodiscordante koppels, waarvan de man geïnfecteerd is (62). Directe vergelijkingen in outcome van behandeling worden bemoeilijkt door verschillen in patiëntenpopulatie, indicaties voor behandeling en embryotransfer. Echter ondanks deze verschillen tonen jarenlange data toch het belang aan van degelijke risico-reducerende strategieën, de nood aan grotere beschikbaarheid van goed ontwikkelde centra die deze strategieën aanbieden, en de blijvende nood aan samenwerking teneinde de kwaliteit van de aangeboden diensten te blijven verbeteren (63).

4.1.2. De natuurlijke voortplantingsmethode: een veilig alternatief?

Vrijen zonder condoom: alle gekheid op een stokje?

Lange tijd werd HIV-1 infectie gezien als een absolute contra-indicatie voor het bekomen van een veilige zwangerschap. Het gebruik van donor sperma, adoptie of het niet hebben van kinderen waren de enige opties. Met de tijd groeide het inzicht in de pathogenese van de HIV-1 infectie, de behandeling ervan en de laboratorische technieken voor het bekomen van virusvrij sperma (48). Met dit groeiend inzicht ontwikkelden zich nieuwe therapeutische opties. Vandaag de dag vormt de spermaverwerking in combinatie met medisch begeleide voortplanting (IUI, IVF, ICSI) de gouden standaard in de ontwikkelde landen. Sommige fertilitesspecialisten, ethici en infectiologen vinden dat HIV-1 serodiscordante koppels ook geïnformeerd moeten worden over de mogelijkheden om natuurlijke zwangerschap te bekomen. Vrijen zonder condoom in een serodiscordante situatie, het lijkt wel alle gekheid op een stokje na jarenlange campagnes die het tegendeel promoten. Toch kan het, onder heel bepaalde omstandigheden. De polemiek is ontstaan na de publicatie van Vernazza et al. (2008) onder de titel “*Swiss Statement*”. Hierin wordt verklaard dat een seropositieve persoon, bij wie het virus sinds ten minste 6 maand niet meer detecteerbaar is in bloed, dankzij het nauwgezet volgen van een HAART therapie en zonder andere seksueel overdraagbare aandoening “*het virus niet overdraagt via seksuele contacten.*” Volgens de auteurs moeten drie voorwaarden vervuld worden opdat deze bewering geldig blijft: i) de seropositieve persoon moet nauwgezet de HAART behandeling volgen en door de behandelende arts worden opgevolgd; ii) de virale lading moet zich al ten minste 6 maanden onder de detectiegrens bevinden; iii) de seropositieve persoon mag geen andere seksueel overdraagbare

infectie hebben. Toch moeten deze gegevens met enige voorzichtigheid geïnterpreteerd worden, omwille van de volgende redenen. Ten eerste hebben de gegevens van de Zwitserse Statement hoofdzakelijk betrekking op heteroseksuele paren. Het is niet zeker of hetzelfde niveau van transmissiereductie kan bekomen worden bij andere seksuele handelingen. Ten tweede bestaan er op dit ogenblik geen kwaliteitsvolle EBM-gegevens in verband met het transmissierisico bij seksuele handelingen voor heteroseksuele serodiscordante koppels in de literatuur. Ten slotte zijn tot op vandaag geen resultaten van een prospectieve studie gepubliceerd. Over drie tot vier jaar zullen onderzoekers die bij de preventie en de strijd tegen deze infectie betrokken zijn, over resultaten beschikken, want op dit ogenblik is er een studie lopende (de Partner studie) (64).

Ondanks heel wat kritiek houdt Vernazza et al. (2008) voet bij stuk. Praktisch gezien zouden de koppels mogen vrijen zonder condoom om hun kinderwens te vervullen. Voldoet het koppel niet aan alle sine qua non criteria dient dit alternatief voor het koppel ontmoedigd te worden. Voldoet het koppel wel aan alle criteria, maar is het bijzonder angstig, dan kan het transmissierisico nog verder kunnen ingeperkt worden met behulp van een beperking van het onbeschermd seksueel contact tot de fertiele dagen van de vrouw (*timed intercourse*) en/of het gebruik van topische of orale agentia door de seronegatieve partner voorafgaand aan de blootstelling om een infectie met het virus te vermijden (*pre-exposure prophylaxis PreP*). De profylaxis zou de initiële fase van de infectie blokkeren, daar het virus laaggradig repliceert ter hoogte van de mucosa van de gastheer. PreP kan zowel in per orale als in topische vorm worden toegediend. Dankzij zijn additionele transmissie risicoreductie tracht men een persisterende infectie te voorkomen (65),(66). Onder de per orale toedieningsvorm is het veelbelovendste antiretroviraal agentia het tenofovir disoproxil fumarate (TDF), een nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI), gebruikt in monotherapie of in combinatie met een ander NRTI, emtricitabine. Beiden worden goed getolereerd, dienen slechts eenmaal per dag te worden ingenomen dankzij hun lange plasma halfwaardetijd en bereiken hogere concentraties in de genitale tractus dan in bloed (67). Onder de topische vorm is een tenofovir gel ontwikkeld. Data betreffende de tenofovir gel zijn tegenstrijdig in tegenstelling tot de per orale vormen, welke meer veelbelovend zijn (65).

Vernazza et al. (2011) stelde een protocol op voor PreP en timed intercourse. Volgende guidelines werden voorgesteld met de bedoeling het transmissierisico te verlagen (68):

- i. de mannelijke partner wordt succesvol behandeld met een niet detecteerbare HIV-1 RNA in het bloedplasma (<50 kopijen/ml) gedurende ten minste 6 maanden, zonder nood aan HIV-1 RNA testing in het semen;
- ii. er zijn geen huidige SOA symptomen noch onbeschermd seksueel contact met andere partners;
- iii. een urine LH-test wordt gebruikt om het optimale tijdstip voor conceptie te bepalen, zijnde 24u na de LH-piek;
- iv. PreP met tenofovir 300 mg, de eerste dosis wordt toegediend op het moment van de LH-piek en de tweede dosis 24 uur later met betrekking de avond van de tweede dosis;
- v. na 6 tevergeefse pogingen dient een fertiliteitsevaluatie te worden uitgevoerd.

TABEL 5. *Guidelines voorgesteld door Vernazza et al. (2011) teneinde het HIV-1 transmissierisico met betrekking tot de natuurlijke conceptiemethode zoveel mogelijk in te perken.*

Jaren van debat over de Swiss Statement zijn al verstreken en in januari 2014 werd de Hogere Gezondheidsraad (HGR) erbij gehaald voor advies betreffende de algemene richtlijnen in verband met het gebruik van condoom bij HIV- serodiscordante partners die een antiretrovirale behandeling volgen. Rekening houdend met de bovenstaande argumentatie en als antwoord op de adviesvraag, raadt de Hogere Gezondheidsraad het gebruik van condooms aan voor de preventie van HIV en talrijke andere soa's, net als andere internationale instanties dit al lang aanbevelen. Toch is het HRG van oordeel dat als twee HIV-1 serodiscordante partners een duurzame relatie hebben, waarbij de seropositieve partner HAART behandeling volgt, waardoor zijn virale lading al 6 maanden onder de grensdetectie is en als beide partners geen condooms meer wensen te gebruiken, de zorgverleners de mogelijkheid kunnen voorstellen om via onbeschermd seksuele contacten hun kinderwens te vervullen. Enkel en alleen als aan alle voorwaarden uit onderstaande tabel wordt voldaan.

- ✓ deze keuze onder medische begeleiding gemaakt wordt, waarbij beide partners begeleid worden en geschikte medische en psychologische informatie krijgen;
- ✓ vóór elke beslissing, beide partners een systematische screening ondergaan (voor HIV, HCV, syfilis en alle andere Soa's die in het "Nationaal Aidsplan" zullen worden bepaald) rekening houdend met respectievelijke incubatietijden voor de verschillende verwekkers;
- ✓ beide partners sinds de SOA screening geen andere seksuele partners hebben gehad;
- ✓ de seropositieve partner ononderbroken zijn behandeling volgt;
- ✓ de medische begeleiders actief informatie verstrekken aan de betrokken partners;
- ✓ de keuzevrijheid van de seronegatieve partner altijd voorrang heeft op de beslissingen die in het kader van de betrokken partners genomen worden, met andere woorden, de eindbeslissing ligt altijd bij hem/haar;
- ✓ de medische begeleiders de basisinlichtingen verstrekken, met name:
 - het gebruik van condooms tijdens de menstruatieperiodes, in geval van herpes, irritaties van het urogenitaal stelsel;
 - de communicatie en de informatie over het verschil in risico tussen verschillende praktijken (bijvoorbeeld anale of vaginale seksuele betrekkingen), en daarbij duidelijk aangeven en definiëren waarover men spreekt.

TABEL 6. Voorwaarden volgens de Hogere Gezondheidsraad waaraan een serodiscordant koppel, waarvan de man HIV-1 geïnfecteerd is, moet voldoen om een natuurlijke zwangerschap te kunnen voorstellen.

Evaluatie van de natuurlijke voortplantingsmethode

Een objectieve evaluatie van de natuurlijke voortplantingsmethode op basis van effectiviteit en veiligheid, zoals voor de kunstmatige voortplantingsmethode, is moeilijk gezien data ontbreken. Met de huidige kennis zou een gerandomiseerde klinische controle studie die natuurlijke conceptie met PreP vergelijkt met medische begeleide voortplanting in combinatie met spermaverwerking de haalbaarheid, veiligheid en effectiviteit kunnen aantonen. In tussentijd kunnen we stellen dat de natuurlijke conceptiemethode een potentieel alternatief vormt voor welbepaalde fertiele koppels. Met de nadruk op alternatief. Het is geruststellend dat de transmissieratio's voor HIV-1 in serodiscordante koppels, onder specifieke voorwaarden (zoals een ondetecteerbare virale lading onder HAART therapie, onbeschermd seksuele contacten beperkt tot de fertiele dagen van de vrouw,...) zeer laag zijn. Niettemin wordt het concept door sommige nog moeilijk aanvaard en daarvoor zijn verschillende redenen. Ten eerste valt de veiligheid van natuurlijke conceptie moeilijk te bewijzen gezien het risico op seroconversie zeer laag is. De resultaten van de prospectieve observationele Partner studie laten nog op zich wachten gezien de studie loopt tot 2017. Een tussentijdse

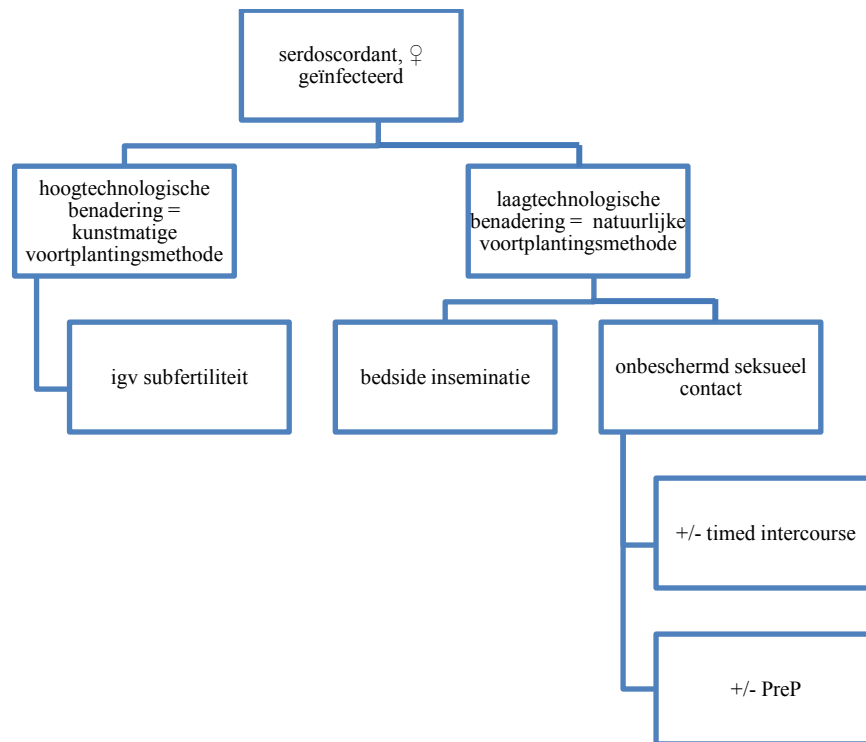
evaluatie rapporteert dat tot op heden geen enkele transmissie heeft plaatsgevonden. Ten tweede is het exacte HIV-1 transmissierisico per koppel moeilijk te evalueren. Verschillende factoren kunnen het risico op seroconversie verhogen. Denk aan de HIV-1 shedding in de mannelijke en vrouwelijke genitale tractus in variabele concentraties, soms onafhankelijk van HAART of genitale tractus infecties. Deze dienen te worden uitgespit tijdens de preconceptuele counseling en in het achterhoofd gehouden te worden bij het bespreken van de verschillende conceptuele opties. Ten derde is het belangrijk rekening te houden met de psychologische impact van een dergelijke behandeling. Slechts één studie werd uitgevoerd betreffende de angst voor HIV-1 transmissie die HIV-1 serodiscordante koppels ondervinden bij het uitvoeren van medisch begeleide voortplantingstechnieken. Hoewel de kans op HIV-1 transmissie met behulp van medisch begeleide voortplantingstechnieken tot ongeveer nul kan worden gereduceerd, neemt de angst voor virale transmissie niet in evenredige mate af. We kunnen verwachten dat dit ook zo is voor de natuurlijke conceptiemethoden. Al dient de attitude van HIV-1 serodiscordante koppels ten opzichte van deze methode verder te worden geëxploreerd (47), (69).

4.2. Het HIV-1 serodiscordante koppel waarvan de vrouw geïnfecteerd is

Een van meest typerende kenmerken van de HIV-1 pandemie in de 21^e eeuw is de toename van geïnfecteerde vrouwelijke patiënten. Vandaag de dag vormen ze bijna de helft van alle geïnfecteerde personen. Ze geraken globaal gezien zo'n 5 à 7 jaar vroeger geïnfecteerd dan mannen (1). Meestal tijdens de reproductieve leeftijd, waardoor velen een zwangerschapswens uiten. Vaak zien de HIV-1 geïnfecteerde vrouwen zwanger worden als een hoge persoonlijke prioriteit aangezien ze het beschouwen als een manier om hun vrouwelijkheid en seksualiteit te herwinnen (70). Data tonen aan dat zwangerschap de HIV-1 progressie of immunologische parameters niet verergert, zelfs niet bij vrouwen in een vergevorderd stadium (71).

Ook hier dient vooraleer enige zwangerschapspoging wordt ondernomen aan preconceptionele zorg worden gedaan. Aandachtspunt bij de seropositieve vrouw betreft het antagonistisch effect van HAART. Daarom wordt foliumzuur preconceptueel steeds toegediend ter preventie van spina bifida. Verder is er geen evidentie dat HAART, ingenomen preconceptueel of in het eerste trimester, geassocieerd is met hoger aantal geboortedefecten. Wel kan het aangewezen zijn een aantal aanpassingen uit te voeren in het therapeutisch regime. Enkel de geneesmiddelen waarvan de veiligheid werd aangetoond mogen toegediend worden. Ook al heerst er nog onduidelijkheid over het toedienen van HAART tijdens de zwangerschap, het is duidelijk dat de voordelen ervan sterker doorwegen dan de nadelen. Deze bijwerkingen dienen wel verder onderzocht te worden, gezien ze slechts zelden optreden en vaak pas in de latere kindertijd (72).

Serodiscordante koppels, waarvan vrouwen HIV-1 geïnfecteerd zijn, kunnen op drie verschillende manieren reproductief benaderd worden. De drie opties worden in onderstaande figuur weergegeven. De hoogtechnologische benadering of de kunstmatige voortplantingsmethode is in tegenstelling tot het serodiscordant koppel waarbij de man geïnfecteerd is, enkel geïndiceerd in geval van subfertiliteit. De voorkeur gaat uit naar de laagtechnologische benadering of de natuurlijke voortplantingsmethode, meer bepaald zelfinseminatie. Alternatief kan onbeschermd seksueel contact worden voorgesteld.



FIGUUR 5. Reproductieve opties voor het HIV-1 serodiscordante koppel waarvan de vrouw geïnfecteerd is. De hoogtechnologische benadering of de kunstmatige voortplantingsmethode is in tegenstelling tot het serodiscordant koppel waarbij de man geïnfecteerd is, enkel geïndiceerd in geval van subfertiliteit. De voorkeur gaat in deze situatie uit naar de laagtechnologische benadering of de natuurlijke voortplantingsmethode, meer bepaald zelfinseminatie. Alternatief kan onbeschermd seksueel contact worden voorgesteld.

4.2.1. De natuurlijke voortplantingsmethode

Bedside inseminatie

Normaal volstaat bedside inseminatie rond de ovulatie periode en is geen kunstmatige inseminatie noodzakelijk. Deze methode is eenvoudig, goedkoop, 100% veilig en voor iedereen beschikbaar. Om die redenen vormt bedside inseminatie de voorkeursmethode. De mannelijke partner voorziet een semenstaal in een opvangpotje. Dit semen wordt in de vagina van de vrouw ingebracht met een naaldloze spuit. De seropositieve mannelijke partner kan onmogelijk geïnfecteerd geraken, aangezien hij niet wordt blootgesteld aan het virus. Het HIV-1 transmissierisico is onbestaand. Jammer genoeg kan de nakomeling wel nog met het virus geïnfecteerd geraken, daarom moet iedere seropositieve zwangere vrouw onmiddellijk prenatale zorg opzoeken. Het verticale HIV-1 transmissierisico wordt geschat op 15 à 20 % (73). Dit risico kan met behulp van een aantal profylactische interventies teruggedrongen tot <

2% (74). Ten eerste wordt aan alle HIV-1 positieve zwangere vrouwen HAART gegeven met het doel een ondetecteerbare HIV-1 RNA lading te bekomen op het moment van de bevalling, want het zou op dit moment zijn dat de meeste transmissies plaatsvinden. Daarnaast is borstvoeding absoluut uit den boze, gezien het HIV-1 transmissierisico 7 à 20 % bedraagt. Ten derde krijgen alle pasgeborene eveneens antiretrovirale therapie voor meerdere weken als profylaxis. Ten slotte raadt men een keizersnede aan, ongeacht van de bloedplasma HIV-1 RNA lading in de meeste geïndustrialiseerde landen, al is er de laatste jaren een tendens om ook vaginale bevallingen te aanvaarden onder succesvolle HAART (75).

Onbeschermd seksueel contact

Ook in de situatie van het serodiscordante koppel waarvan de vrouw HIV-1 geïnfecteerd is, kan voor onbeschermd seksueel contact geopteerd worden als methode om op natuurlijke wijze zwanger te worden. Dezelfde voorwaarden en richtlijnen als voor het serodiscordante koppel waarvan de man HIV-1 geïnfecteerd is, gaan op. Ook hier kan het al dan niet angstige koppel zich behelpen met timed intercourse en/of combinatie met pre-exposure profylaxis bij de seronegatieve mannelijke partner. Het is uiterst belangrijk dat zij tijdens de preconceptuele counseling attent worden gemaakt op het mogelijke transmissiegevaar in deze situatie.

Evaluatie van de natuurlijke voortplantingsmethode

Bedside inseminatie is omwille van zijn eenvoud, kostprijs, toegankelijkheid en veiligheid de voorkeursmethode ter benadering van de serodiscordante situatie waarvan de vrouw seropositief is. Slechts weinig gegevens omtrent de resultaten van bedside inseminatie zijn beschikbaar. De onbeschermd methode is risicovoller wat de virale transmissie betreft. Onder de strikte voorwaarden en in combinatie met timed intercourse en pre-exposure profylaxis kan het transmissierisico in belangrijke mate gereduceerd worden, maar nooit tot het nul risico. Aangezien deze methode, in tegenstelling tot het serodiscordante koppel waarvan de man geïnfecteerd is, niet de enige is om op een natuurlijke wijze zwangerschap te bekomen, maar er een veiliger alternatief bestaat, wordt ze niet aanbevolen.

4.2.2. De kunstmatige voortplantingsmethode

Indien na 6 à 12 natuurlijke pogingen zwangerschap nog steeds uitblijft of indien er voorafbestaande fertiliteitsproblemen zijn, kan op de kunstmatige voortplantingsmethode beroep worden gedaan. Men dient nota te nemen dat seropositieve vrouwen vaker met fertiliteitsproblemen te kampen zullen hebben omwille van het mogelijk negatief effect van de HIV-1 infectie en/of de therapie op de fertiliteit. Over de zwangerschappen op deze manier bekomen zijn slechts een beperkt aantal studies beschikbaar. De resultaten omtrent de ovariële respons op IVF zijn controversieel. Coll et al. (2006) pleit voor een verminderde ovariële respons bij HIV-1 geïnfecteerde vrouwen in vergelijking met niet geïnfecteerde vrouwen. Bij gebruik van eigen oöcyten werd een verminderde zwangerschapsratio geobserveerd. Het gebruik van gedoneerde oöcyten toonde dan weer geen significante reductie in zwangerschapsratio's aan (76). Intuïtief zou men dit kunnen verklaren door een directe impact van HIV-1 op de humane oöcyt. Echter deze hypothese kan worden verworpen aangezien geen HIV-1 receptoren op de humane oöcyten kunnen worden aangetoond (77). Een andere verklaring zou het ontstaan van mitochondriale dysfuncties ten gevolge van antiretrovirale drugs kunnen zijn. Zoals reeds hierboven vermeldt kan HAART, meer bepaald de NRTI's, mitochondriale toxiciteit veroorzaken. Het oöcyt mtDNA depleteert en de fertiliteit van de geïnfecteerde vrouw reduceert (78). Ovariële resistentie aan hyperstimulatie kan eveneens bijdragen gezien uit de praktijk blijkt dat meer gonadotrofine units noodzakelijk zijn om een patiënte adequaat te stimuleren. Deze resistentie kan een subklinisch hypogonadisme weerspiegelen en ovulatie inductie kan als functionele stress test op de ovaria beschouwd worden (79). Martinet et al. (2006) pleit echter tegen een verschil in ovariële respons op een IVF programma tussen HIV-1 geïnfecteerde in goede algemene toestand en niet geïnfecteerde vrouwen. De indruk van sommige clinici dat de ovariële respons minder zou zijn bij HIV-1 geïnfecteerde patiënten schrijven ze toe aan een onderzoekersbias en verstoringe variabelen zoals oudere leeftijd en hogere prevalentie van tubaire pathologie bij HIV-1 geïnfecteerde vrouwen (42).

Evaluatie van de kunstmatige voortplantingsmethode

De kunstmatige zwangerschapsmethode vormt een 100% veilig alternatief indien omwille van fertiliteitsproblemen geen zwangerschap kan worden bekomen. Doordat slechts heel weinig data beschikbaar zijn over de outcome van een kunstmatige inseminatie in deze situatie, kan men geen uitspraak doen over de effectiviteit.

5. REPRODUCTIEVE BIJSTAND VOOR SEROCONCORDANTE KOPPELS

Hoewel zich in onze streken meestal serodiscordante koppels aanmelden, kan zich ook de situatie voordoen waarbij beide partners geïnfecteerd zijn. Data hieromtrent zijn eerder schaars, aangezien in de weinige centra waar deze koppels behandeld worden, de data niet apart geëvalueerd worden van de serodiscordante koppels. ESHRE adviseert tegen kunstmatige voortplantingstechnieken gezien de mogelijkheid op vroegtijdige dood van beide ouders, wat het kind wees maakt. Niet iedereen is het met dit standpunt eens, maar het is als arts belangrijk deze zorgen met het koppel te communiceren. De meeste HIV-1 seroconcordante koppels kunnen zelfinseminatie uitoefenen om een natuurlijke zwangerschap te bekomen, maar HIV-1 superinfectie van de vrouw kan optreden. Zo'n superinfectie zou gepaard gaan met ziekteprogressie, maar data hieromtrent zijn opnieuw eerder schaars. Juist om die redenen zijn sommige fertiliteitsklinieken wel bereid kunstmatige voortplantingstechnieken aan te bieden aan deze koppels, ongeacht de ESHRE aanbevelingen. Daartoe behoort ook het Academisch Medisch Centrum in Amsterdam. Van Leeuwen et al. (2007) (75) ontwikkelde er een algoritme om een zorgvuldige evaluatie van seroconcordante koppels te waarborgen. In dit algoritme werden drie veronderstellingen gemaakt: (i) het mogelijk gezondheidsverlies in geval van superinfectie met een discordante HIV-1 streng is minder schadelijk dan een seronegatieve vrouw die met HIV-1 geïnfecteerd geraakt; (ii) geen voorzorgen zijn noodzakelijk wanneer beide partners met HIV-1 geïnfecteerd zijn met dezelfde virale streng; (iii) het risico op HIV-1 superinfectie is laag wanneer de bloedplasma HIV-1 levels in de mannelijke partner minder dan 50 kopijen/ ml bedraagt. Regelmatige herevaluatie van bloedplasma HIV-1 levels in de behandelde mannelijke partner is nodig om de ontwikkeling van resistente strengen uit te sluiten, die spermaverwerking zullen nodig maken. Spermaverwerking is immers altijd geadviseerd in geval van resistentie, omdat HAART behandeling beperkt kan zijn als het virus wordt overgedragen. Normaal gezien wordt zelfinseminatie aangeraden, eerder dan onbeschermde seksuele contacten, omdat met zelfinseminatie het risico op superinfectie van de man uitgesloten is. Ook bij de behandelde vrouwelijke partner dient het bloedplasma HIV-1 level regelmatig opnieuw geëvalueerd te worden om te verzekeren dat resistentie zich niet ontwikkelt tijdens de conceptie of de vroege zwangerschap. In bijlage 5 wordt de flowchart van klinische beslissingen betreffende kunstmatige voortplantingstechnieken in het AMC in Amsterdam weergegeven.

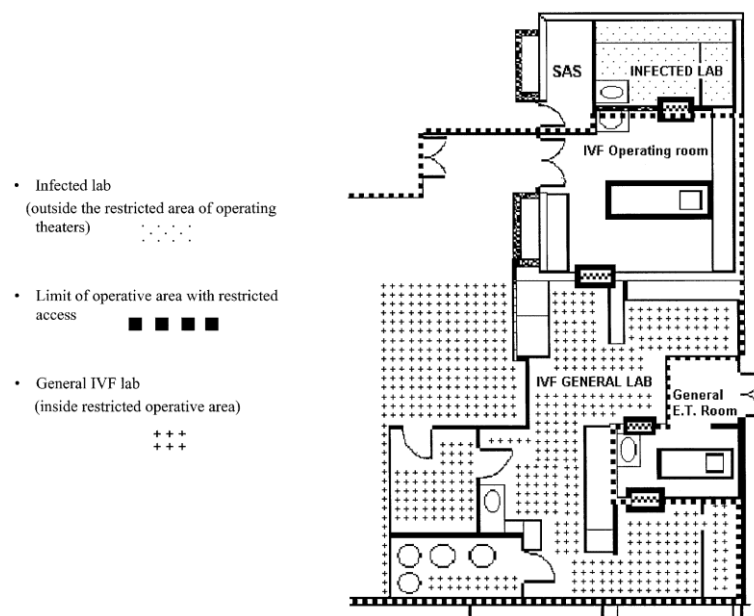
6. IN DE KANTLIJN

6.1. Nood aan aparte laboratoria

Het IVF laboratorium is een complexe structuur waar alles in teken staat van adequate condities voor cel overleving en cultuur. Condities die ook voordelig zijn voor bacteriën en virussen. Zo is infectie een belangrijke zorg voor de laboratoria. Het risico op kruiscontaminatie van niet geïnfecteerde stalen van HIV-1 negatieve patiënten of van laboratoriummedewerkers verhoogt wanneer gameten van HIV-1 positieve mannen en vrouwen in hetzelfde laboratorium worden verwerkt. De kruiscontaminatie kan optreden tijdens de punctie en de transfer als tijdens de subsequente laboratorische procedures zoals inseminatie, injectie, incubatie en cryopreservatie. Om deze reden wordt aanbevolen de stalen van mogelijks geïnfecteerde patiënten apart te verwerken in ruimte en/of in tijd.

De aparte verwerking in ruimte kan door gebruik te maken van aparte laboratoria voor de verwerking van geïnfecteerde stalen. Als voorbeeld kan het L2 laboratorium in Brussel worden aangehaald. Dit laboratorium werd ontworpen volgens de aanbevelingen voor een HIV- laboratorium. De plattegrond wordt hieronder meegegeven.

Figure 1. Separate adapted L2 laboratory.



Englert Y et al. Hum. Reprod. Update 2004;10:149-162

FIGUUR 6. Plattegrond van het L2 laboratorium in het Erasmus ziekenhuis, Brussel. Figuur naar Englert et al. (2004) (43).

Het laboratorium is uitgerust met bepaalde specifieke faciliteiten. Zo omvat het een luchtdichte kamer, dienen bepaalde procedures te worden doorlopen om veilig toegang te krijgen tot de ruimte, zijn alle faciliteiten nodig voor desinfectie en IVF/ICSI aanwezig, omvat het een aparte opslagruimte voor de verbruiksmaterialen en een apart koelingsstelsel voor de culturen. In de luchtdichte kamer wordt de steriele luchtstroom verticaal aan- en afgevoerd (het verticale laminaire luchtstroom kabinet) met 100% recirculatie van de gefilterde lucht. Een verticaal laminair luchtsysteem kan immers als veiliger worden beschouwd in vergelijking met een horizontaal laminair luchtsysteem (80).

Soms wordt geopteerd om de verwerking van de stalen te scheiden in tijd eerder dan in ruimte. Dan worden bepaalde dagen vastgelegd voor de behandeling van de geïnfecteerde gevallen. Op deze dagen worden geen niet-geïnfecteerde gevallen behandeld. Dit kan een tweede keuze zijn wanneer ruimte een probleem vormt (43).

Ten slotte is het belangrijk de laboratoriummedewerkers goed op te leiden en regelmatig te trainen. Steyaert et al. (2000) stelde een overzicht aan guidelines voor hen op (73).

Table III. Proposed guidelines to protect laboratory workers from the hazard of occupational infections

1.	Handle every body fluid as if it were contaminated
2.	Wear protective, non-toxic (non-powdered) gloves
3.	Wear a laboratory coat or disposable gown
4.	Wear safety glasses or goggles where appropriate
5.	Wear mouth masks or full face protection if formation of aerosols or droplets is possible
6.	Cap tubes while centrifuged
7.	Use a closed centrifuge
8.	Clean and decontaminate bench tops and instruments regularly
9.	Provide a hand-washing sink and an eyewash station
10.	Wash hands after removing gowns and gloves, and immediately if they become contaminated
11.	Use mechanical devices for pipetting
12.	Prohibit eating, drinking, smoking, application of make-up, or manipulation of contact lenses in the laboratory
13.	Do not store food and beverages in refrigerators designated for the storage of clinical specimens and other laboratory material
14.	Implement a plan for disposal of bio-hazardous materials
15.	Vaccinate employees for HBV

Table II. Proposed guidelines to avoid microbial contamination of the culture medium

<i>During preparation of the culture medium</i>	
1.	Use highly purified water
2.	Perform endotoxin tests and bacterial contamination testing
3.	Use sterile technique
4.	Use disposable equipment whenever possible
5.	Clean glassware properly, and heat-sterilize
6.	Store media at 4°C
<i>From the serum component</i>	
7.	Use the patients' own blood; or
8.	Use thoroughly screened sera or fetal cord blood; or
9.	Use serum substitutes
<i>From follicular fluid</i>	
10.	Rinse the vagina with normal saline
11.	Reduce number of microorganisms by physical processing
12.	Enrich culture medium with penicillin and streptomycin
<i>From semen</i>	
13.	Give detailed verbal and written instructions for semen collection
14.	Reduce number of microorganisms by physical processing
15.	Enrich culture medium with penicillin and streptomycin

TABEL 7. Guidelines voor de laboratoriummedewerkers ter preventie van contaminatie. Guidelines naar Steyaert et al. (2000)(69).

6.2. Het UZ Gent protocol: van intake tot zwangerschap

In bijlage 6 worden de flowcharts van het protocol omtrent de kwestie meegegeven. Wanneer een HIV-1 geïnficeerd koppel zich met een kinderwens in het UZ Gent aanmeldt, vangt de fertilitateitsarts aan met een eerste intakegesprek. Is het koppel nog niet gekend in het UZ Gent worden ze naar het aidsreferentiecentrum (ARC) doorverwezen. Daar wordt nagegaan of het HIV-1 RNA al dan niet aantoonbaar is in het plasma, wordt een medische evaluatie uitgevoerd, een staaltje naar de bloedbank gestuurd en een brief geplaatst in het elektronisch patiëntendossier. Als beide partijen groen licht geven voor behandeling wordt een fertilitateitsconsulent ingeschakeld voor gesprek. Dit is vandaag de dag echter geen routine meer, maar gebeurt enkel nog op indicatie. Als de man de geïnficeerde partner is, levert hij een spermastaal in. Deze wordt in het laboratorium onderzocht. Aan de hand van dit spermastaal gaat men na of aan de voorwaarden voor IUI wordt voldaan: de spermakwaliteit moet goed zijn en de eileiders van de vrouw moeten doorgankelijk zijn. Als niet aan deze criteria kan worden voldaan, opteert men voor IVF/ICSI. De laboratorische resultaten en hun praktische implicaties worden samen met het verdere verloop tijdens een tweede gesprek met de fertilitateitsarts overlopen. Tweemaandelijks komt de staf van het ARC en het ARG samen om de dossiers van alle patiënten te overlopen. De geïnficeerde mannelijke patiënt levert een spermastaal – geproduceerd en getransporteerd volgens de richtlijnen – in. Van dit spermastaal worden in het reproductieve laboratorium twee strootjes ingevroren in de HIV-1 tank, die later voor IUI kunnen worden gebruikt. In het aidsreferentiecentrum vult men twee epjes voor HIV-1 testing, zowel voor als na de spermaverwerking. Is de testing zowel voor als na de verwerking negatief, kan men overgaan tot IUI. Is het resultaat positief voor de verwerking, maar negatief na de verwerking dient eerst een 2^{de} testing ter bevestiging van hetzelfde resultaat uitgevoerd te worden vooraleer men kan overgaan tot IUI. Is het resultaat zowel voor al na de verwerking positief moeten de strootjes vernietigd worden. Men kan dan beroep doen op de biobank om de spermaverwerking en HIV-1 testing te herhalen. Is na de testing het advies positief, wordt IUI gepland. De vrouwelijke partner wordt maandelijks gecontroleerd op HIV-1. Als de vrouwelijke partner zwanger wordt, wordt de zwangerschap op de voet opgevolgd met regelmatige HIV-1 testing. Als de vrouw niet zwanger wordt, dient de man een nieuw staal te produceren voor spermaverwerking en invriezen bij het begin van de volgende cyclus.

VI. DISCUSSIE

Het is niet verbazingwekkend dat steeds meer HIV-1 geïnfecteerde koppels een kinderwens uiten. Deze houding heeft belangrijke implicaties op de preventie van de HIV-1 transmissie. In dit perspectief is de preconceptuele counseling van vitaal belang. Door de counseling te implementeren probeert men de koppels te helpen een geïnformeerde beslissing te nemen over veilig ouderschap.

Voor HIV-1 serodiscordante koppels waarvan de man HIV-1 geïnfecteerd is, stapelt de kennis over de fertiliteitskarakteristieken van deze patiënten, over de spermaverwerking en over het gebruik van kunstmatige bevruchtingstechnieken zich op. De efficaciteit van de spermaverwerkingstechnieken ter reductie van de virale lading is goed gekend en PCR kits ter detectie van HIV-1 in semen zijn ondertussen beschikbaar. Echter ondanks dat wereldwijd reeds duizenden cycli werden uitgevoerd zonder contaminatie, is het nog te vroeg om deze technieken als volledig veilig te bestempelen. Gekende casussen waar wel contaminatie optrad herinneren iedereen eraan dat het gevaar om de hoek schuilt wanneer een van de stappen uit de procedure wordt overgeslaan. In deze literatuurstudie wordt benadrukt dat zelfs vandaag - 20 jaar na het pionierschap van Semprini - nog geen zwart op wit antwoord klaarligt op de meeste vragen: er zijn nog geen gestandaardiseerde technieken noch voor spermaverwerking, noch voor HIV-1 detectie. Ook over de mate van efficaciteit van deze reproductieve technieken wat betreft de contaminatie reductie zijn geen data beschikbaar. Er is geen consensus over de verdiensten van IUI of ICSI in de preventie van HIV-1 transmissie. Het is dit gebrek aan zekerheid dat het opstellen van een ideaal protocol bijzonder moeilijk maakt. Wat wel reeds mogelijk is met de huidige kennis is het aannemen van een aantal houdingen ten opzichte van – al dan niet vroegere – punten van discussie: zo zeggen we vandaag de dag ja voor de systematische screening voor de medisch begeleide voortplanting, ja voor de behandeling van chronisch geïnfecteerde patiënten, ja voor aparte laboratoria en procedures, neen tegen het systematische gebruik van ICSI ter preventie van de contaminatie en neen tegen het overslaan van de virale validatie stap. Spermaverwerking moet de eerste keuze zijn, maar heden ten dage zouden artsen ook onbeschermd seksuele contacten, al dan niet in combinatie met timed intercourse en PreP in achtung moeten nemen als alternatief. Verscheidene trials hebben reeds de veiligheid en de matig tot hoge efficaciteit van topische en orale PreP aangetoond, maar meer data zijn nodig om de effectiviteit in verschillende

populaties aan te tonen, de relatie tussen therapietrouw en efficaciteit en het probleem van drugsresistentie.

Over serodiscordante koppels waarvan de vrouw HIV-1 geïnfecteerd is, is heel wat minder geweten. Laat staan over HIV-1 seroconcordante koppels. In de literatuur worden ze vaak als een geheel gezien, maar het bestuderen van deze koppels als een aparte entiteit zou nieuwe inzichten kunnen creëren. In ontwikkelde landen zoals België, kan de moeder op kind transmissie reeds in belangrijke mate gereduceerd worden door profylactische interventies, maar deze houdt verband met de antenatale HIV-1 screening. Onderzoek over het beperken van de bijwerkingen van medicatie, over de veiligheid van vaginale bevallingen en over borstvoeding bij vrouwen met een ondetecteerbare virale lading kan het toekomstig behandelplan voor deze koppels vormgeven.

Het is mogelijk dat de bevonden resultaten toepasbaar zijn op serodiscordante koppels met een gelijkaardig klinisch profiel uit de derdewereldlanden omdat er geen enkele reden is om te vermoeden dat deze populaties sterk van elkaar verschillen. De hoge kost van deze technieken moet dan afgewogen worden tegen de veiligheid van het land waar een hoog aantal HIV-1 besmettingen voorkomt.

Over het algemeen is tijdens het uitvoeren van deze literatuurstudie opgevallen dat data sterk versnipperd zijn. Hier en daar zien we een aantal inspanningen om de krachten te bundelen bijvoorbeeld het CREATHe netwerk, dat data verzamelt uit verschillende centra in Europa. Het doel is kennis, ervaringen en resultaten uit verschillende centra te verzamelen om de dienstverlening aan deze koppels te verbeteren. Ook over de Europese grenzen heen zou het nuttig zijn de koppen bij elkaar te steken. Dat vraagt een inspanning van alle betrokken partijen, maar uit de verzamelde data kunnen we besluiten dat dergelijke investeringen noodzakelijk zijn. Verder is opgevallen dat er weinig relevante recente literatuur het domein bestudeert. Of anders gezegd, er is heel wat recente literatuur terug te vinden, maar het copy-cat gehalte van reeds bestaande studies ligt erg hoog. Dit creëerde het gevoel dat heel wat wetenschappers te sterk vasthangen aan hun eigen standpunten. Een eigenschap die wel eens het gevolg zou kunnen zijn van het gebrek aan klinische trials en een belangrijk fundament is van tal van discussies en onenigheden.

Gerandomiseerde klinische studies zijn nodig om efficaciteit en veiligheid van talrijke procedures aan te tonen. Jammer genoeg staan ethische kwesties hier soms in de weg. Een

meta-analyse werd niet uitgevoerd aangezien de outcome van observationele studies beter wordt beschreven met frequenties en intervallen eerder dan met samenvattingsmaten (81). En aangezien de meeste studies omtrent deze kwestie van het observationele type zijn, gaat dit argument hier ook op. Deze observationele studies bleken niet homogeen te zijn in termen van inclusiecriteria. Zo verschilden de leeftijd van de geïncludeerde patiënten, de factoren geassocieerd met infertiliteit en de exclusie van cycli met een zwakke respons. Recente descriptieve studies includeren HIV seronegatieve koppels als een controle groep. Gestandaardiseerde outcome- en associatiematen zouden een meta-analyse mogelijk maken (57). Publicatie bias moet steeds in het achterhoofd gehouden worden. Ondanks de kennis van een aantal cases waar seroconversie optrad, was het onmogelijk deze in de literatuur terug te vinden. Zelfs niet na het uitzetten van alle mogelijke filters in de zoekstrategie.

Ondanks de vele grijze zones tonen jarenlange data toch het belang aan van degelijke risico-reducerende strategieën, de nood aan grotere beschikbaarheid van goed ontwikkelde centra die deze strategieën aanbieden, en de blijvende nood aan samenwerking teneinde de kwaliteit van de aangeboden diensten te blijven verbeteren (63).

VII. REFERENTIES

1. Simon V, Ho DD, Abdool Karim Q. HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment. *Lancet*. 2006;368(9534):489-504.
2. Englert Y, Van Vooren JP, Place I, Liesnard C, Laruelle C, Delbaere A. ART in HIV-infected couples: has the time come for a change of attitude? *Human reproduction*. 2001;16(7):1309-15.
3. Gilling-Smith C, Smith JR, Semprini AE. HIV and infertility: time to treat. There's no justification for denying treatment to parents who are HIV positive. *Bmj*. 2001;322(7286):566-7.
4. Lowe SH, Sankatsing SU, Repping S, van der Veen F, Reiss P, Lange JM, et al. Is the male genital tract really a sanctuary site for HIV? Arguments that it is not. *Aids*. 2004;18(10):1353-62.
5. Le Tortorec A, Dejuq-Rainsford N. HIV infection of the male genital tract--consequences for sexual transmission and reproduction. *International journal of andrology*. 2010;33(1):e98-108.
6. Marina S, Marina F, Alcolea R, Exposito R, Huguet J, Nadal J, et al. Human immunodeficiency virus type 1--serodiscordant couples can bear healthy children after undergoing intrauterine insemination. *Fertility and sterility*. 1998;70(1):35-9.
7. Hanabusa H, Kuji N, Kato S, Tagami H, Kaneko S, Tanaka H, et al. An evaluation of semen processing methods for eliminating HIV-1. *Aids*. 2000;14(11):1611-6.
8. Leruez-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.
9. Kim LU, Johnson MR, Barton S, Nelson MR, Sontag G, Smith JR, et al. Evaluation of sperm washing as a potential method of reducing HIV transmission in HIV-discordant couples wishing to have children. *Aids*. 1999;13(6):645-51.
10. 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. *The Journal of infectious diseases*. 1997;176(4):960-8.
11. 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.
12. Persico T, Savasi V, Ferrazzi E, Oneta M, Semprini AE, Simoni G. Detection of human immunodeficiency virus-1 RNA and DNA by extractive and in situ PCR in unprocessed semen and seminal fractions isolated by semen-washing procedure. *Human reproduction*. 2006;21(6):1525-30.
13. Dussaix E, Guetard D, Dauguet C, D'Almeida M, Auer J, Ellrodt A, et al. Spermatozoa as potential carriers of HIV. *Research in virology*. 1993;144(6):487-95.
14. Scofield VL, Rao B, Broder S, Kennedy C, Wallace M, Graham B, et al. HIV interaction with sperm. *Aids*. 1994;8(12):1733-6.
15. Ping LH, Cohen MS, Hoffman I, Vernazza P, Seillier-Moiseiwitsch F, Chakraborty H, et al. Effects of genital tract inflammation on human immunodeficiency virus type 1 V3 populations in blood and semen. *Journal of virology*. 2000;74(19):8946-52.
16. Zhang H, Dornadula G, Beumont M, Livornese L, Jr., Van Uitert B, Henning K, et al. Human immunodeficiency virus type 1 in the semen of men receiving highly active antiretroviral therapy. *The New England journal of medicine*. 1998;339(25):1803-9.
17. Vernazza PL, Troiani L, Flepp MJ, Cone RW, Schock J, Roth F, et al. Potent antiretroviral treatment of HIV-infection results in suppression of the seminal shedding of HIV. *The Swiss HIV Cohort Study*. *Aids*. 2000;14(2):117-21.
18. Bujan L, Daudin M, Alvarez M, Massip P, Puel J, Pasquier C. Intermittent human immunodeficiency type 1 virus (HIV-1) shedding in semen and efficiency of sperm processing despite high seminal HIV-1 RNA levels. *Fertility and sterility*. 2002;78(6):1321-3.
19. Krieger JN, Nirapathpongporn A, Chaiyaporn M, Peterson G, Nikolaeva I, Akridge R, et al. Vasectomy and human immunodeficiency virus type 1 in semen. *The Journal of urology*. 1998;159(3):820-5; discussion 5-6.
20. Lu JC, Huang YF, Lu NQ. [WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen: its applicability to andrology laboratories in China]. *Zhonghua nan ke xue = National journal of andrology*. 2010;16(10):867-71.
21. 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. *Journal of andrology*. 2007;28(3):444-52.
22. Krieger JN, Coombs RW, Collier AC, Koehler JK, Ross SO, Chaloupka K, et al. Fertility parameters in men infected with human immunodeficiency virus. *The Journal of infectious diseases*. 1991;164(3):464-9.

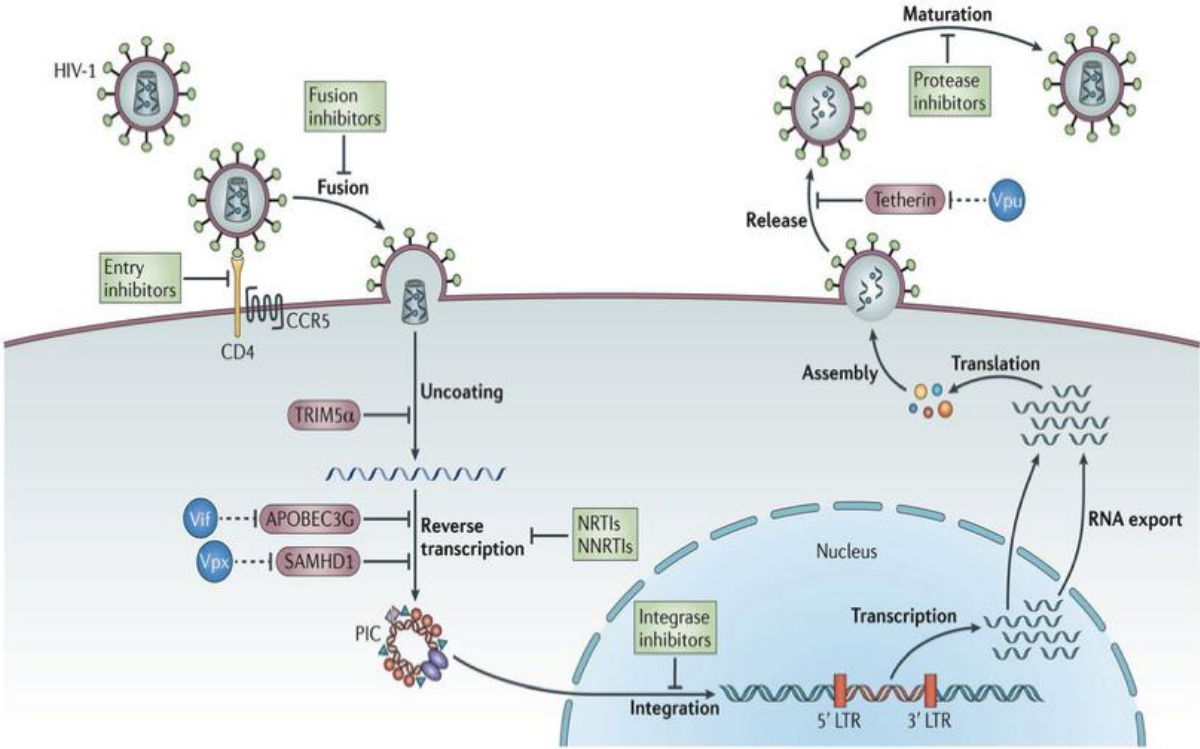
23. Politch JA, Mayer KH, Abbott AF, Anderson DJ. The effects of disease progression and zidovudine therapy on semen quality in human immunodeficiency virus type 1 seropositive men. *Fertility and sterility*. 1994;61(5):922-8.
24. Dondero F, Rossi T, D'Offizi G, Mazzilli F, Rosso R, Sarandrea N, et al. Semen analysis in HIV seropositive men and in subjects at high risk for HIV infection. *Human reproduction*. 1996;11(4):765-8.
25. Nicopoulos JD, Almeida PA, Ramsay JW, Gilling-Smith C. The effect of human immunodeficiency virus on sperm parameters and the outcome of intrauterine insemination following sperm washing. *Human reproduction*. 2004;19(10):2289-97.
26. Crittenden JA, Handelsman DJ, Stewart GJ. Semen analysis in human immunodeficiency virus infection. *Fertility and sterility*. 1992;57(6):1294-9.
27. 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.
28. van Leeuwen E, Cornelissen M, de Vries JW, Lowe SH, Jurriaans S, Repping S, et al. Semen parameters of a semen donor before and after infection with human immunodeficiency virus type 1: case report. *Human reproduction*. 2004;19(12):2845-8.
29. van Leeuwen E, Wit FW, Prins JM, Reiss P, van der Veen F, Repping S. Semen quality remains stable during 96 weeks of untreated human immunodeficiency virus-1 infection. *Fertility and sterility*. 2008;90(3):636-41.
30. Nicopoulos JD, Almeida P, Vourliotis M, Gilling-Smith C. A decade of the sperm-washing programme: correlation between markers of HIV and seminal parameters. *HIV medicine*. 2011;12(4):195-201.
31. White AJ. Mitochondrial toxicity and HIV therapy. *Sexually transmitted infections*. 2001;77(3):158-73.
32. Gerschenson M, Brinkman K. Mitochondrial dysfunction in AIDS and its treatment. *Mitochondrion*. 2004;4(5-6):763-77.
33. van Leeuwen E, Wit FW, Repping S, Eeftinck Schattenkerk JK, Reiss P, van der Veen F, et al. Effects of antiretroviral therapy on semen quality. *Aids*. 2008;22(5):637-42.
34. Robbins WA, Witt KL, Haseman JK, Dunson DB, Troiani L, Cohen MS, et al. Antiretroviral therapy effects on genetic and morphologic end points in lymphocytes and sperm of men with human immunodeficiency virus infection. *The Journal of infectious diseases*. 2001;184(2):127-35.
35. Clemetson DB, Moss GB, Willerford DM, Hensel M, Emonyi W, Holmes KK, et al. Detection of HIV DNA in cervical and vaginal secretions. Prevalence and correlates among women in Nairobi, Kenya. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 1993;269(22):2860-4.
36. Mostad SB, Kreiss JK. Shedding of HIV-1 in the genital tract. *Aids*. 1996;10(12):1305-15.
37. Coombs RW, Reichelderfer PS, Landay AL. Recent observations on HIV type-1 infection in the genital tract of men and women. *Aids*. 2003;17(4):455-80.
38. Kovacs A, Wasserman SS, Burns D, Wright DJ, Cohn J, Landay A, et al. Determinants of HIV-1 shedding in the genital tract of women. *Lancet*. 2001;358(9293):1593-601.
39. Mostad SB, Overbaugh J, DeVange DM, Welch MJ, Chohan B, Mandaliya K, et al. Hormonal contraception, vitamin A deficiency, and other risk factors for shedding of HIV-1 infected cells from the cervix and vagina. *Lancet*. 1997;350(9082):922-7.
40. Wang CC, McClelland RS, Overbaugh J, Reilly M, Panteleeff DD, Mandaliya K, et al. The effect of hormonal contraception on genital tract shedding of HIV-1. *Aids*. 2004;18(2):205-9.
41. Harlow SD, Schuman P, Cohen M, Ohmit SE, Cu-Uvin S, Lin X, et al. Effect of HIV infection on menstrual cycle length. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2000;24(1):68-75.
42. Martinet V, Manigart Y, Rozenberg S, Becker B, Gerard M, Delvigne A. Ovarian response to stimulation of HIV-positive patients during IVF treatment: a matched, controlled study. *Human reproduction*. 2006;21(5):1212-7.
43. Englert Y, Lesage B, Van Vooren JP, Liesnard C, Place I, Vannin AS, et al. Medically assisted reproduction in the presence of chronic viral diseases. *Human reproduction update*. 2004;10(2):149-62.
44. Lo JC, Schambelan M. Reproductive function in human immunodeficiency virus infection. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86(6):2338-43.
45. Sedgh G, Larsen U, Spiegelman D, Msamanga G, Fawzi WW. HIV-1 disease progression and fertility in Dar es Salaam, Tanzania. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2005;39(4):439-45.
46. Barreiro P, Castilla JA, Labarga P, Soriano V. Is natural conception a valid option for HIV-serodiscordant couples? *Human reproduction*. 2007;22(9):2353-8.
47. van Leeuwen E, Repping S, Prins JM, Reiss P, van der Veen F. Assisted reproductive technologies to establish pregnancies in couples with an HIV-1-infected man. *The Netherlands journal of medicine*. 2009;67(8):322-7.
48. 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.

49. Edlin BR, Holmberg SD. Insemination of HIV-negative women with processed semen of HIV-positive partners. *Lancet*. 1993;341(8844):570-1.
50. Centers for Disease C. HIV-1 infection and artificial insemination with processed semen. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 1990;39(15):249, 55-6.
51. Semprini AE, Macaluso M, Hollander L, Vucetich A, Duerr A, Mor G, et al. Safe conception for HIV-discordant couples: insemination with processed semen from the HIV-infected partner. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2013;208(5):402 e1-9.
52. Savasi V, Mandia L, Laoreti A, Cetin I. Reproductive assistance in HIV serodiscordant couples. *Human reproduction update*. 2013;19(2):136-50.
53. Politch JA, Xu C, Tucker L, Anderson DJ. Separation of human immunodeficiency virus type 1 from motile sperm by the double tube gradient method versus other methods. *Fertility and sterility*. 2004;81(2):440-7.
54. Fiscus SA, Brambilla D, Coombs RW, Yen-Lieberman B, Bremer J, Kovacs A, et al. Multicenter evaluation of methods to quantitate human immunodeficiency virus type 1 RNA in seminal plasma. *Journal of clinical microbiology*. 2000;38(6):2348-53.
55. De Haan N, Spelt M, Gobel R. *Reproductive medicine: a textbook for paramedics* Amsterdam: Elsevier Gezondheidszorg; 2010.
56. 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. *Human reproduction*. 2007;22(3):772-7.
57. Bujan L, Pasquier C, Labeyrie E, Lanusse-Crousse P, Morucci M, Daudin M. Insemination with isolated and virologically tested spermatozoa is a safe way for human immunodeficiency type 1 virus-serodiscordant couples with an infected male partner to have a child. *Fertility and sterility*. 2004;82(4):857-62.
58. 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. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2002;186(4):627-33.
59. Sauer MV, Wang JG, Douglas NC, Nakhuda GS, Vardhana P, Jovanovic V, et al. Providing fertility care to men seropositive for human immunodeficiency virus: reviewing 10 years of experience and 420 consecutive cycles of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertility and sterility*. 2009;91(6):2455-60.
60. Bujan L, Daudin M, Pasquier C. Choice of ART programme for serodiscordant couples with an HIV infected male partner. *Human reproduction*. 2006;21(5):1332-3; author reply 3-4.
61. 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. *Human reproduction*. 2005;20(8):2242-6.
62. Vitorino RL, Grinsztejn BG, de Andrade CA, Hokerberg YH, de Souza CT, Friedman RK, et al. Systematic review of the effectiveness and safety of assisted reproduction techniques in couples serodiscordant for human immunodeficiency virus where the man is positive. *Fertility and sterility*. 2011;95(5):1684-90.
63. Nicopoullou JD, Almeida P, Vourliotis M, Gilling-Smith C. A decade of the United Kingdom sperm-washing program: untangling the transatlantic divide. *Fertility and sterility*. 2010;94(6):2458-61.
64. Programme CH. The PARTNER Study. Available from: <http://www.cphiv.dk/partner/tabid/406/default.aspx>.
65. Grant RM, Lama JR, Anderson PL, McMahan V, Liu AY, Vargas L, et al. Preexposure chemoprophylaxis for HIV prevention in men who have sex with men. *The New England journal of medicine*. 2010;363(27):2587-99.
66. Heneine W, Kashuba A. HIV prevention by oral preexposure prophylaxis. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2012;2(3):a007419.
67. Dumond JB, Yeh RF, Patterson KB, Corbett AH, Jung BH, Rezk NL, et al. Antiretroviral drug exposure in the female genital tract: implications for oral pre- and post-exposure prophylaxis. *Aids*. 2007;21(14):1899-907.
68. Vernazza PL, Graf I, Sonnenberg-Schwan U, Geit M, Meurer A. Preexposure prophylaxis and timed intercourse for HIV-discordant couples willing to conceive a child. *Aids*. 2011;25(16):2005-8.
69. van Leeuwen E, Visser M, Prins JM, Nieuwkerk PT, van der Veen F. HIV couples' anxiety and risk taking during ART. *Fertility and sterility*. 2008;90(2):456-8.
70. Cliffe S, Townsend CL, Cortina-Borja M, Newell ML. Fertility intentions of HIV-infected women in the United Kingdom. *AIDS care*. 2011;23(9):1093-101.
71. Baroncelli S, Tamburrini E, Ravizza M, Pinnetti C, Dalzero S, Scata M, et al. Pregnancy outcomes in women with advanced HIV infection in Italy. *AIDS patient care and STDs*. 2011;25(11):639-45.
72. Coll O, Lopez M, Hernandez S. Fertility choices and management for HIV-positive women. *Current opinion in HIV and AIDS*. 2008;3(2):186-92.
73. Steyaert SR, Leroux-Roels GG, Dhont M. Infections in IVF: review and guidelines. *Human reproduction update*. 2000;6(5):432-41.
74. European Collaborative S. Mother-to-child transmission of HIV infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2005;40(3):458-65.

75. van Leeuwen E, Prins JM, Jurriaans S, Boer K, Reiss P, Repping S, et al. Reproduction and fertility in human immunodeficiency virus type-1 infection. *Human reproduction update*. 2007;13(2):197-206.
76. 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. *Reproductive biomedicine online*. 2007;14(4):488-94.
77. Baccetti B, Benedetto A, Collodel G, di Caro A, Garbuglia AR, Piomboni P. The debate on the presence of HIV-1 in human gametes. *Journal of reproductive immunology*. 1998;41(1-2):41-67.
78. Lewis W, Day BJ, Copeland WC. Mitochondrial toxicity of NRTI antiviral drugs: an integrated cellular perspective. *Nature reviews Drug discovery*. 2003;2(10):812-22.
79. Coll O, Suy A, Figueras F, Vernaev V, Martinez E, Mataro D, et al. Decreased pregnancy rate after in-vitro fertilization in HIV-infected women receiving HAART. *Aids*. 2006;20(1):121-3.
80. Gilling-Smith C, Emiliani S, Almeida P, Liesnard C, Englert Y. Laboratory safety during assisted reproduction in patients with blood-borne viruses. *Human reproduction*. 2005;20(6):1433-8.
81. Egger M, Schneider M, Davey Smith G. Spurious precision? Meta-analysis of observational studies. *Bmj*. 1998;316(7125):140-4.

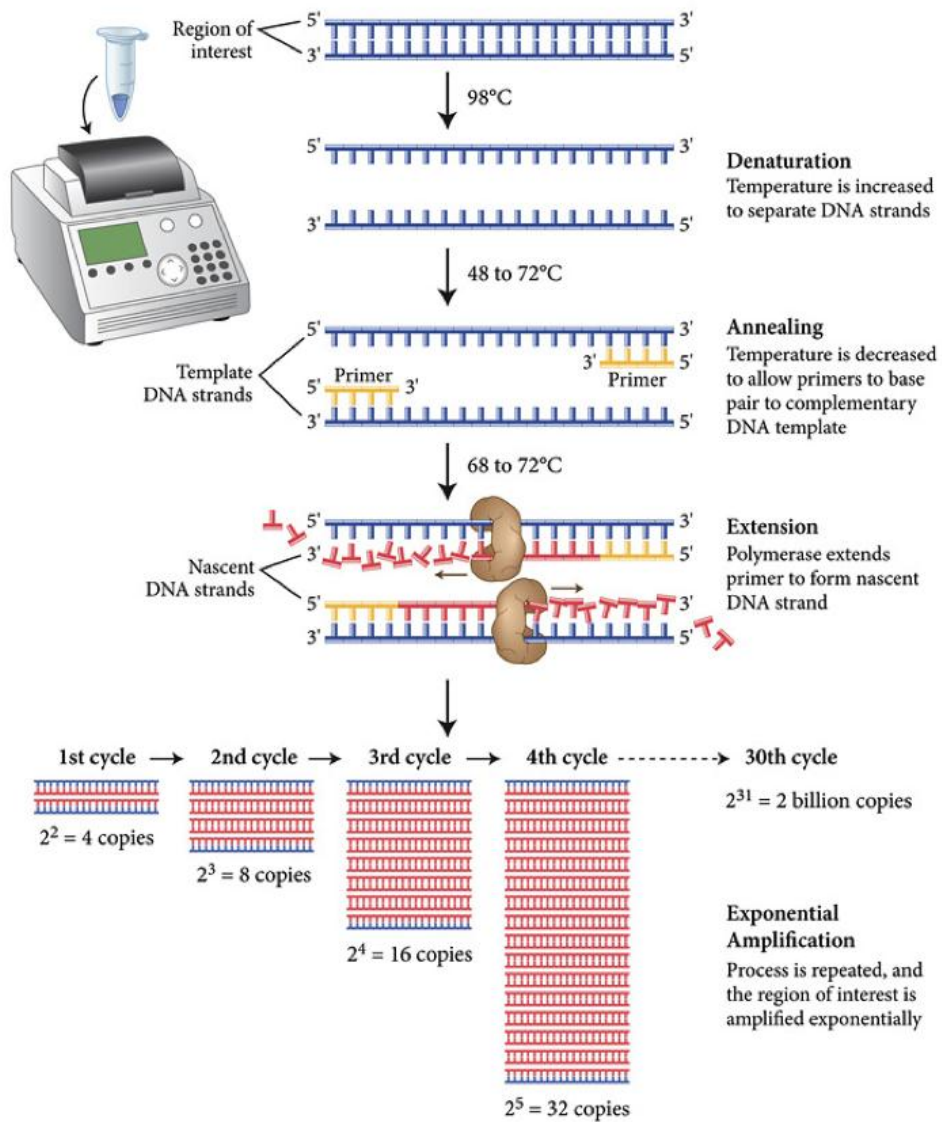
VIII.BIJLAGEN

BIJLAGE 1. De virale replicatiecyclus.



Nature Reviews | Microbiology

BIJLAGE 2. De polymerasekettingreactie.



BIJLAGE 3. WHO- referentiewaarden voor semen parameters (20).

Table A1.1 Lower reference limits (5th centiles and their 95% confidence intervals) for semen characteristics

Parameter	Lower reference limit
Semen volume (ml)	1.5 (1.4–1.7)
Total sperm number (10^6 per ejaculate)	39 (33–46)
Sperm concentration (10^6 per ml)	15 (12–16)
Total motility (PR + NP, %)	40 (38–42)
Progressive motility (PR, %)	32 (31–34)
Vitality (live spermatozoa, %)	58 (55–63)
Sperm morphology (normal forms, %)	4 (3.0–4.0)
Other consensus threshold values	
pH	≥ 7.2
Peroxidase-positive leukocytes (10^6 per ml)	< 1.0
MAR test (motile spermatozoa with bound particles, %)	< 50
Immunobead test (motile spermatozoa with bound beads, %)	< 50
Seminal zinc (μmol /ejaculate)	≥ 2.4
Seminal fructose (μmol /ejaculate)	≥ 13
Seminal neutral glucosidase (mU/ejaculate)	≥ 20

BIJLAGE 4. De drie stappen van de Semprini methode in detail (20).

De dichtheitsgradiënt centrifugatie

1. Prepare the density-gradient medium in a test-tube by layering 1 ml of 40% (v/v) density-gradient medium over 1 ml of 80% (v/v) density-gradient medium.
2. Mix the semen sample well (see Box 2.3).
3. Place 1 ml of semen above the density-gradient media and centrifuge at 300–400g for 15–30 minutes. More than one tube per semen sample may be used, if necessary.
4. Remove most of the supernatant from the sperm pellet.
5. Resuspend the sperm pellet in 5 ml of supplemented medium by gentle pipetting (to aid removal of contaminating density-gradient medium) and centrifuge at 200g for 4–10 minutes.
6. Repeat the washing procedure (steps 4 and 5 above).
7. Resuspend the final pellet in supplemented medium by gentle pipetting so that concentration and motility can be determined (see Sections 2.5 and 2.7).

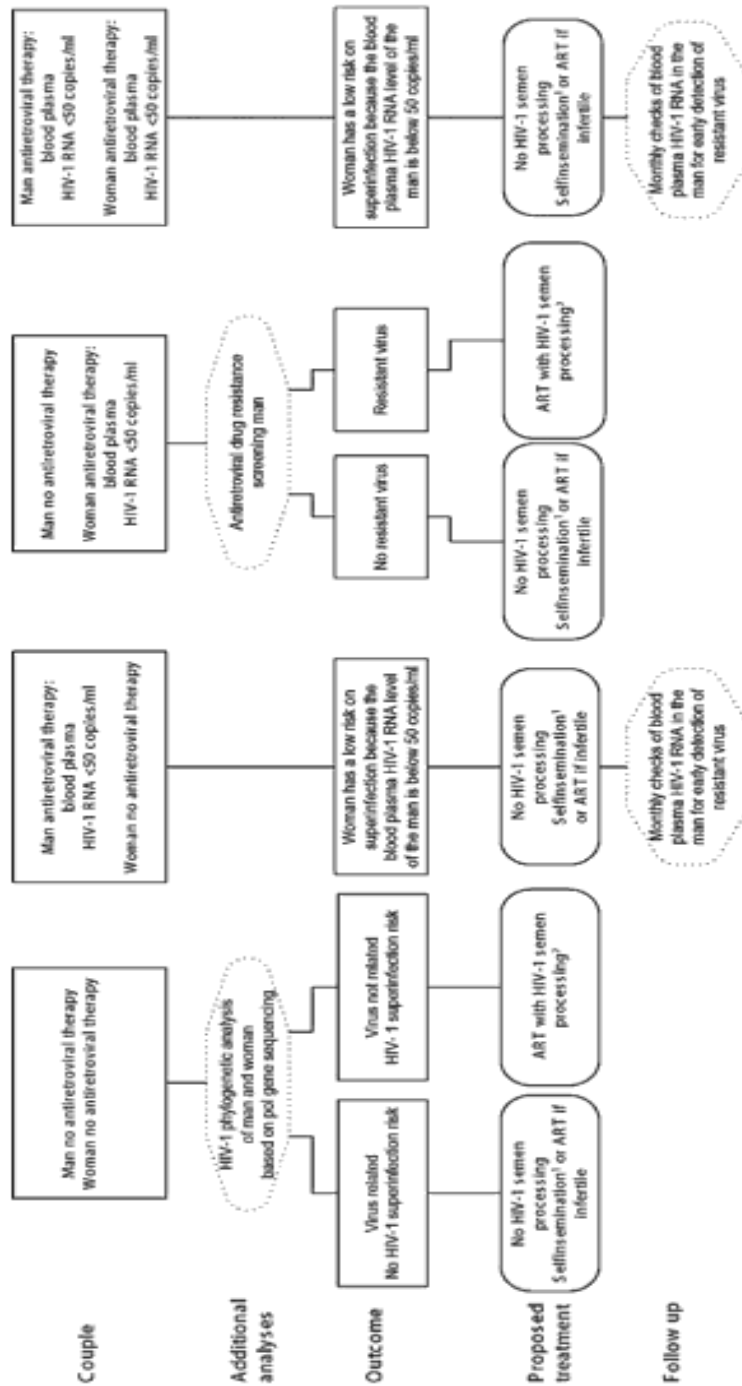
De spermawassing

1. Mix the semen sample well (see Box 2.3).
2. Place 1 ml of semen in a sterile 15-ml conical centrifuge tube, and gently layer 1.2 ml of supplemented medium over it. Alternatively, pipette the semen carefully under the supplemented culture medium.
3. Incline the tube at an angle of about 45°, to increase the surface area of the semen–culture medium interface, and incubate for 1 hour at 37 °C.
4. Gently return the tube to the upright position and remove the uppermost 1 ml of medium. This will contain highly motile sperm cells.
5. Dilute this with 1.5–2.0 ml of supplemented medium.
6. Centrifuge at 300–500g for 5 minutes and discard the supernatant.
7. Resuspend the sperm pellet in 0.5 ml of supplemented medium for assessment of sperm concentration, total motility and progressive motility (see Sections 2.5 and 2.7).
8. The specimen may be used directly for therapeutic or research purposes.

De Swim-up

1. Mix the semen sample well (see Box 2.3).
2. Dilute the entire semen sample 1 + 1 (1:2) with supplemented medium to promote removal of seminal plasma.
3. Transfer the diluted suspension into multiple centrifuge tubes, with preferably not more than 3 ml per tube.
4. Centrifuge at 300–500g for 5–10 minutes.
5. Carefully aspirate and discard the supernatants.
6. Resuspend the combined sperm pellets in 1 ml of supplemented medium by gentle pipetting.
7. Centrifuge again at 300–500g for 3–5 minutes.
8. Carefully aspirate and discard the supernatant.
9. Resuspend the sperm pellet, by gentle pipetting, in a volume of supplemented medium appropriate for final disposition, e.g. insemination, so that concentration and motility can be determined (see Sections 2.5 and 2.7).

BIJLAGE 5. Flowchart van de klinische beslissingen betreffende de reproductieve opties bij een seroconcordant HIV-1 geïnfecteerd koppel in het Academische Medisch Centrum, Amsterdam (75).

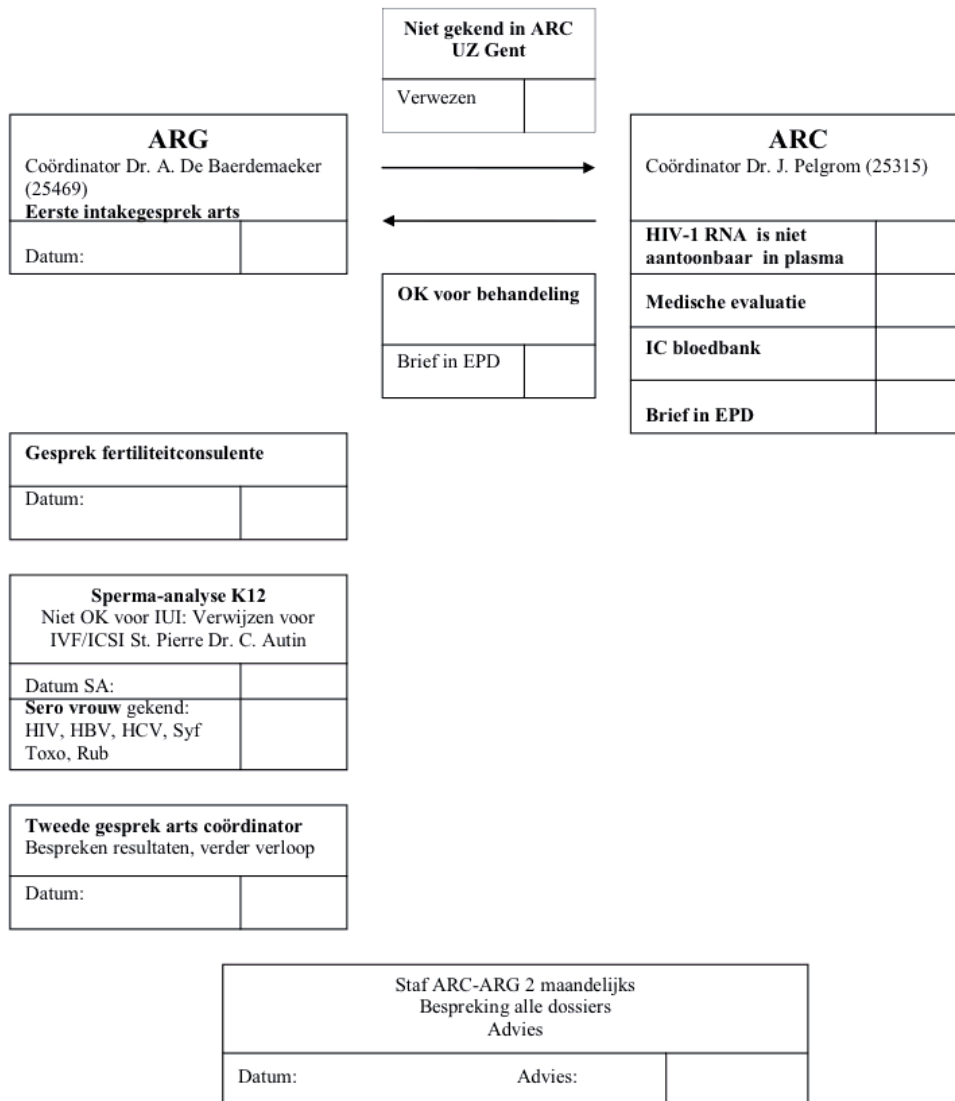


1. For all couples the formal advice is selfinsemination instead of unprotected intercourse to prevent HIV-1 superinfection of the male partner.
2. HIV semen processing is desired in case of discordant HIV-1 strains, in the presence of proven resistant virus in the male partner or when blood plasma HIV-1 RNA levels are detectable under antiretroviral therapy in the male partner.

BIJLAGE 6.A. Flowchart en checklist van een HIV+ serodiscordant koppel met een kinderwens in het UZ Gent.

Kinderwens van HIV pos man met HIV neg vrouw

Flowchart en checklist



BIJLAGE 6.B. Flowchart en checklist van een HIV+ serodiscordant koppel met een kinderwens in het UZ Gent.

