

Reproducción Asistida

Estado inmune frente al citomegalovirus en donantes de gametos y parejas estériles

Immune status against CMV in donors of gametes and among infertile couples

Fernández A¹, González-Gómez F², Molina R³, Yoldi A¹, Gonzalvo MC¹, Vergara F¹, Fontes J³, Pedrosa C², Malde J², Ramírez JP¹, Castilla JA¹.

¹Laboratorio CEIFER, Granada; ²Centro de Reproducción Asistida y Genética Reproductiva, Clínica Inmaculada, Granada; ³Centro de Reproducción Humana de Granada, Granada.

Resumen

Introducción: *El citomegalovirus es un herpesvirus cuya infección es una de las más extendidas en el mundo. Se transmite vertical y horizontalmente. A pesar de que la infección es frecuente la enfermedad asociada es un hallazgo relativamente raro, pero puede originar una infección generalizada muy grave en el recién nacido. El hecho de haberse aislado CMV en semen ha llevado a plantear diversas alternativas en el tratamiento de parejas estériles serodiscordantes para CMV y a posturas contrapuestas a la hora de admitir como donantes de gametos a individuos con infección antigua, habiendo propuesto la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE) el emparejamiento donante-receptora en base a su estado inmune frente a CMV.*

Objetivos: *Analizar el estado inmunitario de donantes de gametos y parejas estériles frente al citomegalovirus (CMV), con el objeto de determinar el impacto que tendría en nuestro medio la implantación de las recomendaciones de la ESHRE de emparejar donante-receptora en base a su estado inmune frente al CMV.*

Material y métodos: *El estudio se realizó en una población de candidatos a donantes de gametos (50 de semen y 50 de ovocitos) y en una población de 100 parejas estériles. Los candidatos a donantes fueron sometidos a un proceso de screening en base a los protocolos de estudio establecidos en el R.D. 412/1996. Y el diagnóstico de la infección por CMV, tanto en los candidatos a donantes como en las 100 parejas estériles, se realizó mediante pruebas serológicas con la finalidad de determinar mediante técnicas inmunoenzimáticas la presencia de anti-CMV IgM e IgG.*

Correspondencia: Dr. D. José Antonio Castilla
Laboratorio CEIFER
C/ Martínez Campos, 11, 1ºA.
18005 Granada
España
e-mail: info@ceifer.com

Resultados: En la población de parejas estériles se detectó anti-CMV IgG en 126 de los 200 sueros analizados lo que representa el 63% de los casos y sólo se detectó un caso de un varón anti-CMV IgM. En el 16% de las parejas estudiadas se observó que la mujer no tenía anticuerpos frente al CMV (IgM-/IgG-) y el varón presentaba infección antigua (IgM-/IgG+). En 29 de los 50 sueros de donantes de semen analizados se detectó anti-CMV IgG (58%) y no se observó seroconversión en la segunda analítica realizada transcurridos seis meses. En la población de donantes de ovocitos se detectaron 31 sueros anti-CMV IgG+ (62%). No se observaron diferencias significativas en el estado inmune frente a CMV entre donantes de semen, ovocitos y parejas estériles.

Conclusión: La inclusión del estudio serológico de la infección por CMV en los donantes y pacientes que van a someterse a RA, haría posible seguir las recomendaciones de la ESHRE sobre emparejamientos donante de semen-receptora en base a su estado inmune frente al CMV y permitiría una atención más racional a estas parejas.

Palabras clave: Citomegalovirus. Serodiscordancia. Seroconversión.

Summary

Introduction: Infection by cytomegalovirus (CMV), a herpes virus, is one of the most prevalent of all virus infections, and one that can be transmitted both vertically and horizontally. Although CMV infection is common, the associated disease is a relatively rare occurrence, but one that can cause very severe generalised infection in the neonate. The fact that CMV has been isolated from semen has led to various alternatives being considered in the treatment of sterile couples who are serodiscordant for CMV, and to contradictory approaches regarding the acceptance of donors of gametes who present a history of infection. The European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) has proposed donor-recipient matching on the basis of their immune status against CMV.

Objectives: To analyse the immune status against CMV of donors of gametes and of infertile couples, in order to determine the effect on our field of activity of applying the ESHRE recommendations for donor-recipient matching on the basis of their immune status against CMV.

Materials and methods: The study was carried out among a population of candidates to be donors of gametes (50 of semen and 50 of oocytes) and among a population of 100 infertile couples. The donor candidates were subjected to a screening process set up according to the study protocols stipulated under Spanish law (R.D. 412/1996). The diagnosis of CMV infection, both for the donor candidates and for the 100 infertile couples, was made by serologic studies intended to distinguish the presence of anti-CMV IgM and IgG by means of immunoenzymatic techniques.

Results: Among the population of infertile couples, anti-CMV IgG was detected in 126 of the 200 serum samples analysed (63%), while only one case of a man presenting anti-CMV IgM was detected. Among 16% of the couples studied, the woman presented no antibodies against CMV (IgM-/IgG-) and the man presented an old infection (IgM-/IgG+). In 29 of the 50 serum samples obtained from semen donors (58%), our analysis detected anti-CMV IgG, and no seroconversion was observed in the second analysis carried out six months later. Among the population of donors of oocytes, 31 cases (62%) of anti-CMV IgG+ samples were detected. No significant differences were observed in immune status against CMV between the semen donors, the oocyte donors and the infertile couples.

Conclusions: The inclusion of CMV infection in the serologic study to be made of donors and of patients who are candidates for assisted reproduction would make it possible to follow the ESHRE recommendations for matching of recipients and semen donors on the basis of their immune status against CMV and would improve the attention provided to such patients.

Key Words: Cytomegalovirus. Serodiscordant. Seroconversion.

INTRODUCCIÓN

El citomegalovirus (CMV) es un herpesvirus cuya infección es una de las más extendidas en el mundo. Se transmite, vertical y horizontalmente, habiéndose aislado en saliva, orina, semen, leche materna y secreciones vaginales y cervicales. La primoinfección suele contraerse en el primer año de vida, pero hay un segundo periodo de incidencia aumentada al iniciarse las relaciones sexuales. En países desarrollados la prevalencia del virus en adolescentes es del 40%, incrementándose anualmente un 1%, alcanzando el 70% en la edad adulta.

La infección es frecuente y afecta a la mayoría de la población, mientras la enfermedad asociada es un hallazgo relativamente raro pero puede originar una infección generalizada muy grave en el recién nacido. La infección congénita por CMV es quizás la infección congénita que con más frecuencia se detecta en los países desarrollados (del 0,1% al 1% de los nacimientos), puede presentarse en la primoinfección, en la reactivación (se activa una cepa latente) o en la reinfección (individuo con inmunidad a una cepa de CMV se infecta con otra distinta). La primoinfección se produce en el 1-5% de las gestantes susceptibles

(sin inmunidad previa) y la infección congénita en el 45% de los casos de primoinfección durante el embarazo, siendo sintomáticos el 5-20% de esos neonatos (muerte, secuelas, hepatomegalia, etc.). Del 80% asintomáticos el 15 % presentará secuelas tardías (principalmente auditivas) (1) (Tabla 1).

La primoinfección es asintomática en el 90% de los casos, pasada ésta, el CMV permanece latente en el interior de los leucocitos, característica común a otros herpesvirus, y se puede reactivar posteriormente. Suele decirse para todos los herpesvirus "una vez infectado, siempre infectado". La reactivación es casi siempre asintomática pero se produce viremia. La tasa de excreción vírica cervical oscila entre el 3% y el 18% de las gestantes asintomáticas (2). El individuo infectado puede excretar el virus de manera intermitente a lo largo de toda su vida; en estas fases de excreción se considera la infección activa porque presuponemos la existencia de viremia.

Actualmente son tres los métodos diagnósticos de infección por CMV más empleados: cultivos celulares, pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y serologías. El cultivo celular con fibroblastos ha sido durante años el único método diagnóstico, observándose el típico efecto citopático a los 14-16

Tabla 1

Estimación de la prevalencia de la infección congénita por CMV por cada 100.000 embarazadas y de niños afectados por cada 1000 recién nacidos con infección congénita

Categoría	Estimación
Embarazadas	100.000
Tasa de embarazadas susceptibles (40% sin inmunidad)	40.000
Tasa de primoinfección en embarazadas susceptibles (5%)	2.000
Tasa de infección congénita en primoinfecciones (45%)	900
Tasa de reactivación en embarazadas con inmunidad (5% de las 60% con inmunidad)	3.000
Tasa de infección congénita en reactivaciones (3%)	90
Total embarazadas con infección congénita	Aprox. 1000 (1%)
<hr/>	
Recién nacidos con infección congénita	1.000
Recién nacidos con sintomatología (20%)	200
Manifestación neonatal (5%)	10
Muerte (20%)	2
Secuelas (80%)	8
Neonatos sin sintomatología (80%)	800
Secuelas tardías (15%)	120
TOTAL niños afectados	128
Niños afectados de embarazadas sin inmunidad	115 (2,9/1000 embarazadas sin inmunidad)
Niños afectados de madres con inmunidad	13 (0,2/1000 embarazadas con inmunidad)

días de cultivo, debiendo esperarse hasta 21 días antes de declarar el cultivo negativo. Esta tardanza ha hecho que se extienda el uso de otras técnicas basadas en la detección de antígenos virales en cultivo como "Shell vial assay" ó "DEAFF test".

Actualmente la PCR permite determinar la carga viral en sangre (viremia), orina (viuria) y en otros fluidos biológicos. Es tan sensible que puede detectar niveles de virus que no tienen ninguna consecuencia clínica, no distinguiendo entre virus activo y virus latente, lo que como veremos posteriormente es un inconveniente. Así, en sangre (3, 4) y en semen (5) de seronegativos a CMV se ha detectado CMV mediante PCR. Esta situación intenta paliarse con la PCR cuantitativa o con la PCR inversa, la cual detecta RNA de CMV siendo esto un indicador de actividad. Hasta la fecha todos los trabajos de PCR en semen son directos (detectan DNA).

Las pruebas serológicas determinan anti-CMV IgM e IgG. La detección de IgM anti-CMV es útil para diagnosticar infecciones primarias recientes. La detección de IgG anti-CMV indica que ha existido una infección antigua, pero no confiere protección ante reactivaciones o infecciones con otras cepas de Citomegalovirus (Tabla 2).

Tabla 2
Perfiles serológicos en infección por CMV

IgM	IgG	Estado inmunológico
-	-	Sin contacto
+	-	Primoinfección reciente
-	+	Infección antigua
+	+	Infección reciente

Los estudios que analizan la presencia de CMV en semen en varones estériles o donantes (Tabla 3) con infección antigua presentan resultados contradictorios, principalmente si la técnica utilizada es la PCR, incluso dentro de un mismo estudio diferentes laboratorios presentan resultados discrepantes (6). En un 40% de varones seropositivos se detecta por PCR ADN de CMV en semen (5). La mayoría de los cultivos seminales positivos se encuentran en varones con infecciones activas o recientes. En varones con infección antigua podemos concluir en base a los estudios de cultivos tisulares que un 0-3% excretan virus en el semen de manera intermitente. No consideramos los estudios de detección de CMV en semen por PCR por la comentada controversia de la capacidad de esta técnica para detectar muestras infectivas (7, 8).

Esto ha llevado a posturas contrapuestas a la hora de admitir como donantes de gametos a individuos

con infección antigua por CMV (seropositivos anti-CMV IgG+ IgM-) y a que algunos autores (9) recomienden aplazar la realización de técnicas de reproducción asistida a parejas con algún miembro con infección reciente o activa por CMV (Tabla 4).

La Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (10) recomienda únicamente que los donantes con infección activa (anti-CMV IgM+) a CMV sean excluidos como donantes, y para su diagnóstico deberá realizarse el estudio a los 6 meses de la donación.

En el extremo opuesto encontramos las recomendaciones de la Sociedad Británica de Andrología (11) que recomienda no aceptar como donantes a los varones con infección activa ni con infección antigua.

Entre estas dos posturas radicalmente opuestas encontramos las recomendaciones de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (12) la cual excluye como donantes a las infecciones activas o recientes, permitiendo a los donantes con infección antigua donar semen pero utilizando ese semen sólo para mujeres seropositivas. La legislación española establece en el RD 412/96 la necesidad de realizar un estudio clínico de la infección por CMV a los donantes de semen, no hablando para nada de estudios serológicos ni de emparejamientos de donante-receptora en base al estado serológico.

En este estudio nos proponemos analizar el estado inmunitario de donantes de gametos y parejas estériles frente al citomegalovirus (CMV), con el objeto de determinar el impacto que tendría en nuestro medio la implantación de las recomendaciones de la ESHRE de emparejar donante-receptora en base a su estado inmune frente al CMV.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó, durante el año 2002, en una población de candidatos a donantes de gametos (50 de semen y 50 de ovocitos) con edades comprendidas entre los 18-25 años y en una población de 100 parejas estériles. Los donantes de semen procedían del Centro de Estudio e Investigación de la Fertilidad (CEIFER) y las donantes de ovocitos y parejas estériles del Centro de Reproducción Asistida y Genética Reproductiva y del Centro de Reproducción Humana, de Granada.

Los candidatos a donantes fueron sometidos a un proceso de screening en base a los protocolos de estudio establecidos en el Real Decreto 412/1996: historia médica personal, historia médica familiar y detección de enfermedades infecciosas transmisibles.

El diagnóstico de la infección por Citome-

Tabla 3
Porcentaje de detección de CMV en semen en varones estériles o donantes sanos

Referencia	Población	Serología	Técnica	Detección	Comentario
Erles et al.(2001) (23)	Estériles	No especificada	PCR	3,5%	
Tjiam et al. (1987) (24)	Donantes	No especificada	Cultivo	0,4%	
Mansat et al. (1997) (6)	Donantes	Seropositivos Seronegativos	Cultivo y PCR	4,0% 8,1% 0%	PCR discrepa entre laboratorios
Levy et al. (1997) (9)	Estériles	Seropositivos	Cultivo y PCR	2,9%	Gradientes de densidad (6 capas) elimina virus.
Bantel-Schaal et al. (1993) (25)	Estériles	Seropositivos Seronegativos	Hibridación	0% 0%	Baja sensibilidad (>1 millón copias o >10 células infectadas)
Shen et al. (1994) (17)	Donantes	Seropositivos Seronegativos	PCR	32,7%	Seroprevalencia en Taiwán: 99.5% de la población
Yang et al. (1995) (18)	Estériles	Seropositivos	PCR	33,5%	Seroprevalencia en Taiwán: 99.5% de la población
McGowan et al (1983) (26)	Donantes	No especificado	Cultivo	2%	
Lang et al. (1975) (27)	Donantes	No especificado	Cultivo	3%	
Witz et al. (1999) (5)	Estériles	Seropositivos Seronegativos	PCR PCR	42% 17%	Gradientes de densidad no elimina virus en el 15% de muestras infectadas
Howard et al. (1997) (20)	Donantes	No especificada	PCR	3%	
Behrendt et al. (1998) (28)	Donantes	No especificada	PCR	2,9%	

Seropositivos: anti-CMV IgM- IgG+
Seronegativos: anti-CMV IgM- IgG-
PCR: detección de DNA CMV

galovirus se realizó mediante pruebas serológicas con la finalidad de determinar la presencia de anti-CMV IgM e IgG. Para ello se procedió a extraer una muestra de sangre a los donantes de gametos y a cada miembro de la pareja estéril. Las pruebas serológicas en donantes de semen se realizaron al inicio de las donaciones y transcurridos 6 meses de las mismas. Con relación a las donantes de ovocitos debido a la imposibilidad legal actual de congelarlos se analizó solamente una muestra de sangre. Tras su obtención, las muestras fueron centrifugadas para separar el suero sanguíneo. Las muestras empleadas para el protocolo fueron 100 μ L de este suero no descomplementado.

El procedimiento se basa en la determinación inmunoenzimática de las inmunoglobulinas en suero por técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) empleando el kit comercial de Biomerieux.

Para los análisis correspondientes se empleó el Sistema VIDAS(®) y los kits correspondientes (VIDAS(®) CMV IgG y VIDAS(®) CMV IgM). Estos kits permiten medir cuantitativamente las IgG/IgM anti-CMV en suero humano. Tras la etapa de pipeteo de la muestra los anticuerpos presentes (IgG ó IgM, según corresponda) van a fijarse al antígeno CMV de la pared interna del cono (fase sólida). En las etapas de lavado se eliminan los componentes no fijados. El anticuerpo monoclonal humano (anti-IgG ó anti-IgM, según corresponda) marcado con fosfatasa alcalina es aspirado y expulsado dentro del cono y se va a fijar a las IgG ó IgM anti-CMV humanas fijadas en la pared del cono. En una nueva etapa de lavado se vuelven a eliminar los componentes no fijados. En la etapa final, el sustrato (4-Metil-umbeliferil fosfato) es aspirado y después expulsado en el cono; el enzima del conjugado cataliza la reacción de hidrólisis de este

Tabla 4

Actitud en parejas candidatas a reproducción asistida en función a su estado inmune frente a CMV (modificada de Levy et al., 1997 (9))

Varón	Mujer	Frecuencia	Decisión sobre RA
Inf. Reciente o activa		<1%	Esperar (18-24 meses)
	Inf. Reciente o activa	<1%	Esperar (6-12 meses)
Sin contacto previo	Infección antigua	15-20%	Sí
Sin contacto previo	Sin contacto previo	20-30%	Sí
Infección antigua	Infección antigua	40-50%	Sí
Infección antigua	Sin contacto previo	10-15%	Tres opciones: 1.- Estudiar CMV en semen 2.- Utilizar gradientes densidad de 6 capas 3.- Asumir el riesgo

sustrato en un producto (4-Metil-umbeliferona) cuya fluorescencia emitida es medida a 450 nm. La fluorescencia emitida medida es directamente proporcional a la presencia de inmunoglobulinas anticitomegalovirus en sangre.

Todas las etapas de la reacción están controladas por el sistema, los resultados se analizan automáticamente y las concentraciones de inmunoglobulinas anti-CMV del suero son calculadas por el VIDAS(®) y expresadas en unidades arbitrarias por mililitro (Ua/mL). Considerando resultado positivo un índice: igual o superior a 4 Ua/mL para la IgG e igual o superior a 0,07 Ua/mL para la IgM

Para la comparación del estado inmune frente a CMV entre los distintos grupos analizados (donantes de semen y ovocitos y parejas estériles) se utilizó el test de la χ^2 y en caso de no cumplirse las condiciones de validez para su aplicación se utilizó el test de Fisher.

RESULTADOS

En las 100 parejas estériles se detectó anti-CMV IgG en 126 sueros (64 varones y 62 mujeres) (63%) y sólo se detectó un caso de un varón anti-CMV IgM+ (Tabla 5).

En la población de donantes de ovocitos se detectaron 31 sueros anti-CMV IgG+ (62%) (Tabla 6). También se analizó el estado serológico de 50 donantes de semen frente al citomegalovirus; al inicio de las donaciones y transcurrido un periodo de cuarentena 6 meses (Tabla 7). En la primera analítica se detectaron 29 sueros anti-CMV IgG+ (58%) y no se observó seroconversión de ningún donante en la segunda analítica.

No se observaron diferencias significativas en el

estado inmune frente a CMV entre donantes de semen y ovocitos ($p=0,983$), ni entre varones y mujeres de parejas estériles ($p=0,956$), ni entre donantes de semen y varones de parejas estériles ($p=0,862$), y ni entre donantes de ovocitos y mujeres de parejas estériles ($p=0,969$).

En el 16% de las parejas estériles estudiadas se detectó anticuerpos IgG frente al citomegalovirus en el suero del varón pero no en el suero de la mujer que por lo tanto no había tenido contacto con el virus (Tabla 5).

DISCUSIÓN

La seroprevalencia global de Citomegalovirus observada en este estudio de un 62% se asemeja a la descrita por otros autores en España en poblaciones de edad similar. Así, Cour et al. (1988) (13) describen para mujeres gestantes una seroprevalencia del 52%.

Nuestro resultado, de un 58% de infección por Citomegalovirus en donantes de semen (Tabla 7), coincide con el 52,6% descrito por Mansat et al. (1997) (6). Pero es algo superior al 44% observado por Liesnard (1988) (7) y muy superior al 20% descrito por Prior et al. (1994) (14), estas diferencias se deben posiblemente a las comentadas diferencias regionales de la seroprevalencia del CMV. En las analíticas realizadas a los donantes de semen, al inicio de las donaciones y transcurridos 6 meses de las mismas, no se observó ninguna seroconversión.

Ya hemos comentado la presencia de CMV en semen en varones seropositivos y los riesgos en mujeres seronegativas. Este hecho ha llevado a posturas contrapuestas a la hora de admitir como donantes a los varones seropositivos (IgG+) a CMV. Así la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (10)

Tabla 5
Prevalencia de CMV en la población estudiada de parejas estériles

		VARÓN		
M U J E R		Infección activa IgM+	Infección antigua IgM-/IgG+	No contacto IgM-/IgG-
		Infección activa IgM+	0 parejas	0 parejas
	Infección antigua IgM-/IgG+	1 pareja	48 parejas	13 parejas
	No contacto IgM-/IgG-	0 parejas	16 parejas	22 parejas

Tabla 6
Prevalencia de CMV en la población estudiada de parejas estériles y donantes de ovocitos

	IgM+/IgG-	IgM+/IgG+	IgM-/IgG+	IgM-/IgG-
Varones estériles (n=100)	1	0	64	35
Mujeres estériles (n=100)	0	0	62	38
Donantes de ovocitos (n=50)	0	0	31	19

Tabla 7
Prevalencia de CMV en donantes de semen

Donantes de semen (n=50)	IgM+/IgG-	IgM+/IgG+	IgM-/IgG+	IgM-/IgG-
1ª Analítica	0	0	29	21
2ª Analítica	0	0	29	21

recomienda únicamente que los donantes con infección activa a CMV sean excluidos como donantes. Sin embargo la Sociedad Británica de Andrología (11), recomienda no aceptar como donantes a los varones seropositivos a CMV, es decir ni con infección activa ni con infección antigua. Las recomendaciones de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (12) excluye a los donantes con infección activa o reciente y permite a los donantes con infección antigua donar semen, pero utilizando ese semen sólo para mujeres seropositivas. Esta última postura parece la más lógica (15) ya que la mayoría de las enfermedades congénitas por CMV en mujeres seropositivas se debe a una reactivación y no a una reinfección (16). Y por otra parte el rechazar a los donantes seropositivos supondría en España, en base a nuestros resultados, rechazar a más del 50% de los donantes, y como anécdota en Taiwán, donde la seroprevalencia de CMV es de casi el 100% no podría existir la donación de semen (17, 18).

Todo lo anterior pone en evidencia la legislación española donde en el decreto que regula la donación de semen (RD 412/96) sólo se establece la necesidad de realizar un estudio clínico de la infección por CMV, no hablando para nada de estudios serológicos ni de emparejamiento de donante-receptora en base al estado serológico. El seguir las recomendaciones de dicho decreto hará que por cada 1000 gestaciones obtenidas con semen de donante nazcan 1,28 niños afectados (Tabla 1). Probabilidad que se reduciría unas 6,5 veces (0,2 recién nacidos afectados/1000 embarazadas) si se emparejaran donante-receptor en base a sus serologías. Recordemos que en España se producen unas 1000 gestaciones al año de semen de donante (19) y que actuaciones preventivas en obstetricia mucho más costosas se realizan en enfermedades con esa incidencia (ej: prevención de defectos del tubo neural con ácido fólico).

La seroprevalencia de CMV observada en nuestra población de donantes de ovocitos es del 62% (Tabla 6). El único estudio que ha analizado la presencia de CMV en ovocitos y embriones humanos procedentes de mujeres con infección antigua por CMV ha sido incapaz de detectarlo utilizando PCR, por lo que podemos concluir que independientemente del estado serológico de la donante de ovocitos no existe riesgo de transmisión de CMV en la donación de ovocitos y embriones (5).

Cuando se estudió la población de 100 parejas estériles se detectó la presencia de anti-CMV IgG en el suero del varón y no en el de la mujer en el 16% de éstas (Tabla 5) coincidiendo con lo descrito por Levy et al. (1997) (9) que establece un 13,5% de parejas estériles de este tipo. El riesgo de transmisión es más alto en estas parejas. Sólo un varón de los 200 individuos analizados presentó infección activa (IgM+), tratándose de un varón de pareja estéril cuya mujer presentó un estado de infección pasada. De estudios realizados en varones con VIH sabemos que aquellos varones con infección reciente o activa por CMV excretan en un alto porcentaje el virus en el semen (20, 21). Por lo que parece lógico que a la hora de abordar a este tipo de parejas se debe determinar si la infección es activa o reciente y en caso de serlo posponer el someterse a reproducción asistida hasta que cambie su status inmunitario frente al CMV (la infección se haga antigua y disminuya considerablemente la posibilidad de aparecer CMV en semen).

En esta situación existen varias posibilidades. Primera, analizar la presencia del virus en semen en estas parejas y si está ausente utilizar la muestra. Segunda, realizar la selección de espermatozoides utilizando técnicas (gradientes de densidad de 6 capas) que garanticen la no presencia de leucocitos en la muestra preparada, ya que son estas células los principales portadores del virus (9). Y por último no hacer nada, asumiendo que hemos reducido el riesgo de infección congénita a menos de 2,9 niños afectados/1000 embarazadas (Tabla 1), pues hemos descartado una infección activa o reciente en el varón.

También hemos observado que un 13% de las parejas estériles el varón es seronegativo y la mujer es seropositiva a CMV (Tabla 5), que coincide con el estudio de Levy et al (1997) (9) que describe un 17,2%. El principal problema en la transmisión vertical del CMV ocurre cuando una mujer seronegativa contrae la enfermedad estando embarazada, si esto ocurre en mujeres seropositivas (se da en el 5% de seropositivas) la transmisión vertical ocurre en menos del 3% con consecuencias más leves para el feto. Así toda mujer seropositiva a CMV IgG antigua podrá someterse a Reproducción Asistida sin apenas riesgos.

Cuando los dos miembros de la pareja son seropositivos anti-CMV IgG existe, aunque remota la posibilidad de reinfección con una cepa diferente a la de la madre (7). Lo que supone el 48% de las parejas estériles estudiadas (Tabla 5). Para hacernos idea de lo escaso de este riesgo baste comentar que en trasplante de órganos suele emparejarse donante y receptor seropositivo a CMV. Huang et al., (1980) (16) estudiaron 7 mujeres seropositivas con enfermedad congéni-

ta comprobando que en 6 de ellas la cepa causante era la misma que de la madre y sólo en una era diferente. Por lo que lo más frecuente en la enfermedad congénita en seropositivas es la reactivación, pudiendo aconsejar a estas pacientes la realización de la técnica de reproducción asistida. Cuando se ha analizado parejas estables en que los dos miembros son seropositivos se ha comprobado que la cepa CMV suele ser la misma en ambos miembros (22, 18). Así, se puede afirmar que la cepa transmitida al feto en estas parejas es la de la madre que es al mismo tiempo la del padre, siendo por tanto similar el riesgo de infección congénita por CMV mediante reproducción asistida que en relaciones naturales.

En resumen, creemos que se debe incluir el estudio serológico de la infección por CMV en los pacientes que van a someterse a RA, así como, en los donantes de gametos, con el objeto de seguir las recomendaciones de la ESHRE sobre emparejamientos donante de semen-receptora en base a su estado inmune frente al CMV.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Farran I, Sánchez MA:** Grupo herpesvirus y su efecto perinatal. En: Infecciones de transmisión vertical durante el embarazo. Cabero LI (ed). Barcelona: Ediciones Mayo, 1998, pp 47- 66.
2. **Sweet RL, Gibbs RS.:** Perinatal infections. En: Infectious diseases of the female genital tract. Baltimore: Williams & Wilkins, 1990, pp 290-319.
3. **Taylor-Wiedeman J, Sissons JG, Borysiewicz LK, Sinclair JH.:** Monocytes are a major site of persistence of human cytomegalovirus in peripheral blood mononuclear cells. *J Gen Virol* 1991; 72:2059-64.
4. **Bruggeman CA.:** Cytomegalovirus and latency: an overview. *Virchows Arch B Cell Pathol* 1993; 64: 325-333.
5. **Witz A, Duan Y, Burns W, Atherton S, Schenken R.:** Is there a risk of cytomegalovirus transmission during in vitro fertilization with donated oocytes?. *Fertil Steril* 1999; 71:302-307.
6. **Mansat A, Mengelle C, Chalet M, Boumzebra A, Miousset R et al.:** Cytomegalovirus detection in cryopreserved semen samples collected for therapeutic donor insemination. *Hum Reprod* 1997; 12: 1663-1666.
7. **Liesnard CA, Revelard P, Englert Y.:** Is matching between women and donors feasible to avoid cytomegalovirus infection in artificial insemination with donor semen?. *Hum Reprod* 1998; 13 supplement 2:25-31.
8. **Le Lannou D, Thépot F, Jouannet P.:** Multicentre approaches to donor insemination in the French CE-COS Federation: Nationwide evaluation, donor mat-

- ching, screening for genetic diseases and consanguinity. *Hum Reprod* 1998; 13 supplement 2:35-54.
9. **Levy R, Najjoulah F, Keppi B et al.:** Detection of cytomegalovirus in semen from a population of men seeking infertility evaluation. *Fertil Steril.* 1997; 68: 820-825.
 10. **American Society of Reproductive Medicine.:** 2002 Guidelines for gamete and embryo donation. *Fertil Steril* 2002; 77 suppl 5.
 11. **British Andrology Society.:** British Andrology Society guidelines for the screening of semen donors for donor insemination (1999). *Hum Reprod* 1999; 14:1823-1826.
 12. **Barratt C, Englert Y, Gottlieb C, Jouannet P.:** Gamete donation guidelines. The Corsendonk consensus document for the European Union. *Hum Reprod* 1998; 13 supplement 2:7-9.
 13. **Cour MI, López o, Ortega P et al.:** Citomegalovirus: un estudio en 4977 gestantes y no gestantes. *Med Clin (Barc)* 1988; 90: 225-228.
 14. **Prior JR, Morroll DR, Birks AG, Matson PL, Lieberman BA.:** The screening for cytomegalovirus antibody in semen donors and recipients within a donor insemination programme. *Hum Reprod* 1994; 9; 2076-2078.
 15. **Liesnard C, Strebelle E and Englert Y.:** Screening standards in assisted reproductive technologies. : Is the British Andrology Society recommendation to recruit cytomegalovirus negative semen donors only a reasonable one? 2001; 16: 1789-1791.
 16. **Huang E-S, Alfford CA, Reynolds DW et al.:** Molecular epidemiology of cytomegalovirus infections in women and their infants. *N Engl J Med* 1980; 303: 958-962.
 17. **Shen CY, Chang SF, Yang SL et al.:** cytomegalovirus es present in semen from a population of men seeking fertility evaluacion. *J Infect Dis* 1994; 169; 222-223.
 18. **Yang Y, Ho H, Chen H et al.:** Cytomegalovirus infection and viral shedding in the genital tract of infertile couples. *J Med Virol* 1995; 45: 179-182.
 19. **Ballescá JL, Matorras R, Viscasillas P et al.:** Registro de inseminaciones (IAC-IAD). Sociedad española de fertilidad. Año 1999. *Rev Iber Fert* 2002; 19:41-47.
 20. **Howard MR, Whitby D, Bahadur G et al.:** Detection of human herpesvirus 8 DNA in semen from HIV-infected individuals but not healthy semen donors. *AIDS* 1997; 11:15-19.
 21. **Diamond C, Speck C, Huang ML, Corey L, Coombs RW et al.:** Comparison of assays to detect cytomegalovirus shedding in the semen of HIV-infected men. *J Virol Methods* 2000; 90: 185-191.
 22. **Handsfield HH, Chandler SH, Caine VA et al.:** Cytomegalovirus infection in sex partners: evidence for sexual transmission. *J Infect Dis* 1985; 151: 334-348.
 23. **Erles K, Rohde V, Thaele M, Roth S, Edler L et al.:** DNA of adeno-associated virus (AAV) in testicular tissue and in abnormal semen samples. *Hum Reprod* 2001; 16: 2333-2337.
 24. **Tjiam KH, van Heijst BY, Polak-Vogelzang AA.:** Sexually communicable micro-organism in human semen samples to be used for artificial insemination by donor. *Genitour Med* 1987; 63:116-118.
 25. **Bantel-Schaal U, Neumann-Haefelin D, Schleferstein G.:** Cytomegalovirus is absent from semen of a population of men seeking fertility evaluation. *J Infect Dis* 1993; 168: 518-519.
 26. **McGrowan MP, Hayes K, Kovacs GT, Leydon JA.:** Prevalence of cytomegalovirus and herpes simplex virus in human semen. *Int J Androl* 1983; 6:331-336.
 27. **Lang DL, Kummer JF.:** Cytomegalovirus in semen: observations in selected populations. *J Infect Dis* 1975; 132:472-473.
 28. **Behrendt M, Kaminska J, Cymerus Z, Kawasniewska A, Zimna K et al.:** Frequency of human papillomavirus-herpes simples-cytomegalovirus and Chlamydia trachomatis infection in genital tracts of sexual partners. *Ginekol Pol*, 1998; 69: 389-393.