

INFECTION VIH ET ASSISTANCE MEDICALE A LA PROCREATION (AMP) EN 2013

XXIIIème Congrès de la Société
Tunisienne de Pathologie Infectieuse
Tunis, 19 avril 2013

HISTORIQUE

■ Fin années 80

- 1^{ères} demandes de couples avec homme VIH+: insémination ou fécondation in vitro avec des spermatozoïdes « lavés »
- Inconnues:
 - modalités de la présence du VIH dans le sperme et l'appareil génital.
 - VIH et spermatozoïdes?
 - Sécurité des techniques de préparation du sperme
- Insémination avec Sperme de Donneur (IAD)

■ Années 90

- Réticences des équipes médicales
- Italie: Semprini: Inséminations intra-utérines avec des spermatozoïdes préparés.
- Etudes: présence du VIH dans le sperme, techniques de détection et de quantification du VIH dans le sperme et les spermatozoïdes.
- Trithérapies
- AMP pour couples séro-différents avec homme infecté: protocoles de recherche ANRS (Paris , Toulouse).

■ Années 2000

- Mai 2001: AMP pour les couples à risque viral intégrée à offre de soins dans certains centres.
- Extension de l'AMP aux couples avec femme VIH+ , séro-différents ou concordants.

L'AMP pour les couples vivant avec le VIH

2 objectifs:

- Permettre la procréation intra-conjugale sans risquer la transmission du VIH.
- Pallier une infertilité.

Problèmes spécifiques

■ Sécurité

Présence du virus dans le sang et les sécrétions génitales

→ **risque de contamination:**

- Partenaire non infecté
- Enfant
- Locaux et matériels
- Gamètes et embryons d'autres couples
- Personnel

→ **Procédures techniques spécifiques, circuit distinct.**

■ **Evolutivité** de l'infection VIH, des co-infections, aspects psychologiques

→ **Prise en charge multidisciplinaire**

L'AMP pour les couples vivant avec le VIH

3 situations différentes

Homme infecté

Femme infectée

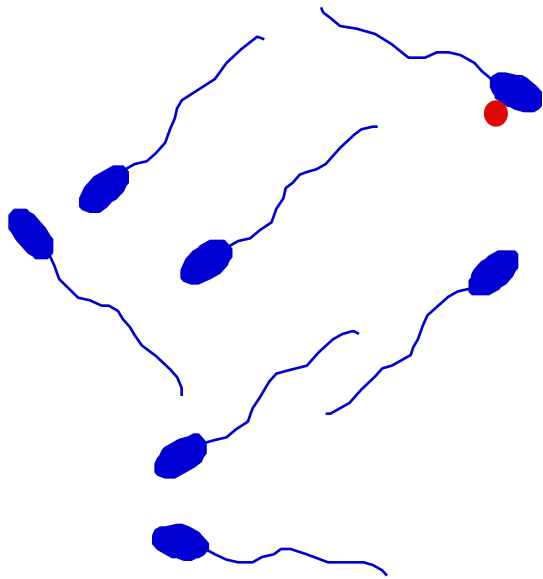
Femme et homme infectés

Homme VIH+ / Femme VIH-

Sperme :

- Liquide séminal: particules virales (ARN VIH)
- Cellules non spermatiques, dont leucocytes: infectés (ADN VIH)
- Concentration variable, parfois supérieure à celle du sang
- Spermatozoïdes: VIH associé ?

Le VIH dans le sperme

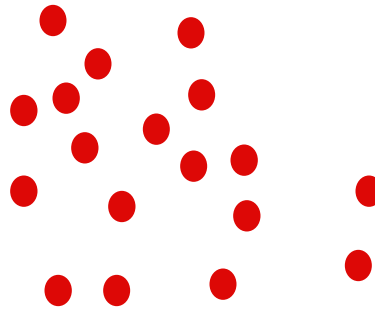


SPERMATOZOÏDES

Quantification ARN-VIH
(2×10^6 spermatozoïdes)
seuil 5copies/M

Quantification ADN-VIH
(2×10^6 spermatozoïdes)
seuil 5copies/M

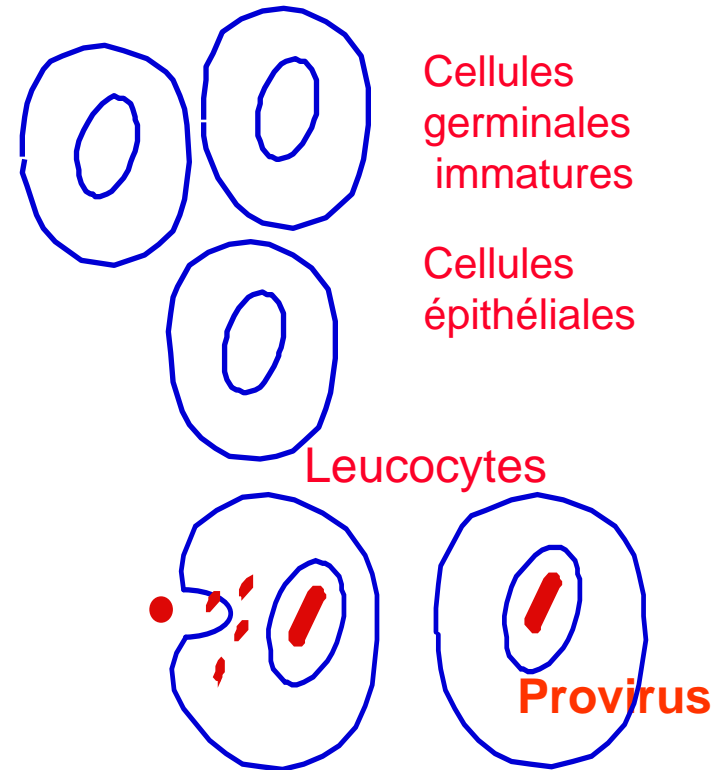
Particules virales libres



PLASMA SEMINAL

Quantification ARN-VIH
250 μ l
Seuil: 20 à 400 copies/ml

 *inhibiteurs de PCR !*



CELLULES "RONDES"

ADN Proviral : PCR ADN
 2×10^6 cellules rondes
seuil: 5 copies/M

L'ARN VIH dans le liquide séminal

□ En l'absence de traitement antirétroviral efficace:

- L'ARN VIH est détecté dans le liquide séminal de plus de 90% des patients.
- La charge virale dans le liquide séminal :
 - est généralement corrélée à la charge virale dans le sang
 - varie de 10 à plus de 10^6 copies/ml.
 - est variable d'un éjaculat à l'autre
 - est augmentée en cas d'infection uro-génitale associée
 - peut être supérieure à la charge virale dans le sang

□ Chez les patients sous traitement antirétroviral avec charge virale plasmatique indétectable depuis plusieurs mois:

- L'ARN VIH est le plus souvent indétectable dans le liquide séminal
- Mais reste détectable chez certains:
 - Infections génitales associées? Autres facteurs pro-inflammatoires locaux?

Baccetti et al. *HIV in Spermatozoa* J. Cell. Biol. 1994

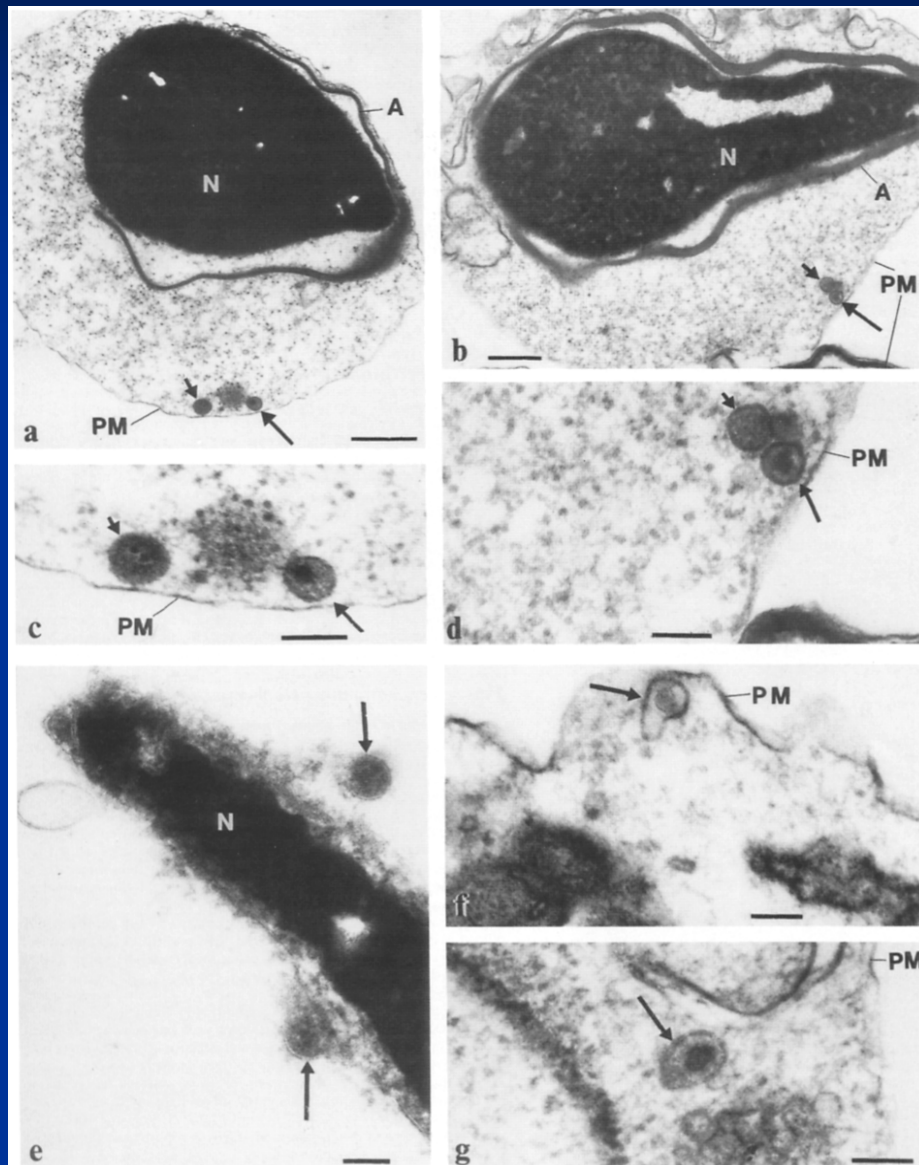


Figure 1. Transmission electron micrographs of HIV-like particles (arrows) in the cytoplasm of spermatozoa from HIV infected patients.

(a-e) Cytoplasm surrounding the sperm nucleus. The particles pointed to by long arrows are surrounded by a membrane-like coat and show the typical electron-dense nucleoid. The particles pointed to by short arrows are full of granular material and devoid of nucleoid.

c and d are enlargements of a and b, respectively. In e, some virus particles devoid of nucleoids seem to bud out the perinuclear region (arrows).

f and g Some viral particles with elliptic or pyriform coat with eccentric nucleoid (arrows) are present in the midpiece sperm region.

A, acrosome; N, nucleus; PM, plasma membrane. Bars, 0.50 μm in a, 0.30 μm in b, 0.15 μm in c, and 0.10 μm in d-g.

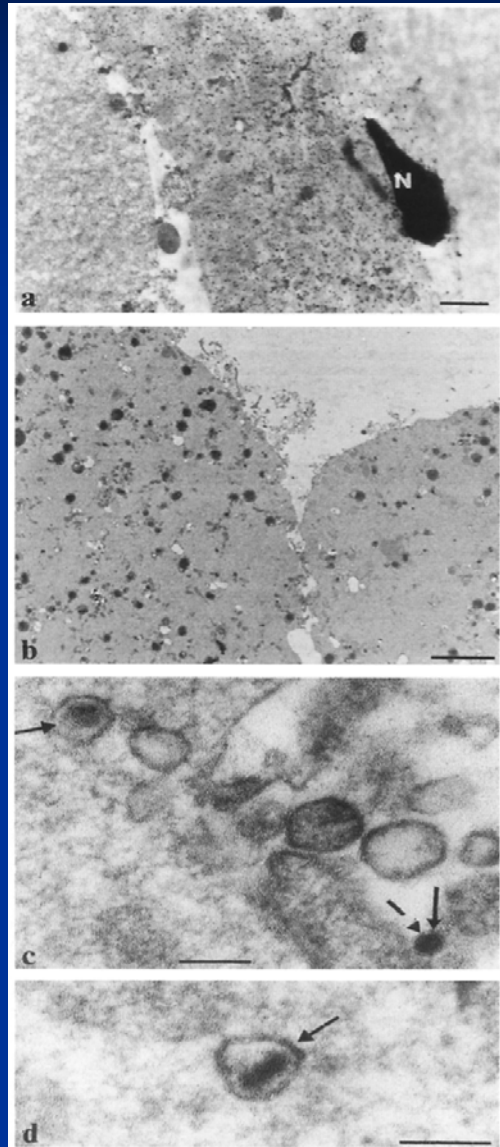


Figure 9. Sections of an oocyte fertilized in vitro with spermatozoa of an HIV-I-infected patient.

(a) A sperm head with reacted acrosome is visible in the zona pellucida.

(b) Section of two blastomeres of an eight-blastomere human preembryo after in vitro fertilization with spermatozoa of an HIV-I-infected patient.

(c and d) HIV-1 particles (*arrows*) in the cytoplasm of the same blastomeres of (b). The electrondense nucleoid and the membrane-like coat are clearly visible. At the bottom of d, a particle devoid of membrane envelope is indicated (*double arrows*).

N, sperm nucleus. Bars, 1 μm in a, 3 μm in b, and 0.10 μm in c and d.

Préparation des spermatozoïdes

Dépôt du sperme sur le gradient



Centrifuger 20 minutes à 300g



Liquide
séminal

Leucocytes et
autres cellules

Spermatozoïdes

Spermatozoïdes sélectionnés et lavés



Critères de validation virologique des spermatozoïdes en vue d'AMP

ARN VIH plasma séminal (Copies / ml)	ARN VIH spermatozoïdes ($\geq 500\ 000$)	AMP
DéTECTABLE < 100 000	IndéTECTABLE	Toute technique IU, ICSI, FIV
IndéTECTABLE	Non obligatoire	Toute technique IU, ICSI, FIV
DéTECTABLE > 100 000	Non testé	<u>Paillette non utilisable</u> <u>en AMP</u>

Sécurité de l'AMP homme VIH+

- Elimination du liquide séminal et des leucocytes
 - Lavages des spermatozoïdes.
 - Validation virologique: recherche quantifiée du VIH dans le liquide séminal \pm un échantillon des spermatozoïdes lavés.
 - Circuit spécifique AMP à risque viral
 - Vérification de l'absence de contamination de la femme
- *Pas de transmission à la femme, ni à l'enfant*
- *Pas de transmission à d'autres couples*

Homme VIH+ / Femme VIH-

- Motif prédominant de recours à l'AMP:
Eviter la transmission du virus à la femme
- Moins fréquemment (jusqu'à quand?):
Infertilité

Femme VIH+ / Homme VIH-

- Sécrétions génitales:
 - Particules virales (ARN VIH)
 - Leucocytes infectés (ADN VIH)
- Insémination: pas de problème particulier, auto-insémination possible.
- Fécondation in vitro (FIV): contamination sanguine des liquides folliculaires lors des ponctions → ARN VIH parfois détectable (si détectable dans le sang)
- Risque de transmission mère-enfant

Ovocytes et spermatozoïdes



VIH et ovocyte?

- Présence du VIH dans les follicules ou les ovocytes: aucune notion
- FIV: risque d'entrée de particules virales apportées par contamination sanguine , chez une femme non traitée? Rôle des spermatozoïdes ?
- ICSI: risque majoré ?
- Possibilité d'intégration du VIH dans l'ovocyte et de propagation chez l'embryon ??

Sécurité de l'AMP femme VIH+

- Absence de contact sexuel → pas de risque pour l'homme
- FIV: lavages des ovocytes → ARN VIH indétectable dans les milieux de culture
- Circuit spécifique AMP à risque viral

(Pas de tests virologiques)

→ *Pas de transmission à l'homme ni à d'autres couples*

→ *Risque inchangé de transmission à l'enfant*

Femme VIH+ / homme VIH-

- Motif prédominant de recours à l'AMP: **Infertilité**

Echec de procréation naturelle ou par auto-inséminations

- Pathologies génitales associées plus fréquentes
- Age, altération de la réserve ovarienne

- Moins fréquemment:

Eviter la transmission du virus à l'homme

Femme et homme VIH+

- Mêmes risques pour le laboratoire, donc mêmes précautions techniques
- Même risque de transmission mère-enfant
- Motif essentiel de recours à l'AMP: **Infertilité**
 - Echec de procréation naturelle
 - Pathologies génitales associées plus fréquentes
 - Age, altération de la réserve ovarienne

- Rarement:

Eviter les surcontaminations réciproques

VHC et VHB

- Présents dans le liquide séminal (particules virales)
- Spermatozoïdes:
 - VHC: non
 - VHB: évoqué mais très peu étudié; problème re-posé récemment, à suivre.
- Présents par contamination sanguine dans les fluides de ponction
- Ovocytes: ?
- Pas de tests virologiques en AMP pour ces virus

Conditions de prise en charge en France

■ Conditions générales de l'AMP

- Couple hétérosexuel
- Vie commune depuis 2 ans ou mariage, projet parental.
- Couverture sociale
- Age femme: <43 ans; âge homme: ≤ 60 ans.
- Pas de maladie évolutive grave.

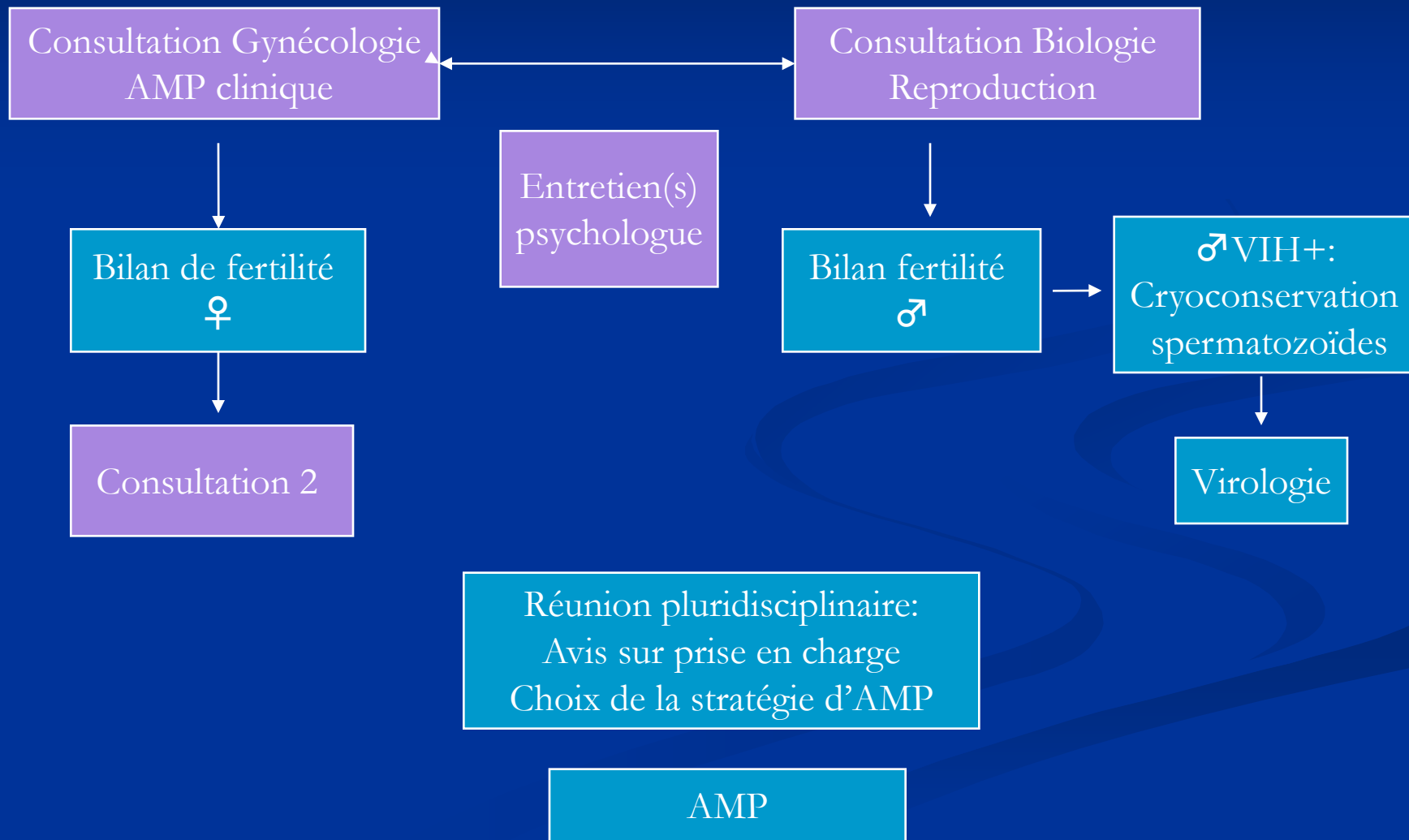
■ Conditions liées au VIH

- Suivi régulier.
- Charge virale sanguine sur 6 derniers mois au moins: indétectable sous traitement, stable en l'absence de traitement.
- CD4 > 200 sur > 6 derniers mois
- Pas de complication évolutive.
- Charge virale séminale < 10^5 copies/ml

■ Co-infections VHC, VHB: Avis de l'hépatologue (pas de complication évolutive grave).

- **Contre-indication:** traitement par Ribavirine en cours ou terminé depuis moins de 6 mois. Autoconservation du sperme préalable possible.

PARCOURS



Techniques d'AMP

- **IIU (ou conseil pour auto-inséminations)**
 - Perméabilité tubaire
 - Paramètres spermatiques permettant d'obtenir au moins 10^6 spermatozoïdes progressifs après sélection et/ou décongélation
- **Fécondation in vitro (FIV) +/- micro-injection (ICSI: Intra-Cytoplasmic Sperm Injection)**
 - Altérations tubaires
 - Paramètres spermatiques altérés
 - Échec inséminations
 - Age féminin

Le choix ne dépend que des bilans de fertilité de la femme et de

l'homme

IIU Homme VIH+ / Femme VIH- (sperme congelé)

Cochin St Vincent de Paul

	2007	2008	2009	2010	2011
Couples	66	48	49	45	31
Tentatives	158	94	129	103	69
Ages ♀	34.3±5.5 (23.3;43.8)	33.9 ± 5.1 (25.3;42.0)	35.7 ± 4.7 (25.4;43.2)	32.6 ± 3.7 (25.9;41.9)	34.5 ± 5.0
Grossesses	31	22	19	15	15
Taux Grossesses	19.6	23.4	14.7	13.6	21.7
Grossesses / Couple	47.0	45.8	38.8	33.3	48.3
Accouchements	24	18	17	11	13
Acc / Couple	36.4	37.5	34.7	24.4	41.9
Nb Cycle / 1 Gros.	5.1	4.3	6.8	6.9	4.6

ICSI Homme VIH+ / Femme VIH-

Cochin St Vincent de Paul

	2008	2009	2010
Couples (n)	34	37	40
Ponctions (n)	45	39	51
Transferts (n)	38	34	45
Grossesses cliniques (n)	6	10	14
Gr. / Po (%)	13.3	25.6	27.5
Gr. / Tr (%)	15.8	29.4	31.1
Ovocytes	396	391	467
Ovocytes / Ponction	8.8	10.0	9.2
Métaphase 2	322 (81.3%)	321 (82.1%)	369 (79.0%)
Zygotes	200 (62.1%)	184 (57.3%)	225 (61.0%)
Embryons	193 (59.9%)	174 (54.2%)	229 (62.1%)
Top	56 (29.0%)	45 (25.9%)	56 (24.5%)
Transférés	70 (1.8)	65 (1.9)	84 (1.9)
Congelés	62 (32.1%)	53 (30.5%)	53 (23.1%)
Top transférés	33 (47.1%)	32 (49.2%)	35 (41.7%)

Hors CS, DO et don de sperme

FIV couples femme VIH+ / homme VIH –

Cochin St Vincent de Paul

	2008	2009	2010
Couples (n)	13	13	8
Ponctions (n)	13	16	8
Transferts (n)	12	15	8
Grossesses cliniques (n)	2	5	3
Gr. / Po (%)	15.4	31.2	37.5
Gr. / Tr (%)	16.7	33.3	37.5
Ovocytes	102	176	84
Ovocytes / Ponction	7.8	11.0	10.5
Métaphase 2	80 (78.4%)	161 (91.5%)	75 (89.3%)
Zygotes	59 (73.8%)	126 (78.3%)	64 (85.3%)
Embryons	54 (67.5%)	124 (77.0%)	62 (82.7%)
Top	10 (18.5%)	38 (30.6%)	16 (25.8%)
Transférés	18 (1.5)	26 (1.7)	13 (1.6)
Congelés	16 (29.6%)	52 (41.9%)	18 (29.0%)
Top transférés	8 (44.4%)	13 (50.0%)	7 (53.8%)

Hors CS, DO et don de sperme

ICSI couples femme VIH+ / homme VIH –

Cochin St Vincent de Paul

	2008	2009	2010
Couples (n)	12	9	6
Ponctions (n)	12	10	6
Transferts (n)	11	9	4
Grossesses cliniques (n)	2	4	3
Gr. / Po (%)	16.7	40.0	50.0
Gr. / Tr (%)	18.2	44.4	75.0
Ovocytes	97	87	36
Ovocytes / Ponction	8.1	8.7	6.0
Métaphase 2	75 (77.3%)	70 (80.5%)	32 (88.9%)
Zygotes	57 (76.0%)	46 (65.7%)	19 (59.4%)
Embryons	52 (69.3%)	45 (64.3%)	18 (56.3%)
Top	9 (17.3%)	17 (37.8%)	5 (27.8%)
Transférés	17 (1.5)	13 (1.4)	7 (1.8)
Congelés	16 (30.8%)	15 (33.3%)	7 (38.9%)
Top transférés	7 (41.2%)	9 (69.2%)	4 (57.1%)

Hors CS, DO et don de sperme

ICSI couples femme et homme VIH+

Cochin St Vincent de Paul

	2008	2009	2010
Couples (n)	14	8	10
Ponctions (n)	17	10	11
Transferts (n)	13	9	11
Grossesses cliniques (n)	4	2	2
Gr. / Po (%)	23.5	20.0	18.2
Gr. / Tr (%)	30.8	22,2	18.2
Ovocytes	126	83	94
Ovocytes / Ponction	7.4	8.3	8.5
Métaphase 2	101 (81.2%)	64 (77.1%)	76 (80.9%)
Zygotes	59 (58.4%)	34 (53.1%)	47 (61.8%)
Embryons	62 (61.4%)	33 (51.6%)	52 (68.4%)
Top	25 (40.3%)	17 (51.5%)	16 (30.8%)
Transférés	23 (1.8)	17 (1.9)	17 (1.5)
Congelés	21 (33.9%)	8 (24.2%)	11 (21.2%)
Top transférés	14 (60.9%)	10 (58.8%)	8 (47.1%)

Hors CS, DO et don de sperme

Résultats IIU Homme VIH+ / Femme VIH- 2002-2010

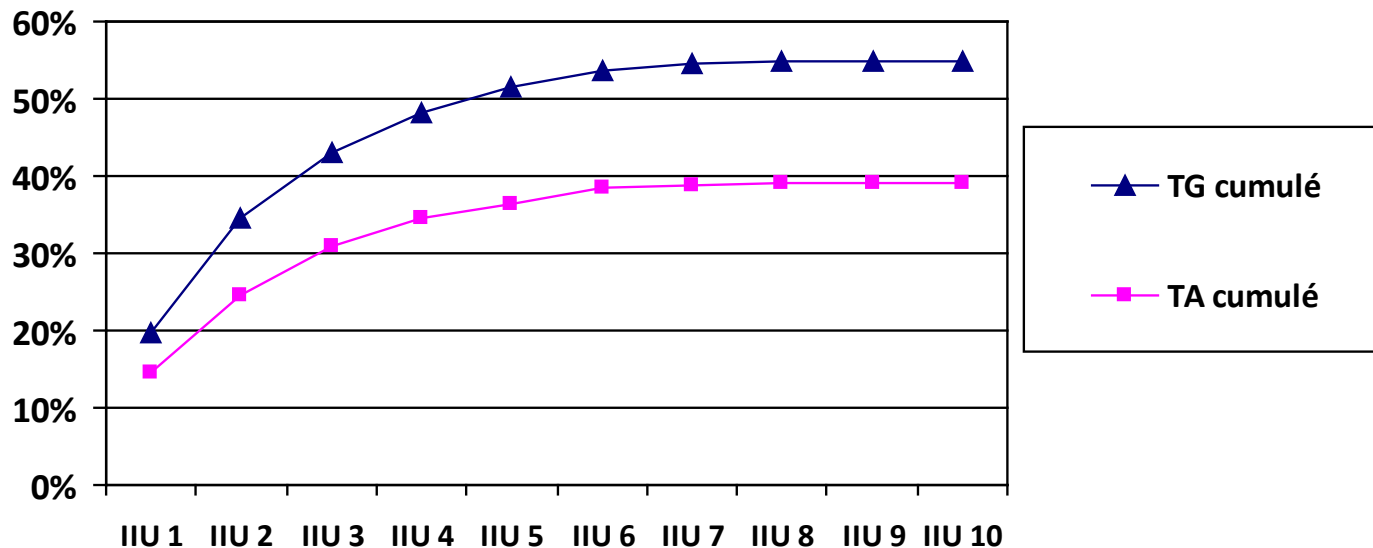
Cochin-St Vincent de Paul-Necker

304 couples 1^{ère} série d'IIU

- **Grossesse / cycle : 16.6%**
 - Cycles 1 et 2: 19.6%; cycles 3 et 4: 15%; cycles 5-7: 10.5%
- **Grossesse / couple: 54.9 %**
 - A 3 cycles: 43.1 %; à 6 cycles: 56.6 %; à 9 cycles: 54.9
- **FCS: 19.2 %**
- **Accouchement / couple: 40.3%**
 - A 3 cycles: 30.9 %; à 6 cycles: 38.4 %; à 9 cycles: 40.3 %
- **185 couples sans enfant conçu par IU: 68 ont entrepris des ICSI**
- **Aucune contamination**

Résultats des IIU

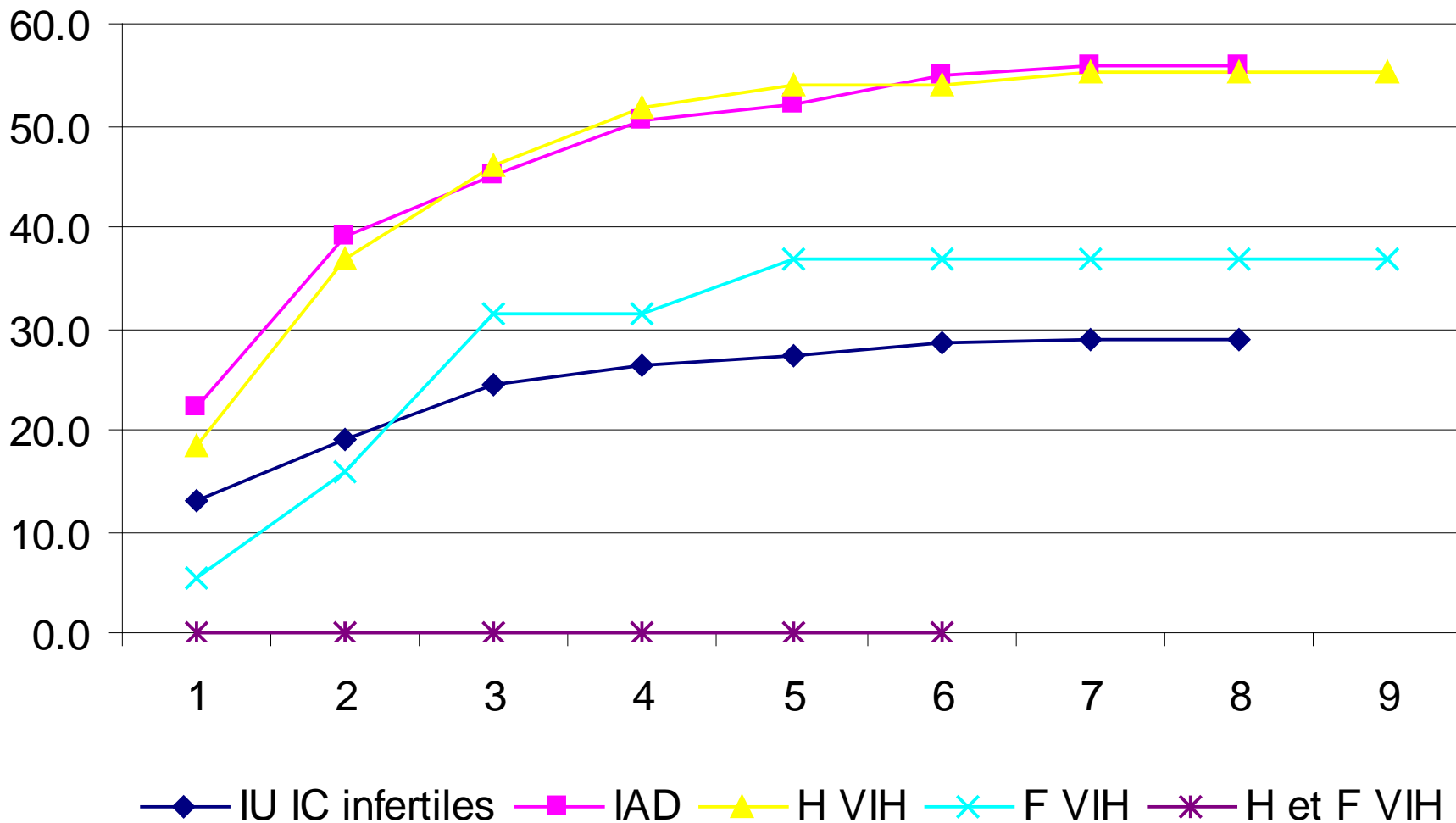
Taux cumulés de grossesse et d'accouchement



Aucun cas de transmission du VIH

Cycles d'insémination débutés à partir du 01-01-2006

Taux Cumulatifs de Grossesses en fonction du rang du cycle

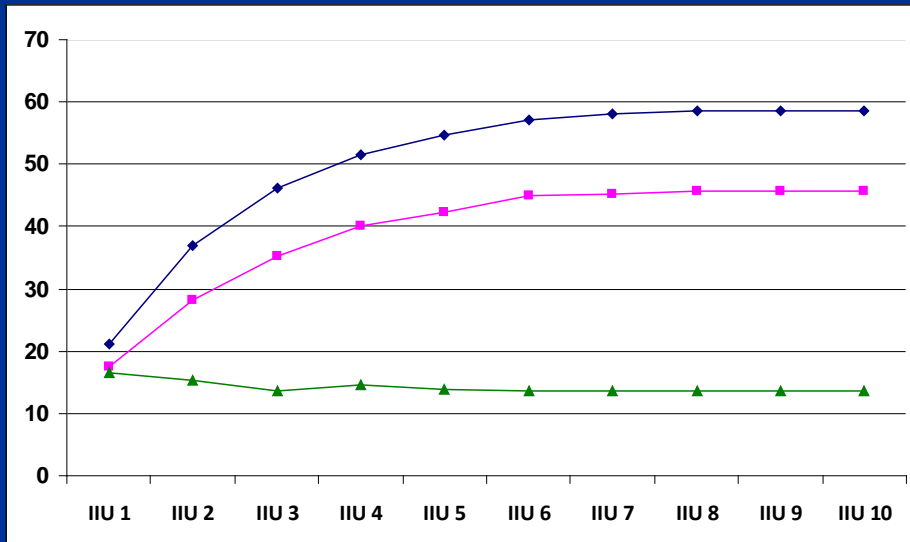


Age féminin et issue des IIU

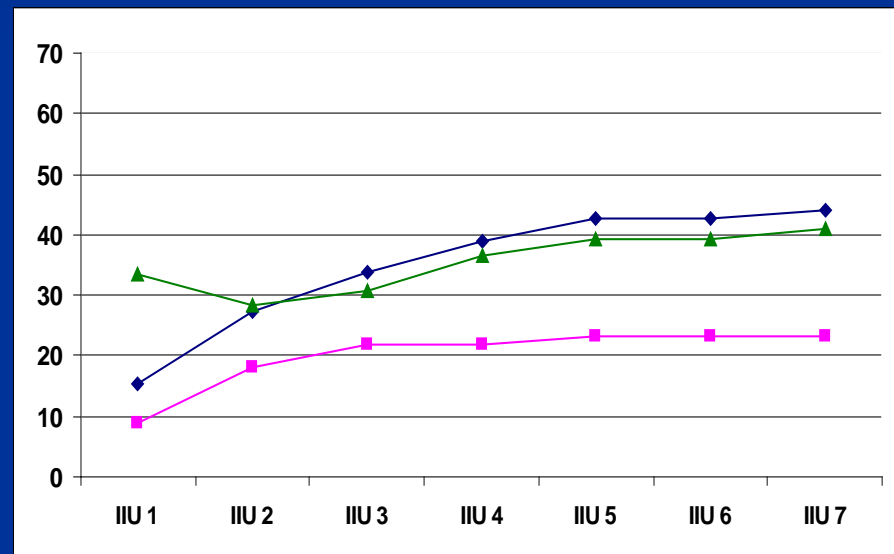
	< 38 ans (n=227)	≥ 38 ans (n=77)	p
Cycles	769	236	--
Nombre moyen cycles (M±ET)	3,4 ± 2,2	3 ± 1,7	0,2
TG/cycle; N(%)	133 (17,3)	34 (14,4)	0,02
TG cumulé (%)	58,5	44,1	0,02
TA/cycle; N(%)	101 (13,1)	18 (7,6)	0,0001
TA cumulé (%)	45,8	23,3	0,001
FCS; N(%)	18 (13,5)	14 (41,1)	0,001

Age féminin et issue des IIU

< 38 ans



≥ 38 ans



- TG cumulé
- TA cumulé
- FCS

Paramètres masculins et issue des IIU

En cours d'analyse:

Paramètres liés à l'infection VIH: durée de séropositivité, CD4, charge virale...

Co-infection VHB VHC

Traitements antirétroviraux

Paramètres spermatiques

Résultats autres équipes

Comparaisons détaillées difficiles (différences de pratiques et de présentation des résultats)

Insémination IU:

- Grossesse / cycle : ~16% (13% à 20%)
- Grossesse / couple: ~50% (40% à 78%)
- FCS: ~17% (9.5% à 26%)
- Accouchement / couple: ~40% (27% à 56%)
- Aucune contamination
- Nombreuses inconnues:
 - % IU pour 1^{er} enfant et pour suivants
 - Cycles stimulés ou naturels
 - Spermatozoïdes cryoconservés ou non
 - ...

CONCLUSION

- AMP: haute sécurité vis-à-vis des risques de transmission.
- Parcours des couples proche de celui des couples infertiles
- Difficultés: rarement le VIH
 - plus souvent: **âge féminin**, hépatites, contexte psychologique et social (précarité).
- Chez les couples avec facteurs d'infertilité (incluant âge féminin): résultats similaires à ceux des couples sans VIH, mais à préciser.
- Chez les couples présumés fertiles: résultats d'insémination en deçà de ceux escomptés .
 - Causes?
 - Facteurs d'infertilité associés à l'infection VIH, au mode de vie etc..?
 - Evolution de la population couples homme VIH: plus d'échecs de conception naturelle?
 - Techniques: congélation des spermatozoïdes?
 - Perdus de vue, grossesses naturelles?

Perspectives

- **AMP ou procréation naturelle?**
 - Couples homme et femme VIH+: infertilité donc AMP
 - Couples sérodifférents:
 - Définir les conditions pour procréation naturelle sûre
 - Bilan de fertilité
 - Absence de facteur augmentant le risque de contamination
 - Accompagnement, suivi, durée
 - Traitement du partenaire non infecté ?
 - Si partenaire VIH+ non traité: débiter un traitement ?

Equipe multidisciplinaire Cochin Necker

- Gynécologue: V. Gayet (Unité clinique d'AMP, hôpital Cochin)
- Infectiologue: O. Launay (Médecine interne, hôpital Cochin)
- Virologue: M. Leruez (Virologie, hôpital Necker)
- Hépatologue: P. Sogni (Hépatologie, hôpital Cochin)
- Psychologue: V. Antoine (Unité clinique d'AMP, hôpital Cochin)
- Assistante sociale: H. Salvaneix (Unité clinique d'AMP, hôpital Cochin)
- Biologiste: E. Dulioust (Biologie de la reproduction, hôpital Cochin)