

## HEPATITE C EM CASAIS INFÉRTEIS DO SETOR DE REPRODUÇÃO HUMANA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

### HEPATITIS C VIRUS IN A POPULATION OF INFERTILE COUPLES

Themis R. da Silveira<sup>2</sup>, Eduardo P. Passos<sup>1</sup>, Hugo Cheinquer<sup>3</sup>, Cristiano Caetano Salazar<sup>1</sup>, Andrea C. Facin<sup>1</sup>, Carlos Augusto B. de Souza<sup>1</sup>, Yehrar Guerin<sup>1</sup>, Camila Giugliani<sup>1</sup>, João Sabino L. da Cunha Filho<sup>1</sup>, Fernando Freitas<sup>1</sup>

#### ABSTRACT

**Objetivo:** A possibilidade transmissão do vírus da hepatite C através dos gametas pode acarretar riscos para o pessoal técnico, bem como para os envolvidos no processo e para o próprio feto. Este estudo teve como objetivo determinar a prevalência e os fatores de risco da infecção pelo vírus da hepatite C em um grupo de casais inférteis.

**Métodos:** Em 409 pacientes atendidas no ambulatório de infertilidade do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), entre 1997 e 1998, realizou-se triagem sorológica para anti-HCV (ELISA) e HBsAg (ELFA). A infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) e a viremia seminal também foram investigadas com detecção de HCV-RNA.

**Resultados:** A prevalência geral de anti-HCV foi de 3,2% (8/248) entre as mulheres e 3,7% (6/161) entre os homens. Todos os indivíduos eram negativos para o vírus da hepatite B (HBV) e HIV. Das 14 pacientes HCV-positivas, duas foram perdidas, e foi coletado soro das 12 pacientes remanescentes para detecção de HCV-RNA, resultando em cinco casos HCV-positivos (uma mulher e quatro homens). Apenas um dos casos positivos tinha nível de viremia > 500.000 cópias de RNA/ml. Houve uma associação de risco significativa da positividade para HCV nas mulheres com parceiros HCV-positivos ( $P < 0,001$ ). Em pacientes masculinos, a correlação entre uso de drogas endovenosas e positividade para HCV também foi significativa ( $P < 0,001$ ).

**Conclusões:** Pacientes inférteis deveriam ser triados para HCV antes dos procedimentos de tecnologia de reprodução assistida (TRA), uma vez que o risco de infecção vertical e laboratorial pelo HCV não está bem determinado e a prevalência do HCV não é desprezível neste grupo.

**Unitermos:** Hepatopatia; infertilidade; fertilização *in vitro*; hepatite não-A não-B.

**Objective:** Hepatitis C virus transmission in assisted reproduction may pose a risk for the baby, technicians, and gametes or embryos from non-contaminated parents. This study aimed at determining the prevalence and risk factors for hepatitis C virus infection in a group of infertile couples.

**Methods:** Four hundred and nine patients attending the infertility clinic at Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Brazil, between 1997 and 1998, were screened for anti-HCV (ELISA) and HBsAg (ELFA). Hepatitis C virus (HCV) infection and semen viremia was also investigated using HCV RNA detection.

<sup>1</sup> Setor de Reprodução Humana, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

<sup>2</sup> Serviço de Pediatria, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Correspondência: Dr. Eduardo Pandolfi Passos, Ramiro Barcelos 2350 - sala 1125, CEP 90035-003, Porto Alegre, Brasil. Fone: + 55-51-3316.8117 / Fax: +55-51-3346.7155; e-mail: epp@via-rs.net.

<sup>3</sup> Serviço de Gastroenterologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

**Results:** All subjects were negative for HBV and HIV. The overall prevalence of anti-HCV was 3.2% (8/248) among women and 3.7% (6/161) among men. From the 14 HCV-positive patients, two were lost, and serum was collected from the remaining 12 patients for assessment of HCV RNA, resulting in five HCV-positive cases (one woman and four men). Only one of these positive cases had viremia levels > 500,000 RNA copies/ml. There was a significant risk association for being HCV-positive in women with HCV-positive male partners ( $P < 0.001$ ). In male patients, the correlation between use of intravenous drugs and HCV-positivity was also significant ( $P < 0.001$ ).

**Conclusions:** Infertile patients should be screened before assisted reproductive technology (ART) procedures, since the risk for vertical and laboratory HCV infection is not well determined, and HCV prevalence is not negligible in this group.

**Key words:** Hepatopathy; infertility; in vitro fertilization; non-A non-B hepatitis.

## INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus da hepatite C (HCV) é uma das principais causas de hepatopatia crônica no mundo (1). Pelo menos 85% dos pacientes infectados pelo HCV desenvolvem infecção persistente, enquanto que quase 70% desenvolvem hepatopatia crônica com níveis aumentados de enzimas hepáticas. A infecção crônica pelo HCV pode levar a cirrose e carcinoma hepatocelular (2,3). Estudos sobre a frequência da infecção pelo HCV na população em geral revelam que a prevalência média do HCV é de 1,8% nos Estados Unidos (4-6), 1,5% na Europa (7,8,9) e 1,7% no Brasil (10).

Estudos epidemiológicos e experimentais indicam que a principal via de transmissão do HCV é a parenteral, por transfusão de sangue e derivados do plasma (11). Outras formas de transmissão parenteral incluem o uso de drogas endovenosas, hemodiálise e transplante de órgãos (12). Além disso, profissionais de saúde desenvolveram hepatite não-A, não-B após exposição a acidentes punctórios, assim como na ausência de exposição percutânea aparente (11).

A transmissão não-parenteral do HCV também é freqüente. Pelo menos 50% dos pacientes com hepatite C não tiveram exposição parenteral. Estudos sorológicos também mostraram transmissão vertical do HCV (13). A transmissão mãe-bebê do HCV em mulheres com coinfeção pelo HIV foi detectada com uso de reação em cadeia de polimerase (PCR) (14). Apesar de o RNA viral ter sido detectado na saliva e no sêmen, o papel das vias sexual, perinatal e outras possíveis vias não-parenterais de transmissão da hepatite C permanece indefinido (5,15-17).

Em reprodução assistida, a transmissão do HCV pode trazer riscos para o bebê, para os técnicos e gametas ou embriões de pais não-contaminados (18). Porém, o risco exato da transmissão do HCV nessa população é desconhecido e, portanto, diretrizes

específicas para a prevenção da infecção pelo HCV em medicina reprodutiva ainda não foram estabelecidas. Assim, é importante determinar a prevalência do HCV entre os casais inférteis que procuram a reprodução assistida, para que medidas específicas de saúde possam ser planejadas e pacientes inférteis com infecção pelo HCV possam receber aconselhamento durante os ciclos de tecnologia de reprodução assistida (TRA).

O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência da infecção pelo HCV em uma população de casais inférteis e buscar fatores de risco associados a essa infecção.

## PACIENTES E MÉTODOS

### Delineamento

Realizamos um estudo transversal com 409 pacientes (248 mulheres e 161 homens) atendidos no ambulatório de infertilidade do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), entre 1997 e 1998. O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética do hospital.

### Pacientes

Todos os pacientes receberam aconselhamento antes e depois de serem testados para hepatite C. Aqueles pacientes com resultados positivos foram submetidos a investigação gastroenterológica e manejo de acordo com o Consenso NIH para o Manejo da Hepatite C (4). Hepatite B, HIV e outros fatores de risco conhecidos associados com a transmissão do HCV também foram avaliados. Cada paciente também foi testado para infecções por clamídia e treponema, além da investigação das possíveis causas da infertilidade do casal.

Os casais responderam a um questionário com relação à história prévia, pessoal ou familiar de hepatite, exposição sexual, uso de drogas injetáveis e exposição a sangue total ou derivados do plasma em diversas situações.

Foram incluídos apenas os pacientes inférteis que concordaram em participar (248 mulheres e 161 homens) e, no caso de teste HCV-positivo, aqueles que também concordaram com a investigação e o seguimento da doença. No início do estudo, todos os indivíduos envolvidos assinaram um termo de consentimento informado para participar e ter suas amostras sanguíneas testadas.

Durante a visita inicial, todos os pacientes foram submetidos a um exame físico geral. A história mórbida progressiva foi avaliada e o uso atual de medicamentos foi devidamente registrado. Critérios de exclusão foram: idade maior que 40 anos ou presença de doença aguda. Contato com sangue foi definido como qualquer contato com sangue (com ou sem proteção), e cirurgia foi definida como qualquer procedimento (ambulatorial ou não) realizado em um hospital.

### Medidas

A detecção de anticorpos para o vírus da hepatite C (anti-HCV) e hepatite B (HBsAg) foi incluída como parte da investigação de rotina dos casos de infertilidade. O soro dos pacientes foi testado para anti-HCV por ELISA (Ortho HCV 3.0, Ortho-Clinical Diagnostics, Neckargewünd, Alemanha) e para HBsAg pelo método ELFA (Vidas HBsAg, bioMérieux, Marcy-l'Étoile, França). O HIV também foi testado pelo método ELISA (Vironostik® HIV Uni-Form II plus O, Organon, Boxtel, Holanda).

A especificidade do teste anti-HCV (ELISA) em uma população de baixo risco é de 99,96% (quatro unidades por 10.000 doações); o coeficiente de variação (CV) intra-teste é de 9,9% e o CV inter-teste é de 1,2 a 14,8%.

Em pacientes com teste positivo para anti-HCV (ELISA), o RNA foi extraído e descrito conforme Chomcczynsk & Sacchi (19). A reação em cadeia da polimerase - transcrição reversa (RT-PCR) foi executada para detectar o RNA do vírus da hepatite C usando-se *primers* retirados da região não-codificadora 5' do HCV (NS-5'R) para amplificação (20). O limite

de detecção da técnica era de 200 cópias/ml. Para confirmar os resultados, uma segunda amplificação foi realizada utilizando-se *primers* internos (PCR aninhado). A genotipagem do HCV foi realizada através de análise de polimorfismo dos comprimentos de fragmentos de restrição (*restriction fragment length polymorphism analysis -RFLP*) dos produtos do PCR aninhado usando-se três enzimas de restrição em dois sistemas de digestão separados. Os produtos digeridos foram submetidos à eletroforese, corados e separados em géis de poliacrilamida. Padrões de banda para os diferentes genótipos de HCV eram derivados daqueles descritos por McOmish et al. (21) e das seqüências de 5' NCR obtidas de bancos de dados gênicos.

### Estatísticas

Os dados foram armazenados e analisados através do software EPI-INFO 6.02 (Atlanta, EUA). A análise estatística foi realizada por estimativa do risco relativo (RR) e pelo teste exato de Fisher. O nível de significância considerado foi  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS

A prevalência da positividade para anti-HCV entre as mulheres foi de 3,2% (8/248). A média de idade das pacientes femininas foi de  $31,6 \pm 4,1$  anos (17 a 39 anos). Em relação à história prévia de exposição parenteral, 7,9% das mulheres neste estudo tinham história de transfusão, 1,9% haviam usado drogas injetáveis, 59,5% haviam sido submetidas a cirurgias, 7,5% haviam tido contato com sangue e 3,7% relatavam história de hepatite.

As características clínicas e demográficas dos pacientes estudados estão demonstradas na tabela 1. Nenhum caso foi positivo para infecção treponêmica. A prevalência de infecção por clamídia foi de 15% em pacientes HCV-negativos e de 17% em pacientes HCV-positivos ( $P > 0,05$ , teste exato de Fisher). Em termos de fatores de infertilidade, 103 pacientes (41,5%) apresentavam oclusão tubária; 43 (17,3%) apresentavam endometriose; e 17 (7%) apresentavam disfunções ovulatórias. Em 23 pacientes (9,2%) a infertilidade foi classificada como idiopática e em 62 casos (25%) havia infertilidade masculina.

**Tabela 1.** Características clínicas e demográficas dos pacientes

Característica	Mulheres (n = 248)	Homens (n = 161)
Tipo de infertilidade		
Primária	154 (62%)	105 (65%)
Secundária	94 (38%)	56 (35%)
Duração da infertilidade	6,25 ± 3,6 anos	5,60 ± 2,2 anos
Primeira relação sexual	18,5 ± 3,4 anos	17,25 ± 2,5 anos
Etnia		
Brasileiros (nativos)	6 (2,4%)	5 (3%)
Negros	61 (24,6%)	44 (27%)
Latinos (brancos)	181 (73%)	112 (70%)

A prevalência de positividade para anti-HCV entre os homens foi de 3,7% (6/161). A média de idade entre os pacientes masculinos foi de 33,9 ± 5,7 anos (21 a 57 anos); 7,0% tinham história de transfusão; 6,1% tinham usado drogas injetáveis no passado; 49% tinham sido submetidos a cirurgias; 3,5% relataram contato com sangue; e 9,6 % tinham tido hepatite.

Um homem HIV-positivo também apresentava positividade para anti-HCV. Dois pacientes (um

homem e uma mulher) eram positivos para HBsAg; ambos eram anti-HCV-negativos.

Dos 14 pacientes anti-HCV-positivos, dois foram perdidos. Foi coletado soro dos 12 pacientes remanescentes (sete mulheres e cinco homens) para avaliação dos níveis de viremia (HCV-RNA). Dentre esses pacientes, apenas um paciente masculino apresentava uma viremia alta (20x10<sup>6</sup> cópias de RNA/ml). Os genótipos dos pacientes e seus níveis de viremia estão na tabela 2.

**Tabela 2.** Características dos indivíduos anti-HCV-positivos

Paciente	Sexo	Idade	PCR	Genótipo	Carga Viral	Fator de risco
1	F	28	-	-	-	Parceiro HCV+
2	M	32	+	3	100.000	Drogas injetáveis
3	F	37	-	-	-	Cirurgia
4	F	29	-	-	-	Parceiro HCV+
5	M	44	+	3	400.000	Drogas injetáveis, cirurgia, história de hepatite
6	F	31	-	-	-	Não-identificável
7	M	33	-	-	-	Não-identificável
8	F	34	-	-	-	Transfusão, cirurgia, hepatite na família
9	M	26	+	1a	250.000	Drogas injetáveis
10	F	38	+	2	3.000.000	Parceiro HCV+
11	M	36	+	3	20.000.000	Drogas injetáveis
12	F	35	-	-	-	Não-identificável

F: feminino; M: masculino

Dois fatores de risco importantes para transmissão do HCV também foram avaliados: transmissão sexual e uso de drogas endovenosas. Uma associação significativa entre o risco de apresentar anticorpos anti-HCV e a presença de parceiro HCV-positivo foi

observada entre as mulheres (Tabela 3; RR = 16,09, P = 0,0124, teste exato de Fisher). Além disso, evidenciou-se uma associação entre o uso de drogas endovenosas e positividade para anti-HCV em homens (tabela 4; RR = 23,24; P = 0,0013, teste exato de Fisher).

**Tabela 3.** Risco para transmissão sexual do HCV dentre os casais

	Mulheres anti-HCV- positivas (n)	Mulheres anti-HCV- negativas (n)
Homens anti-HCV- positivos	2	4
Homens Anti-HCV- negativos	3	143
Total	5	147

RR = 16,09 (IC 95%1,48-262,01) P = 0,0124, teste exato de Fisher.

## DISCUSSÃO

Desde a introdução de anticorpos específicos para o vírus da hepatite C, diversos estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de contribuir para os conhecimentos em epidemiologia e curso clínico desta infecção (22). Em geral, anticorpos para o HCV são encontrados em 0,5 a 5% da população, dependendo da região geográfica estudada (16). Neste estudo, no qual os casais foram avaliados antes dos procedimentos de reprodução assistida, a prevalência do HCV esteve de acordo com a prevalência local e com os dados da literatura (10,23).

Este estudo mostrou que a prevalência da infecção pelo HCV foi menor nos casais inférteis em comparação à população em geral. Na presença da infecção, a viremia seminal era extremamente baixa. Os dados deste estudo estão de acordo com outros relatos (18), nos quais uma carga viral baixa de HCV foi detectada no sêmen de homens inférteis, usando a mesma metodologia por nós empregada (detecção por RNA).

O HCV é encontrado no sêmen de pacientes HCV-positivos em níveis muito baixos ou indetectáveis pela metodologia disponível; entretanto, essa informação deve ser interpretada com cuidado, uma vez que o sêmen é conhecido por sua capacidade de inibir o PCR (18,24,25). Além disso, a importância do HCV no sêmen pode estar relacionada à concentração viral, uma vez que infecções virais podem contribuir para a infertilidade masculina por causar uma reação

inflamatória/imunológica ou através de um efeito tóxico direto (26).

O risco para transmissão sexual do HCV é estimado em 5% (27). Em mulheres o risco de infecção por parceiro HCV-positivo é maior em relacionamentos com mais de 20 anos de duração. Nestes casos, a transmissão é mais factível se a exposição for repetida e duradoura (15,28). Também foi encontrada uma associação entre positividade para HCV nos homens e risco de positividade para HCV nas suas parceiras. Alguns investigadores demonstraram que a transmissão sexual é mais provável em casos de coinfeção pelo HIV, o que sugere uma associação com a elevada carga viral resultante da imunossupressão (29,30).

Sabe-se que a transmissão do HCV ocorre essencialmente por via parenteral, sendo que a grande parte dos pacientes soropositivos tem história de transfusão de sangue ou uso de drogas injetáveis no passado (31). Na nossa população, foi encontrado um RR de 23,24 para infecção por HCV por pacientes masculinos usuários de drogas endovenosas. Sabe-se que em 40-50% dos casos de hepatite C não é possível identificar um fator de risco parenteral, sugerindo a importância de outras vias de transmissão (32).

A transmissão vertical do HCV é menos freqüente, exceto em casos de mães com altos níveis de viremia (HCV-RNA  $\geq 10^6$  cópias/ml), incluindo as pacientes coinfectadas pelo HIV (33,34). Em nosso estudo, nenhuma das pacientes femininas apresentava níveis de HCV-RNA maiores que  $3 \times 10^6$  cópias/ml.

Apesar das evidências do risco de transmissão sexual e perinatal ser baixo, o prognóstico dos recém-nascidos infectados pelo HCV permanece desconhecido. Além disso, existem poucos dados sobre a prevalência do HCV em populações inférteis, a repercussão da infecção pelo HCV em saúde reprodutiva e o risco de transmissão por procedimentos de reprodução assistida.

Outra questão não resolvida diz respeito à variedade de genótipos virais e a sua relação com o risco de transmissão vertical ou laboratorial – alguns tipos de HCV poderiam ser mais agressivos e, por isso, deveriam ser manejados de forma diferente.

Em conclusão, os resultados deste estudo mostram que a maioria dos pacientes HCV-positivos nesta população de casais inférteis tem níveis baixos ou indetectáveis de HCV-RNA. Deveríamos considerar a inclusão de tipagem sorológica do HCV na investigação de casais inférteis, para permitir a definição de condutas e riscos associados aos níveis de viremia quando um ou dois parceiros estão infectados pelo HCV.

Esses dados podem ser úteis para aconselhamento e manejo de casais que procuram a reprodução assistida, assim como para estudos futuros que analisem o risco da transmissão do HCV em casais inférteis.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho recebeu apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e do Fundo de Incentivo à Pesquisa, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE/HCPA). Agradecemos ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG) do HCPA pelo apoio editorial.

## REFERÊNCIAS

1. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-62.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for follow-up of health-care workers after occupational exposure to hepatitis C virus. *JAMA* 1997;278:1056-57.
3. Moyer LA, Mast EE, Alter MJ. Hepatitis C: Part I. Routine serologic testing and diagnosis. *Am Fam Phys* 1999;59:79-88.
4. National Institute of Health. Consensus Development Conference Panel State: Management of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26 Suppl 1:2-10.
5. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999;341:556-62.
6. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Paris, 26-28, February 1999, Consensus Statement. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 1999;30(5):956-61.
7. Botta-Frilund D. Risque de transmission des virus B et C en procréation médicalement assistée. *Contracept Fertil Sex* 1994;22:298-301.
8. Zeuzem S, Teuber G, Lee JH, Ruster B, Roth WK. Risk factors for the transmission of hepatitis C J *Hepatol* 1996;24 Suppl 2:3-10.
9. Pawlotsky JM. Assistance médicale à la procréation et hépatites virales: la position du virologue. *Contracept Fertil Sex* 1997;25:530-3.
10. Fonseca ASK, Lunge VR, Ikuta N, et al. Prevalência de genótipos do vírus da hepatite C no estado do Rio Grande do Sul. *News Lab* 1998;27:62-6.
11. Genesca J, Esteban JI, Alter HJ. Blood-borne non-A, non-B hepatitis: hepatitis C. *Semin Liver Dis* 1991;11(2):147-64.
12. Ho M. Hepatitis C virus – another agent transmitted by transplanted organs. *N Engl J Med* 1991;325:507-9.
13. Stevens CE. In utero and perinatal transmission of hepatitis viruses. *Pediatr Ann* 1994;23:152-8.
14. Novati R, Thiers V, Monforte AD, Maisonneuve P, Principi N, Conti M, et al. Mother-to-child transmission of hepatitis C virus detected by nested polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 1992;165:720-3.
15. Kao JH, Hwang YT, Chen PJ, Yang PM, Lai MY, Wang TH, et al. Transmission of hepatitis C virus between spouses: the important role of exposure duration. *Am J Gastroenterol* 1996;91:2087-90.
16. McKee TA, Avery S, Majid A, Brinsden PRI. Risks for transmission of hepatitis C virus during artificial insemination. *Fertil Steril* 1996;66:161-3.
17. Tedder, R.S., Gilson, R.J., Briggs, M., et al. (1991) Hepatitis C virus: evidence for sexual transmission. *Br. Med. J.*, 302, 1299-1302.
18. Levy R, Tardy JC, Bourlet T, Cordonier H, Mion F, Lornage J, et al. Transmission risk of hepatitis C virus in assisted reproductive techniques. *Hum Reprod* 2000;15(4):810-6.

19. Chomcczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987;162:156-9.
20. Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, Chan SW, McOmish F, Irvine B, et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes by phylogenetic analysis of the NS-5'-region. *J Gen Virol* 1993;74:2391-9.
21. McOmish F, Yap PL, Dow BC, Follett EA, Seed C, Keller AJ, et al. Geographical distribution of hepatitis C virus genotypes in blood donors: an international collaborative survey. *J Clin Microbiol* 1994;32:884-92.
22. Lynch-Salamon DI, Combs CA. Hepatitis C virus in obstetrics and gynecology. *Obstet Gynecol* 1992;79:621-9.
23. Duffaut M, Valla D. Procréation médicalement assistée et infection par le virus de l'hépatite C. *Contracept Fertil Sex* 1997;25:534-7.
24. Debono E, Halfon P, Gerolami-Santandrea V. Sexual transmission of hepatitis C virus: detection of HCV in semen and correlation with plasma viral load. *AASLD Abstracts-Hepatology* 1996;268A.
25. Semprini AE, Persico T, Thiers V, Oneta M, Tuveri R, Serafini P, et al. Absence of hepatitis C virus and detection of hepatitis G virus/GB virus C RNA sequences in the semen of infected men. *J Infect Dis* 1998;177(4):848-54.
26. Keck C, Gerber-Schafer C, Clad A, Wilhelm C, Breckwoldt M. Seminal tract infections: impact on male infertility and treatment options. *Hum Reprod Update* 1998;4:891-903.
27. Dienstag JL. Sexual and perinatal transmission of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26 Suppl 1):66-70.
28. Caporaso N, Stroffoloni F, Menniti F. Evidence of sexual transmission of HCV-infection. *AASLD Abstracts-Hepatology* 1996;268A.
29. Eyster ME, Alter HJ, Aledort LM, Quan S, Hatzakis A, Goedert JJ. Heterosexual co-transmission of hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. *Ann Intern Med* 1991;115:764-8.
30. Soto B, Rodrigo L, Garcia-Bengoechea M, Sanchez-Quijano A, Riestra S, Arenas JI, et al. Heterosexual transmission of hepatitis C virus and the possible role of coexistent human immunodeficiency virus infection in the index case. A multicenter study of 423 pairings. *J Intern Med* 1994;236:515-9.
31. Diago M, Zapater R, Tuset C, Carbonell P, Gonzalez C, Cors R, et al. Intrafamily transmission of hepatitis C virus: sexual and non-sexual contacts. *J Hepatol* 1996;25:125-8.
32. Everhart JE, Di Bisceglie AM, Murray LM, Alter HJ, Melpolder JJ, Kuo G, et al. Risk for non-A, non-B (type C) hepatitis through sexual household contact with chronic carriers. *Ann Intern Med* 1990;112:544-5.
33. Lin HH, Kao JH, Hsu HY, Ni YH, Yeh SH, Hwang LH, et al. Possible role of high-titer maternal viremia in perinatal transmission of hepatitis C virus. *J Infect Dis* 1994;169:638-41.
34. Ohto H, Terazawa S, Sasaki N, Sasaki N, Hino K, Ishiwata C, et al. Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants. *N Engl J Med* 1994;330:744-50.