



## Note Preliminari

La prima tappa per lo studio della Sterilità è la raccolta di una corretta anamnesi sia generale che finalizzata all'apparato riproduttivo sia femminile che maschile. Questa insieme al completamento diagnostico, ci permette di formulare l'indicazione alla tecnica di P.M.A. che in quella coppia può dare il maggior risultato possibile.

- **Anamnesi**
- **Esami preliminari**
- **Diagnosi**
- **Tecnica P.M.A.**

1

Indicata la tecnica, l'induzione della crescita follicolare rappresenta solo la tappa centrale. Essa segue quindi gli esami preliminari e precede la tecnica di P.M.A. fertilizzazione in vivo (inseminazione), ed in vitro (FIV-ET – ICSI – IMSI).

Secondo il tipo di tecnica indicata, si utilizza, un protocollo diverso di induzione della crescita follicolare. Importantissima è comunque (a prescindere dalla tecnica) la valutazione ecografica in fase premestruale/mestruale della ecostruttura delle ovaie. La presenza / assenza di follicoli di diametro medio tra i 3 e 6 mm (follicoli antrali), a carico della struttura ovarica ed il loro numero da una precisa indicazione del tipo di protocollo che può essere utilizzato.

## Anamnesi

Una corretta anamnesi, deve considerare tutte le patologie che le due persone hanno avuto nel corso della loro vita (interventi chirurgici regione pelvica – infezioni pelviche – epididimiti – prostatiti – terapie oncologiche – etc.) comprese le familiarità per le patologie trasmissibili (ipertensione – diabete – anomalie cromosomiche, etc.).

La Sterilità è quindi una disciplina che coinvolge diverse figure professionali (ginecologia – andrologia – psicologia – genetica – endocrinologia – biologia – ostetricia – radiologia – altri specialisti: *cardiologo-diabetologo-anestesista*) ed interessa circa il 40-45% delle coppie in cerca di prole.

Particolare Importanza assume quindi “L'Ambulatorio per lo “Studio della Sterilità di Coppia” e la “Biologia della Riproduzione”. Il Centro che si occupa di Sterilità di Coppia è importante che abbia determinate ed importanti caratteristiche.



## *Caratteristiche che dovrebbe presentare un Centro di P.M.A:*

### *(decalogo)*

- 1 – durante il primo colloquio, il medico deve essere esauriente nelle spiegazioni, dare risposte chiare e semplici a tutte le nostre domande. Alla fine del colloquio, non debbono esistere dubbi sull'iter diagnostico e terapeutico che state per affrontare.
- 2 – non sentirsi a disagio nel porre qualsiasi domanda.
- 3 – che tutta la procedura sia spiegata in anticipo e con estrema chiarezza – somministrazione dei farmaci (perché bisogna somministrarli, quale effetto hanno e quale scopo ci si prefigge con la loro somministrazione). Numero delle ecografie, cosa viene valutato e periodo in cui vengono fatte. Necessità del prelievo ematico; quali ormoni vengono valutati e perché?
- 4 – prima di iniziare una procedura terapeutica è importante essere a conoscenza del proprio tasso di successo. Sapere il tasso generico del centro o della tecnica può essere importante. Sapere il proprio è molto più importante. Essere a conoscenza di tutti i fattori che determinano il proprio tasso di successo.
- 5 – che il Centro sia attivo tutti i giorni della settimana – dal Lunedì alla Domenica. Prelievo Ovocitario e Transfer degli Embrioni, devono essere sempre garantiti
- 6 – che il protocollo di terapia sia sempre personalizzato.
- 7 – che gli operatori abbiano esperienza pluriennale in questo settore. Che dimostrino massima conoscenza dei problemi: ginecologici, andrologici, biologici, genetici, psicologici.
- 8 – facilità nel mettersi in contatto con un operatore per eliminare qualsiasi dubbio.
- 9 – il Centro deve essere confortevole
- 10 – alla fine della procedura (a prescindere del risultato) avere la certezza che è stato fatto il massimo.



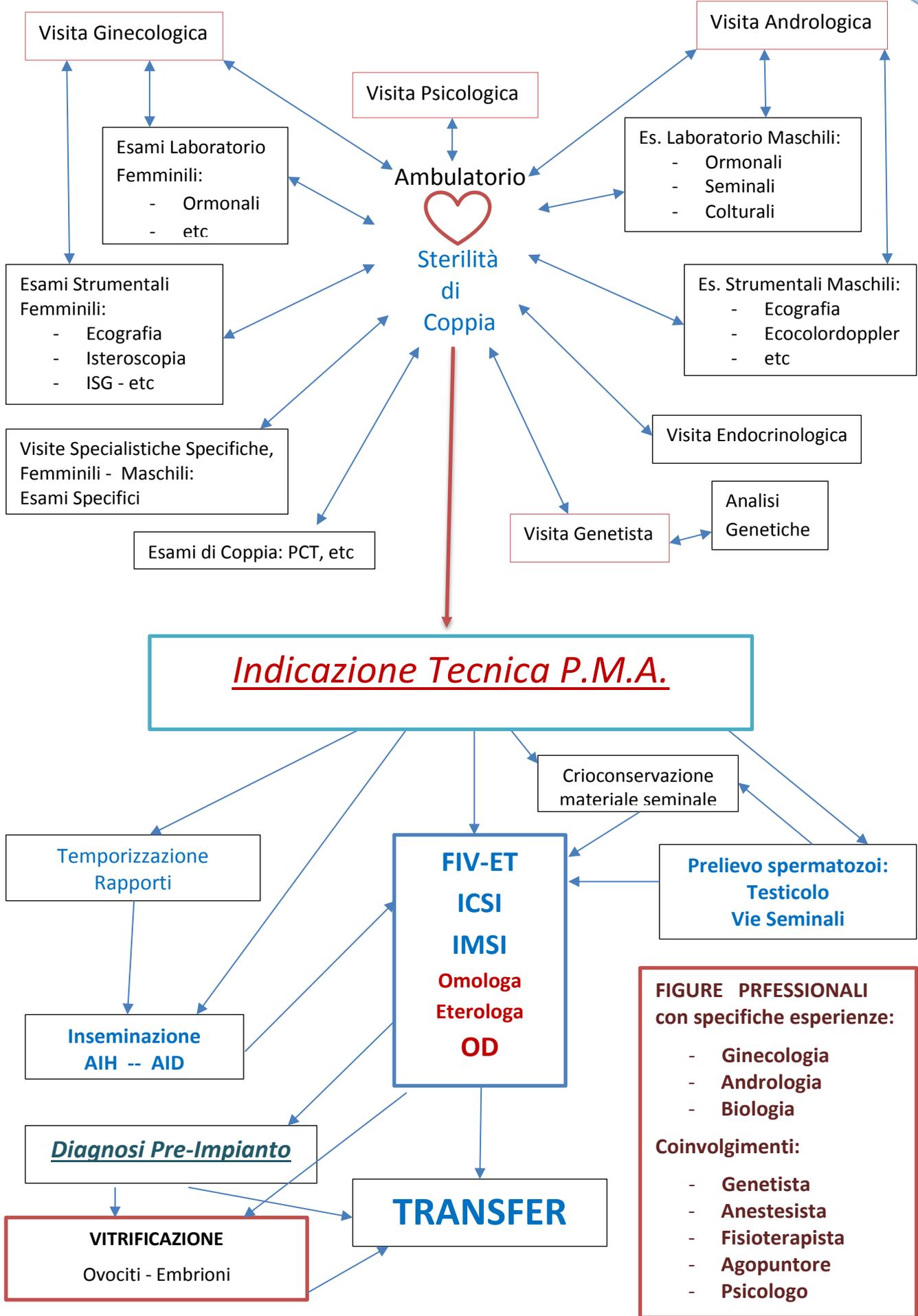
## Ambulatorio

### L'ambulatorio di per lo Studio della Sterilità di Coppia funge da coordinatore tra le molteplici figure professionali.

Un **Ambulatorio per lo Studio della Sterilità di Coppia** comporta e necessita di:

- **uno spazio ambulatoriale per prime consultazioni e controllo esami** inerenti la sterilità di coppia;
- dal primo colloquio, segue una valutazione ginecologica e/o andrologica e quindi il coinvolgimento di tutte le altre figure professionali secondo il risultato clinico-anamnestico:
- MASCHILE – FEMMINILE – DI COPPIA
  - - spermioγραμμα – test di frammentazione DNA spermatozoaria – test di capacitazione – eosin-test
  - - MSOME ed altri test sullo spermatozoo
  - - esami batteriologici maschili e femminili (tampone cervico-vaginale –spermio-coltura e tampone uretrale), massaggio prostatico - urinocoltura
  - - ricerca HPV maschile e femminile
  - - valutazioni ecografiche maschili – (ecocolordoppler scrotale – ecografia testicolare – ecografia prostatico-vescicolare – ecocolordoppler penieno dinamico)
  - - valutazioni ecografiche femminili – (ecografia pelvica transvaginale di base – studio ecografico della riserva ovarica)
  - - monitoraggio ecografico della crescita follicolare
  - - studio della pervietà tubarica e della morfologia della cavità uterina (Isterosalpingografia – Sonoisteroscopia)
  - - valutazioni ormonali maschili – asse ipotalamo-ipofisi-testicolo – tiroide - surrene
  - - valutazioni ormonali femminili – asse ipotalamo-ipofisi-ovaio – tiroide – surrene
  - - valutazione ormonale femminile – studio della riserva ovarica – AMH – Inibina B
  - - valutazione **genetica** che può portare a:
    - --- analisi del cariotipo maschile e femminile
    - --- analisi delle mutazione della fibrosi cistica maschile e femminile
    - --- analisi delle coagulopatie
    - --- analisi microdelezioni cromosoma Y
    - --- analisi X fragile
  - - pap-test
  - - colposcopia
  - - peniscopia
  - - isteroscopia
  - - esami infettivologici – epatite B – epatite C – HIV – VDRL
  - - esame anticorpi: Toxoplasma – Rosolia – Herpes – Citomegalovirus
  - - esami generali
  - - PCT (post coital test – Test di Kremer semplice e crociato)
  - - valutazione psicologica del singolo e della coppia
  - - ostetricia (monitoraggio della gravidanza: ecografie – visite – diagnosi prenatale

L'indicazione alla tecnica da utilizzare per la ricerca della gravidanza, nasce dall'analisi dei risultati dei vari accertamenti e visite.





L'Ambulatorio per lo *Studio della Sterilità di Coppia* diventa il CUORE del centro con il preciso compito di coordinare l'esecuzione dei vari esami necessari e quindi evitare inutili e molte volte dannose perdite di tempo. Informando la Coppia della necessità ed importanza degli accertamenti, dei tempi di realizzazione e dell'iter diagnostico e terapeutico che da questi viene suggerito.

I modi ed i tempi per cercare di rendere possibile il loro sogno.

## Tecniche:

### Temporizzazione dei rapporti:

La Temporizzazione dei rapporti, consiste nel valutare ecograficamente la crescita follicolare in un ciclo spontaneo o anche stimolato farmacologicamente del/dei follicoli ovarici ed indicare il momento dell'ovulazione temporizzando i rapporti. Si consiglia generalmente in caso di coppie giovani con anamnesi negativa per problemi riproduttivi e con ricerca di gravidanza per un periodo inferiore a 12 mesi.

### Tecnica P.M.A. di Fertilizzazione in Vivo - Inseminazione:

L'inseminazione consiste nel depositare il liquido seminale nei vari tratti dell'apparato genitale femminile. Viene generalmente indicata con la sigla AIH (Artificial Insemination Homolog) o AID (Artificial Insemination Donor) se da donatore. a seconda del luogo dove il liquido seminale viene deposto, si divide in:

- *paracervicale*, - *intracervicale (ICI)*, - *intrauterina (IUI)*, - *intratubarica (ITI)*, - *intraperitoneale (IPI)*.

Si esegue in fase ovulatoria o immediatamente post-ovulatoria, in ciclo spontaneo o stimolato.

Secondo il tipo di inseminazione che si effettua; il liquido seminale deve essere opportunamente trattato in laboratorio mediante un processo detto: "test di capacitazione".

L'inseminazione, se eseguita correttamente non presenta **complicanze**; anche se possono verificarsi: crampi uterini durante o immediatamente dopo l'inseminazione (nella IUI – ITI), perdita ematica (generalmente molto scarsa e dovuta al passaggio del cateterino attraverso il canale cervicale o la puntura del cavo del Douglas – IUI – ITI – IPI), complicanze infettive (IUI – ITI – IPI).

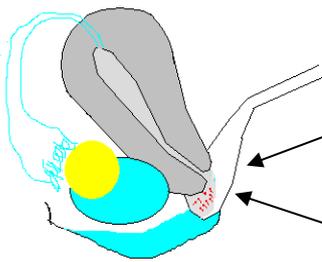
I tassi di successo delle tecniche di inseminazione non sono molto alti e si aggirano in media tra il 9% ed il 12%. Percentuali maggiori, si ottengono con l'utilizzo del liquido seminale da donatore là dove c'è l'indicazione a questa tecnica.

## Indicazioni all'Inseminazione

MASCHILE	DI COPPIA	FEMMINILE
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Patologia seminale media</li> <li>- Ipoprosia</li> <li>- Eiaculazione retrograda</li> <li>- Impotenza - Dispareunia</li> <li>- Ipospadi</li> <li>- Pene Curvo</li> <li>- Immunologica</li> <li>- Eiaculazione precoce, ante-portam,</li> <li>- Liquido seminale congelato</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- test di compatibilità muco-sperma (PCT – Kremer test – etc) negativo</li> <li>- Sterilità inspiegata</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Deficit qualitativo e quantitativo del muco cervicale</li> <li>- Stenosi orificio uterino</li> <li>- Obesità</li> <li>- Vaginismo</li> <li>- Immunologica</li> </ul>

### Tipi di Inseminazione:

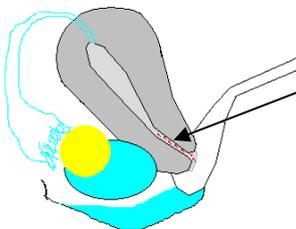
#### Inseminazione para-cervicale



Nell'**inseminazione para-cervicale**, il liquido seminale viene deposto nel fornice vaginale posteriore a diretto contatto con il muco cervicale. Si esegue prima dell'ovulazione. Non necessariamente il liquido seminale deve essere trattato preventivamente in laboratorio prima dell'inseminazione. L'indicazione a questo tipo di inseminazione è data soprattutto dai difetti di deposizione del liquido seminale o dall'impotenza.

#### Fornice Vaginale Posteriore

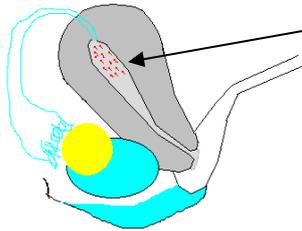
#### Inseminazione Intracervicale



Nell'**inseminazione intracervicale**, il liquido seminale viene deposto, con una coppetta che si applica al collo dell'utero o con un cateterino, nel canale cervicale.

Anche questo tipo di inseminazione viene eseguita prima dell'ovulazione e non necessariamente il liquido seminale deve essere trattato preventivamente in laboratorio. Ha le stesse indicazioni dell'inseminazione paracervicale.

#### Inseminazione Intrauterina - IUI

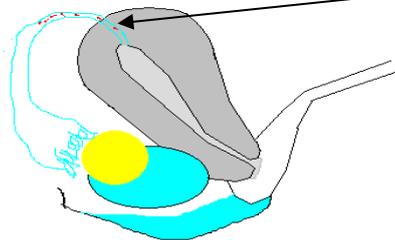


Nell'**Inseminazione Intrauterina (IUI)**, il liquido seminale dopo una opportuna preparazione (capacitazione) viene deposto con un sottile catetere vicino al fondo uterino.

Può essere eseguita in fase preovulatoria o immediatamente post-ovulatoria. In questo tipo di inseminazione, rientrano la quasi totalità delle indicazioni.

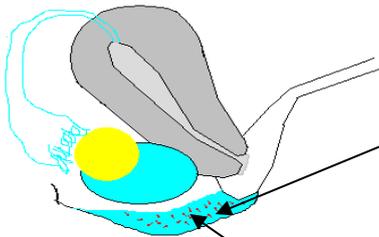
7

#### Inseminazione Intratubarica - ITI



Nell'**Inseminazione Intratubarica (ITI)**, il liquido seminale (capacitato), viene deposto con un cateterino molto sottile nel tratto intramurale – ampollare della tuba. Si esegue preferibilmente in fase immediatamente post-ovulatoria. Non è di facile esecuzione e può trovare la sua indicazione nei casi di ipomobilità degli spermatozoi; in quanto vengono messi molto vicini alla zona in cui avviene la

#### Inseminazione Intra-peritoneale - IPI



Spazio del Douglas

Nell'**Inseminazione Intraperitoneale (IPI)**, il liquido seminale (capacitato), viene deposto, attraverso una puntura nel spazio del Douglas. Spazio dove, dopo la rottura del follicolo, si raccoglie il liquido follicolare e dove le tube sono presenti con la loro parte fimbriale pronte a recuperare, dopo l'ovulazione, la cellula uovo. Si esegue ad ovulazione già avvenuta e trova indicazione, come per la ITI nei casi di ipomobilità degli spermatozoi.



## Tecniche P.M.A. di Fertilizzazione in Vitro:

Le Tecniche di Fertilizzazione in Vivo, sono: FIV.ET – ICSI – IMSI (con liquido seminale omologo, del partner o eterologo, da donatore) – OD

L'indicazione a queste tecniche sono a:

MASCHILE	DI COPPIA	FEMMINILE
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Patologia seminale severa: medio grave oligo- asteno- teratospermia</li> <li>- Azoospermia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diversi tentativi di inseminazione con esito negativo (generalmente da 3 a 6)</li> <li>- Periodo di ricerca della gravidanza (superiore a 3 anni)</li> <li>- Sterilità inspiegata</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Deficit ovulatorio – scarsa riserva ovarica</li> <li>- Patologia Tubarica</li> <li>- Pregresse GEU</li> <li>- Endometriosi medio-grave</li> <li>- Pregressi Aborti Spontanei</li> <li>- Età materna</li> <li>- Immunologica</li> </ul>

8

Le fasi della Fertilizzazione in Vitro sono:

- Induzione multipla dell'ovulazione (anche se può essere eseguita su ciclo spontaneo)
- Somministrazione dell'HCG
- Prelievo Ovocitario
- Transfer degli Embrioni

## INDUZIONE FOLLICOLARE MULTIPLA Monitoraggio dell'Ovulazione

Prima di iniziare la terapia è importante eseguire gli esami pre-operatori. Alcuni di questi hanno validità trimestrale quindi se già eseguiti è importante verificare la data di esecuzione.

### Signora:

- Gruppo Sanguigno e fattore RH
- Emocromo con formula – Glicemia – Azotemia – Creatinina - Na – K – Cl – **Validità tre mesi**
- ALT – AST – CPK – Pseudocolinesterasi - PT – PTT – Fibrinogeno – **Validità tre mesi**
- HbsAg – HbcAb – AntiHBs – HCV – HIV – VDRL – **Validità tre mesi**
- Tampone Vaginale - Tampone Cervicale (ricerca Clamydia – Micoplasm) – **Validità tre mesi**
- Pap-Test e ricerca HPV – Elettrocardiogramma – **Validità Annuale**



Signor:

- Gruppo Sanguigno e Fattore RH
- HbsAg – HbcAb – AntiHBs – HCV – HIV – VDRL – **Validità tre mesi**
- Spermiocoltura - Tampone Uretrale (ricerca Clamydia – Micoplasmi) – **Validità tre mesi**
- Ricerca HPV liquido seminale – **Validità tre mesi**

L'Induzione Follicolare Multipla, rappresenta la prima e più importante tappa della Procreazione Medico Assistita.

Consiste nell'indurre farmacologicamente la crescita contemporanea di un certo numero di follicoli su entrambe le ovaie. Questo ci permette di poter recuperare un numero adeguato di ovociti. Ideale è poter recuperare circa 8 – 10 ovociti maturi.

A tal fine, quasi tutti i protocolli utilizzati, contemplan il **contemporaneo** utilizzo del GnRh analogo od antagonista, in modo da sopprimere il livello di FSH – LH prodotti dalla propria ipofisi e la somministrazione di FSH – HMG che permette la stimolazione dell'ovaio.

La risposta alla terapia, non è standard né per ciclo né per paziente. Questo vuol dire che ogni singola paziente ha una sua personale risposta alla terapia, come anche la stessa terapia, se ripetuta, possa dare nella stessa paziente risposte completamente diverse. Come, anche se raramente, diverse possono essere le risposte delle due ovaie nella stessa paziente. Questo può portare; nel 5 –10% dei casi alla sospensione del ciclo per scarsa risposte follicolare e nel 1 –2% dei casi egualmente alla sospensione del ciclo per risposta eccessiva tale da rappresentare un elevato rischio di "Sindrome da Iperstimolazione Ovarica".

Si parla di scarsa risposta alla Stimolazione Ovarica quando si ha un numero totale di follicoli inferiore a 3. Mentre si ravvisa il rischio di Sindrome da Iperstimolazione Ovarica quando vi è la crescita contemporanea di più di dieci follicoli per ovaio.

Bisogna comunque tener presente che, già normalmente, queste terapie portano ad un lieve grado di Iperstimolazione Ovarica. Iperstimolazione, che è sicuramente maggiore nel caso in cui si manifesti una gravidanza, e che consiste in notevole aumento di volume delle ovaie con formazione di cisti, distensione addominale con possibile presenza di liquido libero in addome (ascite), contrazione urinaria. Alterazione di alcuni parametri emato-chimici. Quadro clinico che può portare, in un numero basso di casi, a ricovero Ospedaliero e richiedere alcuni presidi diagnostici e terapeutici, come anche l'aspirazione del liquido addominale (paracentesi).

Fortunatamente, nella nostra esperienza clinica, questa opportunità si verifica in una percentuale pari al 0,1%.

La somministrazione dei farmaci è sempre meglio che venga fatta di sera ore 20,00 – 22,00.

## Induzione multipla dell'ovulazione, fase per fase:

- 1 – scelta del protocollo terapeutico,
- 2 – firma dei consensi,
- 3 – prenotazione per ecografia follicolare ed eventuale dosaggio ormonale, (in tutti i protocolli i primi giorni di stimolazione ovarica non prevedono controlli; che diventano quasi quotidiani dal sesto – settimo giorno di stimolo fino al Prelievo Ovocitario),
- 4 – nel pomeriggio della valutazione ecografica e dell'eventuale dosaggio ormonale, verrete contattate o contatterete telefonicamente il Centro o il medico di riferimento per il proseguire della terapia e la prenotazione del successivo appuntamento.

10

Mest. 1°g.	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°
Terapia	FSH						
	LH						

Antagonista o Analogo

Ecografia e personalizzazione terapia					x	x	x
---------------------------------------	--	--	--	--	---	---	---



Quadro Ecografico di Stimolazione adeguata dell'Ovaio con diametri follicolari medi superiori a 18 mm.

Il monitoraggio follicolare, prosegue quindi (generalmente fino al 10° - 14° giorno del ciclo o di terapia) con controlli generalmente a giorni alterni fino a che non si evidenzino un minimo di tre follicoli di diametro superiore/uguale a 18 mm, e si procede quindi alla somministrazione dell'HCG ed al Prelievo Ovocitario.



## Somministrazione dell'HCG

La somministrazione dell'HCG (Gonasi HP 5000 – Ovitrelle 250 mcgr) o di un eventuale altro farmaco indicato (Decapeptyl 0,1 – Fertipeptyl 0,1) è un momento importantissimo in quanto l'orario indicato deve essere obbligatoriamente rispettato. Generalmente presso il nostro Centro questo avviene tra le 22,00 e le 24,00. Il Prelievo degli ovociti si esegue 34-36 ore dopo la somministrazione di quest'ultimo farmaco.

11

Farmaco Indicato	DATA	Ore	Nome Farmaco	Antibiot. fl i.m.	Altra terapia
<b>HCG</b>					
<b>Prelievo Ovociti</b>					
<b>Transfer</b>					

### Note generali salvo diverse indicazioni mediche

#### RACCOMANDAZIONI

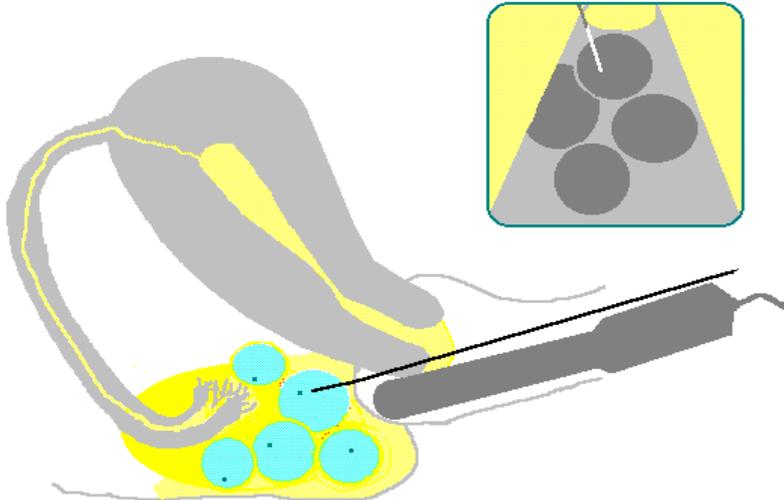
- evitare di indossare monili di qualsiasi genere (collane, anelli, bracciali, orologio, etc.),
- evitare di applicare trucco, smalto sulle unghie (mani e piedi),
- non applicare lenti a contatto o protesi mobili.

#### Dopo l'intervento (dalla dimissione):

- non guidare per almeno 24 (ventiquattro) ore,
- non effettuare attività che richiedono attenzione per un minimo di 6 (sei) ore,
- non prendere decisioni di carattere legale per almeno 24 (ventiquattro) ore.

## Prelievo degli Ovociti

Il prelievo del liquido follicolare per la ricerca degli ovociti e la scelta del momento della somministrazione dell'HCG, rappresentano i due momenti fondamentali per la buona riuscita delle tecniche che prevedono la fecondazione extracorporea degli Ovociti.



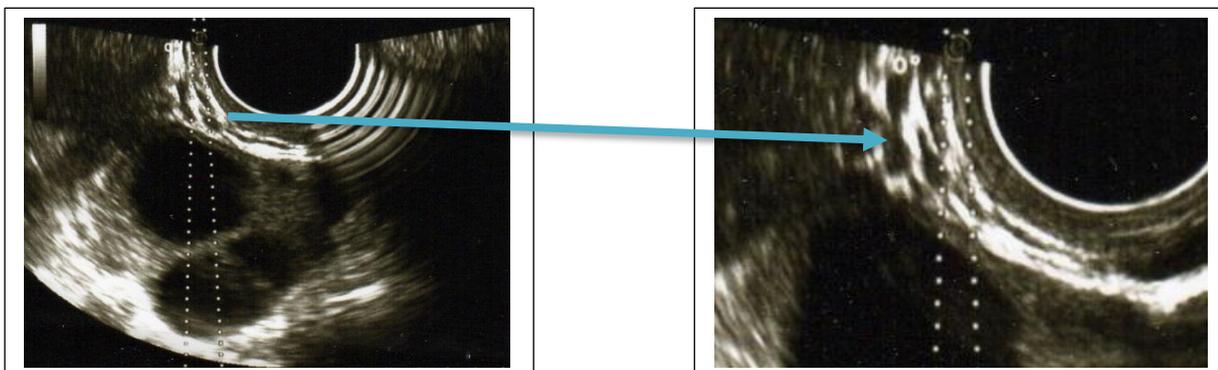
12

Il prelievo ovocitario, avviene in genere per via trans-vaginale sotto guida ecografica in leptanalgesia in un ambiente controllato atto a prevenire ogni possibile contaminazione/danno di strutture unicellulari estremamente sensibili a tossici ambientali, luce, cambiamenti di temperatura, etc. Il prelievo ovocitario (come detto) avviene 34 – 36 ore dopo la somministrazione dell'HCG, farmaco importantissimo nei programmi di fecondazione in vitro, in quanto ha lo scopo di completare gli eventi maturativi dell'ovocita.

Il ricovero per il prelievo ovocitario avviene il mattino dell'intervento; (presentarsi quindi al Centro al mattino ore 09,00, salvo diversa indicazione medica, a **digiuno dalle 24,00** con gli esami pre-operatori ed ElettroCardioGramma ECG). Si rammenta che gli esami infettivologici hanno validità 3 mesi.

Il prelievo ovocitario dura in genere 10-15 minuti e nel 98% delle pazienti sarà possibile recuperare almeno un ovocita.

*E' importante sapere che possono esserci complicanze legate all'analgesia ed al prelievo ovocitario. Quelle legate al prelievo ovocitario, sono principalmente dovute alla puntura di un vaso pelvico od ovarico.*





Nell'immagine a sinistra, si osservano i follicoli ovarici e superiormente a questi delle strie nere che sono arteriole e vene della regione pelvica o della corticale dell'ovaio, come si può meglio osservare nell'immagine a destra. L'ago per aspirare il liquido follicolare passa in mezzo alle due liee guida. Generalmente questi vasi si riescono ad evitare o se non evitabili, quelli sottilissimi danno un lieve sanguinamento pelvico. In una percentuale bassissima (<0,1% ) si ha una scarsissima visualizzazione di questi vasi e quindi la loro puntura può portare alla formazione di un **emoperitoneo** che ha volte può rendere necessario il ricovero in Ospedale e quindi di una Laparoscopia per evidenziare e coagulare il punto di passaggio dell'ago e del vaso ematico leso. La puntura di un vaso non può quindi considerarsi accidentale ma deve essere considerata come un possibile rischio essendo vasi molto piccoli ed alcune volte non ben visibili all'osservazione ecografica. Dopo il prelievo ovocitario è normale avere algie pelviche che possono protrarsi anche per diverse ore dopo il prelievo stesso. Dolori dovuti alla puntura dell'ovaio ed alle sue dimensioni (nettamente aumentate dalla stimolazione). Scarse perdite ematiche vaginali si possono osservare nelle 4-5 ore successive al prelievo ovocitario. Altra possibile complicanza è l'insorgenza di infezioni utero-ovariche: legate alla puntura dell'ovaio (l'ambiente vaginale non è sterile e per il prelievo ovocitario non si usano disinfettanti che potrebbero avere un'azione negativa sull'ovocita) quindi il passaggio dell'ago attraverso il fornice vaginale per potere pungere l'ovaio può portare internamente eventuali batteri (li presenti) od anche successivamente durante le manovre per il trasferimento degli embrioni. Raramente ma può anche succedere che l'embrione trasferito in utero si impianti in una sede anomala (tuba – GEU) anche se trasferito correttamente e sotto controllo ecografico. Moltissime volte è necessario lavare il follicolo per poter recuperare l'ovocita. Procedura che si effettua iniettando e riaspirando del terreno di coltura nel follicolo già aspirato. Una pressione non adeguata (molto forte) della pressione con la quale viene iniettato il terreno di coltura, può portare ad un danneggiamento fino ad una rottura del follicolo che porta generalmente ad un particolare dolore addominale. Una pressione molto bassa è inefficace a creare un vortice intrafollicolare ed aspirare l'ovocita

Normalmente la paziente viene tenuta in osservazione per alcune ore dopo l'intervento quindi dimessa.

E' consigliabile che la paziente per raggiungere il proprio domicilio non guidi ed abbia un accompagnatore.

Raggiunto il domicilio è consigliato riposo fino al successivo ritorno al Centro per il transfer embrionario.

Il partner maschile dovrà essere disponibile il mattino del prelievo ovocitario per poter produrre un campione di liquido seminale (la raccolta dovrà avvenire presso il centro, salvo diversi accordi) nell'orario stabilito e consegnato al Laboratorio Biologico per la preparazione degli Spermatozoi. In alcuni casi è necessario ricorrere ad una seconda raccolta. Quindi prima di allontanarsi dal Centro, è importante aver ricevuto l'**OK** da parte dello Staff clinico/biologico del Centro.

Per la raccolta del liquido seminale è fondamentale attenersi alle istruzioni sulla raccolta del liquido seminale:

- astinenza 3 – 4 giorni,
- raccolta in modo completo e in contenitore sterile (fornito dagli operatori del centro),

- al mattino accurata disinfezione dei genitali.

### IN SINTESI:

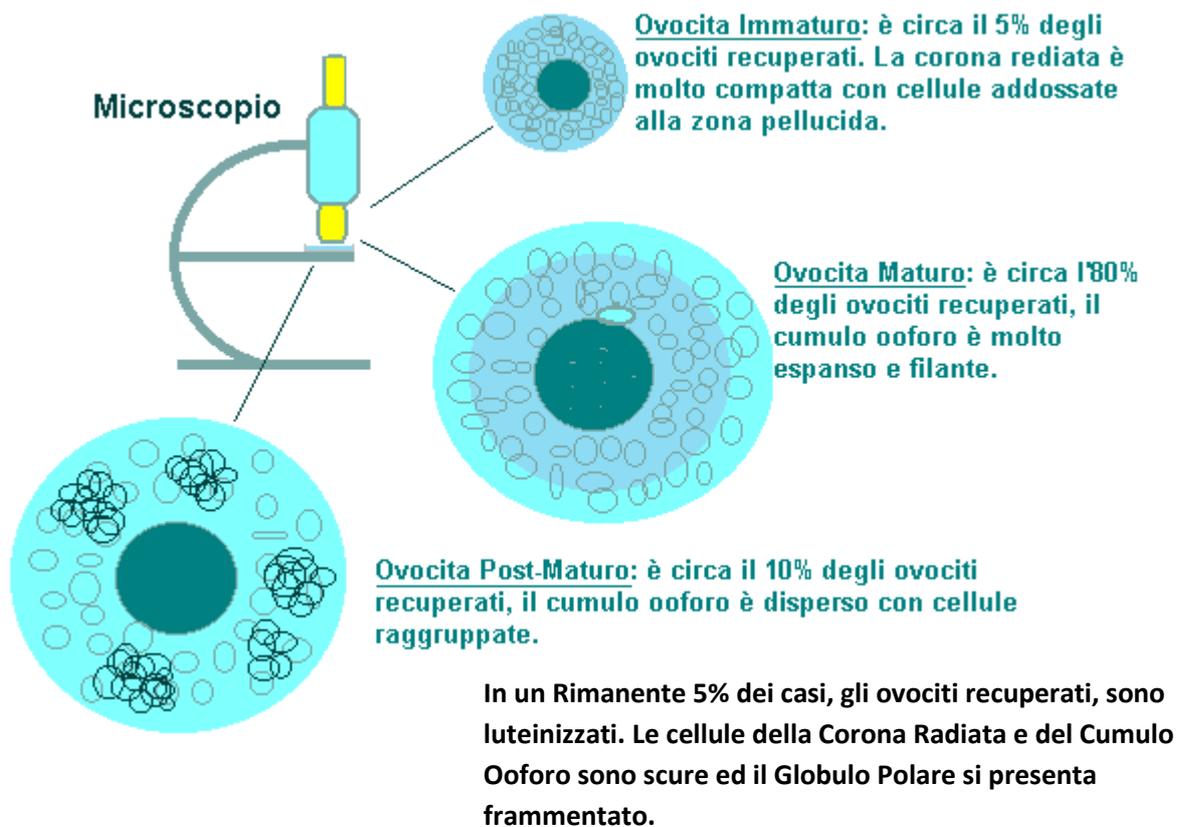
- Il **pomeriggio precedente il ricovero** effettuare la preparazione come da note sopra riportate
- Il **mattino del ricovero** presentarsi al Centro alle ore indicate dalla Segreteria del Centro.

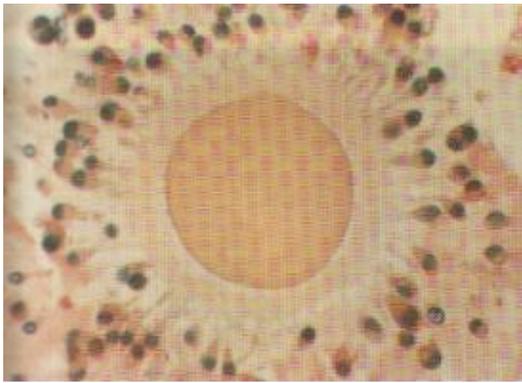
### **Il giorno del Prelievo degli Ovociti e successivi fino al transfer**

- Riposo, controllare diuresi, comunicare eventuali problemi al personale di riferimento del Centro
- **Iniziare e Proseguire Terapia Post Prelievo Ovociti e fino al dosaggio delle BHCG salvo diversa indicazione**
- Telefonare il giorno successivo al Centro – per essere informati sulla fertilizzazione; data ed ora del Transfer

## Fertilizzazione in Vitro

- Il liquido follicolare aspirato con la puntura follicolare, viene immediatamente trasferito nel Laboratorio Biologico, dove si procede allo screening degli Ovociti e alla valutazione del loro grado di maturità.

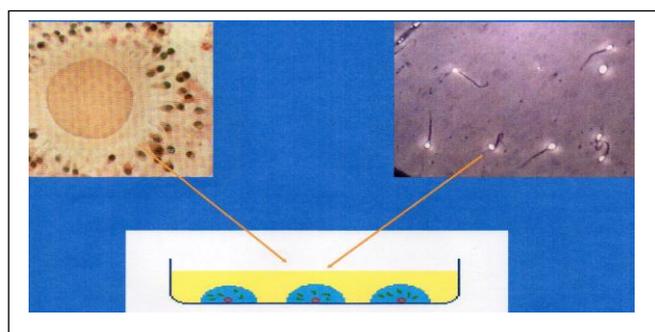
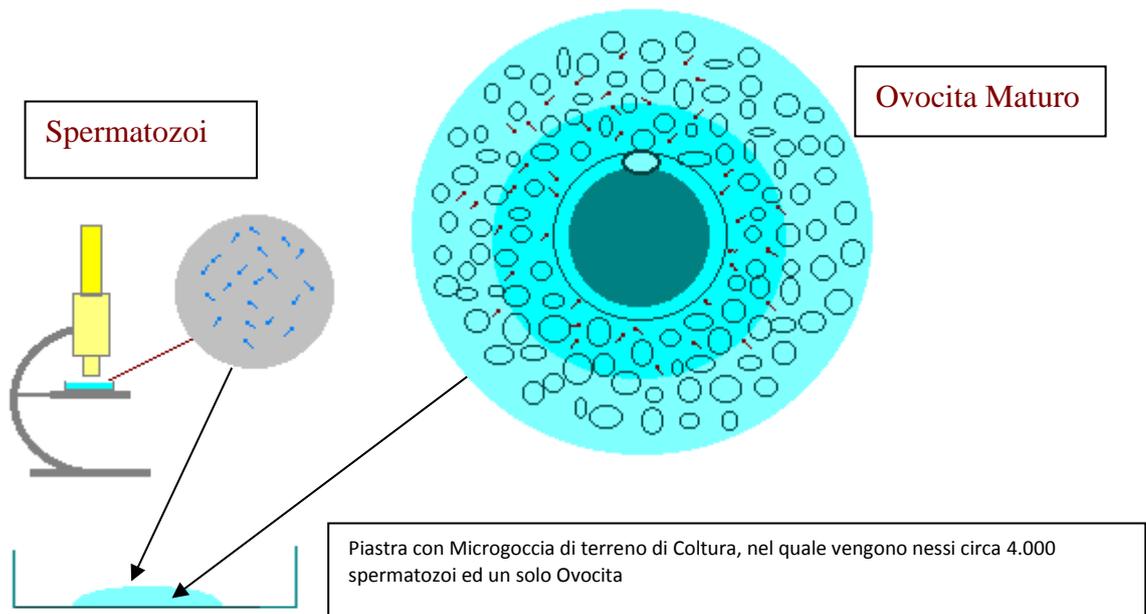




Ovocita Maturo

- Nella **FIV-ET** vengono inseminati, con gli Spermatozoi del Partner, oltre agli Ovociti Maturi, anche quelli Immaturi e Poat-Maturi; con naturalmente un diverso indice di fertilizzazione; di circa il 75 – 80% per quelli maturi, inferiore per gli altri gradi di maturità.
- Nella stessa goccia di terreno di coltura, vengono messi circa 4.000 spermatozoi ed un solo ovocita.

FIV-ET



## I.C.S.I.

Nella Tecnica **I.C.S.I.** – Intra Cytoplasmic Sperm Injection – vengono inseminati, con la tecnica della micro-iniezione ovocitaria, solo gli ovociti maturi in Metafase II. Con gli altri tipi di Ovociti, non si avvierebbe il processo di fertilizzazione e quindi di divisione e moltiplicazione cellulare.

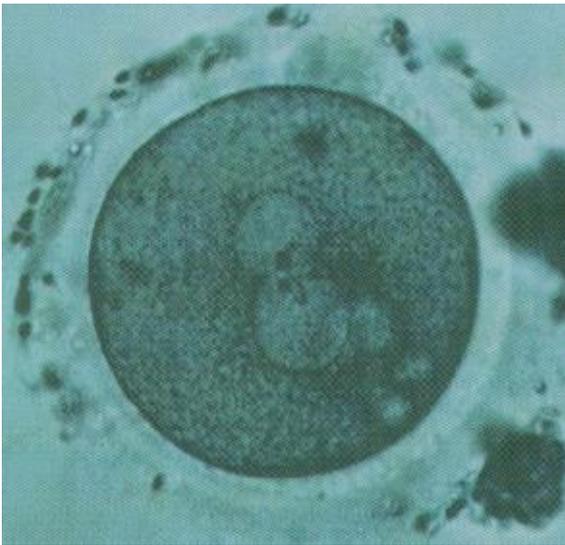


Spermatozoo all'interno del micro ago

Con questa tecnica, viene con un microago catturato un singolo spermatozoo ingrandito 400 volte (foto 1) ed inserito all'interno della cellula uovo (foto 2 – 3).

Viene quindi represso l'ago rilasciando nel citoplasma dell'ovocita lo spermatozoo (foto 4).

Sia per la tecnica FIV-ET che per quella ICSI, dopo circa 16 ore dalla inseminazione o micro-inseminazione ovocitaria, si procede all'analisi della fertilizzazione, evidenziata dalla presenza dei due pronuclei.



**Zigote – nell’area centrale, si osserva la presenza dei due pronuclei, maschile e femminile**

**Con la loro fusione, inizia il processo di divisione cellulare.**

Su richiesta degli interessati, si può procedere alla crioconservazione degli Embrioni sovranumerari per futuri transfer. *Il servizio di **crioconservazione degli embrioni** o di **liquido seminale** viene effettuata solo su richiesta e consenso firmato della Coppia. Queste due tecniche sono assoggettate ad un pagamento da parte della Coppia che la richiede. Si prega di chiedere al personale del Centro documentazione sui costi limitatamente alle tecniche di congelamento, mantenimento e scongelamento del materiale crioconservato.*

Si rammenta che il transfer da embrioni crioconservati è possibile solo ed esclusivamente all’interno della stessa coppia che ha autorizzato il congelamento e per questo ha firmato il consenso.

Mediamente si preferisce trasferire in utero solo 2 – 3 embrioni per Transfer.

Questo aumenta notevolmente la possibilità di successo, senza portare ad un aumento percentualmente significativo di gravidanze plurime.

Qualora la coppia non acconsenta al congelamento, verranno inseminati, con gli spermatozoi del partner, solo un numero di ovociti tale da ottenere non più di tre embrioni. Gli ovociti rimanenti, verranno eliminati.

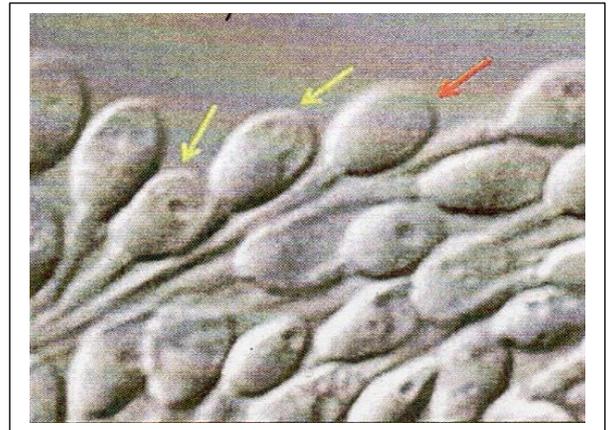
Le percentuali di successo della tecnica I.C.S.I. sono del 38-40% raggiungendo in alcuni centri anche percentuali superiori.

## I.M.S.I

In alcuni casi si rende necessario eseguire una tecnica particolare detta I.M.S.I.

Questa permette un ingrandimento degli spermatozoi di 6.600 volte quindi poter selezionare quelli che presentano un'assenza di vacuoli (la loro presenza è indice di alterazione dello spermatozoo).

Come si può osservare da questa immagine, diversi spermatozoi, presentano dei vacuoli non evidenziabili con la normale tecnica I.C.S.I.



18

Utilizzando questi spermatozoi (con presenza di Vacuoli), si ottiene egualmente l'embrione ma presenta un basso potenziale di impianto ed una aumentata percentuale di aborto.

L' I.M.S.I. è una tecnica particolarmente riservata nei casi di medio – elevata teratospermia (malformazione degli spermatozoi) e nei casi di ripetuti fallimenti della tecnica I.C.S.I.

È importante comunque sapere che l'I.M.S.I. è solo una tecnica di selezione degli spermatozoi. Inseminare l'ovocita con spermatozoi privi di alterazioni come quelle che si osservano nell'immagine, si è visto che si ottengono embrioni con un potenziale d'impianto superiore rispetto alla sola tecnica I.C.S.I.

Gli spermatozoi, come quelli segnati con la freccia gialla, danno egualmente origine ad un embrione. Ma la percentuale di gravidanze ottenute con questi embrioni è molto bassa. Accanto alla IMSI, esistono altre tecniche di selezione degli spermatozoi: il magnete, la ICSI fisiologica etc. L'importante è effettuare una



buona selezione degli spermatozoi ed avere spermatozoi da selezionare.

Elevate teratospermie, possono permettere solo di selezionare il meno peggio.