XLVI Congresso Nazionale AMCLI

11 - 14 Novembre 2017

Palacongressi di Rimini

Sessione VIII. Verso un protocollo microbiologico nella Procreazione Medicalmente Assistita (PMA)

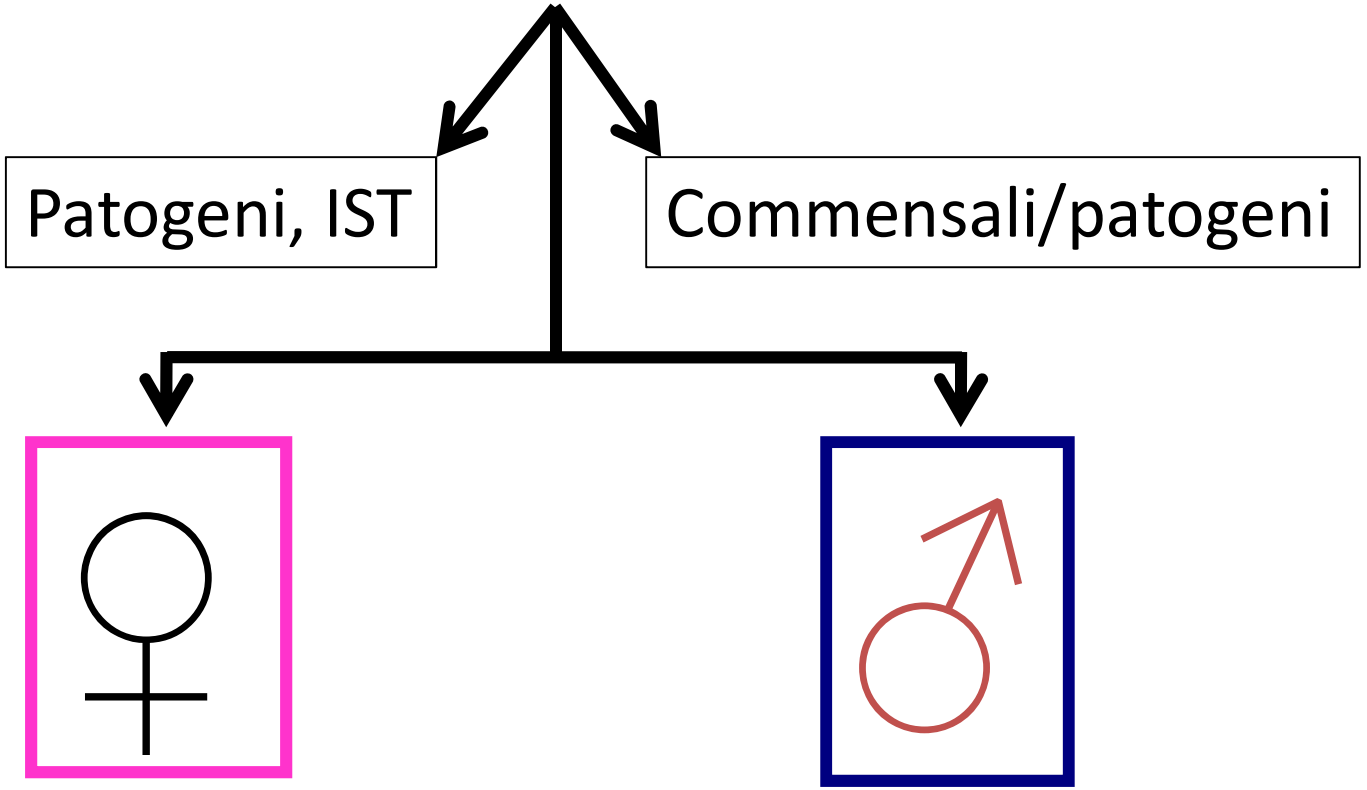
Test microbiologici

Alessandra Sensini
GLIST-AMCLI

Infezioni

Causa del 15-20% dei casi di sterilità

Microrganismi

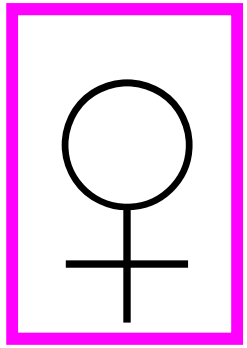


IST

Chlamydia trachomatis
Neisseria gonorrhoeae
Mycoplasma genitalium
Trichomonas vaginalis
HPV

Treponema pallidum
herpes simplex 1,2

Causa di sterilità



- Associato a endometrite, salpingite e PID atipica.
- Distruzione motilità sperma, fagocitosi dello sperma
- Capacità di trasportare verso l'alto altri agenti infettivi

Associato a:
- riduzione % gravidanze, sia naturali che assistite
- aumento % di aborti

Expert Reviews

JANUARY 2017 American Journal of Obstetrics &

Sexually transmitted diseases and infertility

Female infertility, including tubal factor infertility, is a major public
worldwide. Most cases of tubal factor infertility are attributable to ur
transmitted diseases that ascend along the reproductive tract and are ca
tubal inflammation, damage, and scarring. Evidence has consistently d
effects of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* as patl
involved in reproductive tract morbidities including tubal factor infertili
flammatory disease. There is limited evidence in the medical literature th
transmitted organisms, including *Mycoplasma genitalium*, *Trichomona*
other microorganisms within the vaginal microbiome, may be importan
in the pathology of infertility. Further investigation into the vaginal micro
potential pathogens is necessary to identify preventable causes of tuba

Review

What fertility specialists should know a
vaginal microbiome: a review

Reproductive BioMedicine Online (2017), doi: 10.1016/j.rbm

Juan Antonio García-Velasco [a], Marco Mena
Isidoro Bruna Catalán [c]

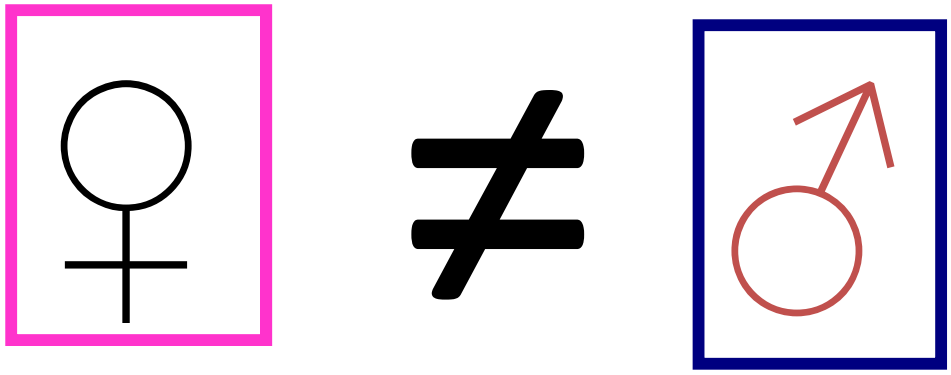
[a] *Department of Reproductive Endocrinology and Infertility, IVI Madrid, Rey Juan Carlos U Madrid, Spain*

[b] *Ferring International Center SA, 1162 Saint-Prex, Switzerland*

Altri Micoplasmi genitali

Mycoplasma hominis
Ureaplasma urealyticum
Ureaplasma parvum

IST o commensali?



Mycoplasma and ureaplasma infection and male infertility: a systematic review and meta-an

Andrology, 2015, 3, 809

[1]C. Huang, [1]H.L. Zhu, [1]K.R. Xu, [1]S.Y. Wang, [1,2]L.Q. Fan and [1,2]

SUMMARY

The relationship between mycoplasma and ureaplasma infection and male infertility has been studied remain controversial. This meta-analysis investigated the association between genital ureaplasmas (*Ureapl plasma parvum*) and mycoplasmas (*Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*), and risk of male inferti lence of ureaplasma and mycoplasma infection between China and the rest of the world were also con collected from PubMed, Embase and the China National Knowledge Infrastructure. Summary odds ratio (interval (CI) was applied to assess the relationship. Heterogeneity testing and publication bias testing were 14 studies were used: five case–control studies with 611 infertile cases and 506 controls featuring *U. urealyt* case–control studies with 2410 cases and 1223 controls concerning *M. hominis* infection. Two other in *M. genitalium*) were featured in five and three studies, respectively. The meta-analysis results indicated that *talium* are not associated with male infertility. However, a significant relationship existed between *U. ure*

U. parvum e *M. genitalium* NO, ***U. urealyticum* e *M. hominis* SI**

Asymptomatic Infection With *Mycoplasma hominis* Negativel Affects Semen Parameters and to Male Infertility as Confirmed Improved Semen Parameters A

Mohammad Hossein Ahmadi, Akbar Mirsalehian, Mohammad Ali Abbas Bahador, and Malihe Talebi

CONCLUSIC

Our data suggest that asymptomatic infection caused by M. *hominis* is correla fertility and antibiotic therapy can improve the semen quality and fair

Ureaplasma urealyticum, *Mycoplasma hominis* and adverse pregnancy outcomes

Romina Capoccia[a], *Gilbert Greub*[b], *and David Baud*[a,b]

Curr Opin Infect Dis 2013, 26:231–240

KEY POINTS

- Growing evidence from clinical and experimental studies suggests that both cervicovaginal colonization and/or amniotic fluid infection induce an inflammatory response resulting in chorioamnionitis, PTL or PPROM, all leading to potential adverse neonatal outcomes such as bronchopulmonary dysplasia.

The Human *Ureaplasma* Specie
Causative Agents of Chorioamı

Emma L. Sweeney,[a] Samantha J. Dando,[b] Suhas G. Kallapur,[c] Ch

Clinical Microbiology Re January 2017 Volume 30 I 349-79

Association between genital mycoplas
acute chorioamnionitis and fetal pneu

Maria Agnese Latino, Giovanni Botta, Claudia Badino, Daniela De M
Petrozziello, Alessandra Sensini and Christian Leli*

J. Perinat. Med. 2

Chi è a rischio?

Nessun modo affidabile per predirlo

Ureaplasma species: role in neonatal m
and outcomes

Viscardi RM. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2014;**99**:F87–F92.

Table 1 Short-term and long-term complications asso perinatally acquired *Ureaplasma* species

Affected organ or system	Short-term problem	Long-term pro
Pulmonary	Pneumonitis,[3] congenital pneumonia,[4] BPD[5]	BPD, reactive ai asthma[6]
Gastrointestinal	Necrotising enterocolitis[7 8]	Short bowel syn to thrive
Central nervous system	Intraventricular haemorrhage ≥Grade III,[9 10] meningitis[11]	Posthaemorrhag hydrocephalus, neurodevelopm
Ophthalmologic	Severe ROP[13]	Retinal detachm myopia, strabis
Cardiovascular	Pulmonary hypertension (term infants)[14]	

WHO laboratory manual fo

Examination and proce of human semen

2010

2.2.4 Sterile collection of semen for microbiological analysis

In this situation, microbiological contamination from non-semen so commensal organisms from the skin) must be avoided. The specim pipette tips and pipettes for mixing must be sterile.

The man should:

- Pass urine.
- Wash hands and penis with soap, to reduce the risk of contamir specimen with commensal organisms from the skin.
- Rinse away the soap.
- Dry hands and penis with a fresh disposable towel.
- Ejaculate into a sterile container.

Royal Coll
Obstetricians and

Bringing to life the best in

Ferti

assessment and treatmen

people with fertility prob

Cervical cancer scree

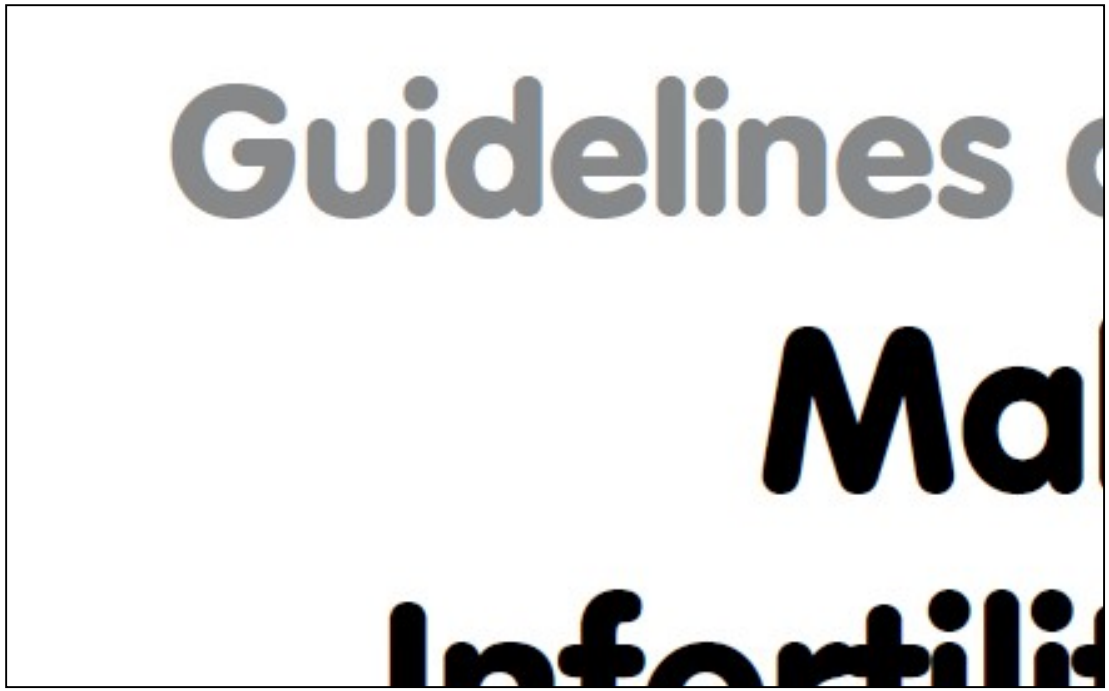
Number	Recommendation
79	To avoid delay in fertility treatment a specific enquiry about the t the most recent cervical smear test should be made to women about their fertility. Cervical screening should be offered in ac

Screening for *Chlamydia trach*

Number	Recommendation
80	Before undergoing uterine instrumentation women should be off *Chlamydia trachomatis* using an appropriately sensitive technique.
81	If the result of a test for *Chlamydia trachomatis* is positive, wome partners should be referred for appropriate management with trea tracing. **[2004]**

Antibiotic treatment of leucocytos ?

86	Men with leucocytes in their semen should not be offered antibiot there is an identified infection because there is no evidence



3J.2 Diagnostic evaluation

3J.2.1 Ejaculate analysis

Ejaculate analysis (see Chapter 3A.2) clarifies whether the prostate is involved as part of a g
and provides information about sperm quality. In addition, leukocyte analysis allows differen
inflammatory and non-inflammatory chronic pelvic pain syndrome (CPPS) (NIH IIa vs. NIH 3E

3J.2.1.1 Microbiological findings

After exclusion of urethritis and bladder infection, >106 peroxidase-positive white blood cell
millilitre of ejaculate indicate an inflammatory process. In this case, a culture should be perfo
urinary tract pathogens. A concentration of >103 cfu/mL urinary tract pathogens in the ejacu
of significant bacteriospermia. The sampling time can influence the positive rate of microorg
and the frequency of isolation of different strains [180]. The ideal diagnostic test for Chlamyc
semen has not yet been established [181]. In contrast to serological findings in women, antib
trachomatis in seminal plasma are not indicative if no type-specific methods are used [181].

Ureaplasma urealyticum is pathogenic only in high concentrations (>103 cfu/mL ejaculate). N
10% of samples analysed for ureaplasma exceed this concentration [182]. Normal colonisat
hampers the clarification of mycoplasma-associated urogenital infections, using samples su
[183].

3J.2.1.2 White blood cells

The clinical significance of an increased concentration of leukocytes in the ejaculate is contr

3J.4 Conclusions and recommendations for male accessory gland infecti

Conclusions
Urethritis and prostatitis are not clearly associated with male infertility.
Antibiotic treatment often only eradicates microorganisms; it has no positive effect on inflan alterations, and cannot reverse functional deficits and anatomical dysfunction.
Although antibiotic treatment for MAGI might provide improvement in sperm quality, it does necessarily enhance the probability of conception.

Recommendation
Patients with epididymitis that is known or suspected to be caused by N. gonorrhoeae or C

Gynecologic health and disea in relation to the microbiome female reproductive tract

Katherine A. Green, M.D.,[a] Shvetha M. Zarek, M.D.,[a] and William H. Catherino, M.D., Ph.D.[a,b]

Fertil Steril 2015;104(6):1351-7. doi: 0.1016/j.fertnstert.2015.10.010

It is well established that the vagina is colonized by bacteria that serve important roles in homeostasis. Imbal bacteria may lead to a predisposition to infection or reproductive complications. Molecular-based approach degree of microbial diversity both within and between women than previously recognized. The vaginal micro ing various states of health, such as during the menstrual cycle or after menopause, and there may be differe biome between women of different ethnicities. Furthermore, the specific composition of the vaginal micro

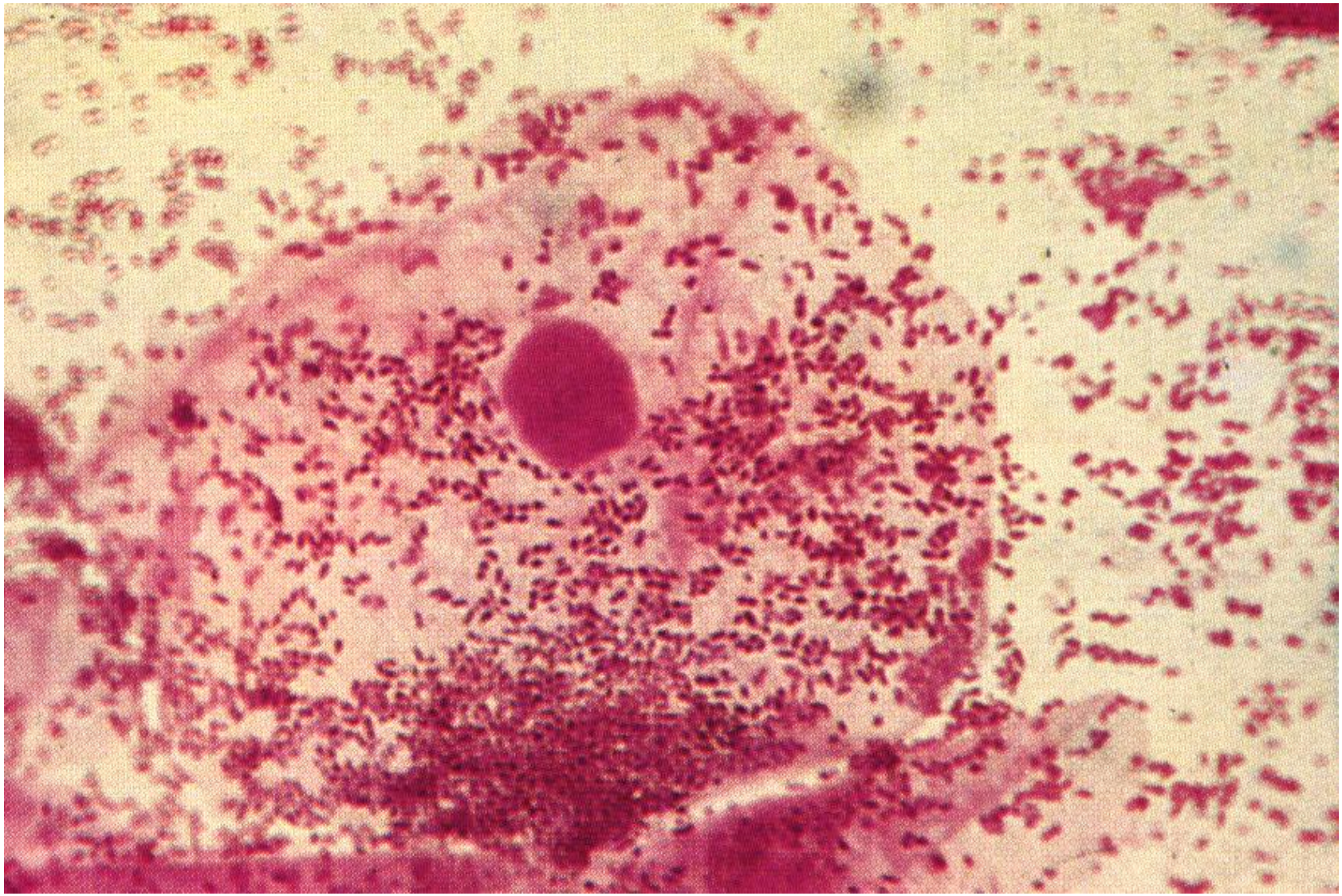
Abnormal vaginal microbiota r associated with poor reproduct outcomes: a prospective study patients

Human Reproduction, Vol.31, No.4 pp. 795–

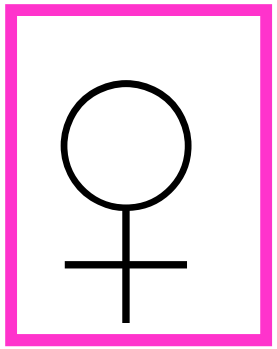
WIDER IMPLICATIONS OF THE FINDINGS: Abnormal vaginal microbiota may negatively affect the clinical p
If a negative correlation between abnormal vaginal microbiota and the clinical pregnancy rate is corroborated, pati

VAGINOSI BATTERICA

"the most common genital disorder in women of reproductive age"



Screening microbiologico pre-PMA



1. microbioma vaginale
2. microrganismi causa di IST e/o di infertilità

LINEE GUIDA CONTENENTI LE INDICAZIONI DELLE PROCEDURE E DE DI PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA

Art. 7 - Legge n. 40/2004

Screening per patologie infettive

In caso di tecniche di PMA di tipo omologo Si rinvia alla *Sezio trattamento/1.Donazione del partner/1.1 Screening per patologie infettive* d

Presidenza
del Consiglio dei Min

Accordo, ai sensi dell'articolo 6, comma 1, del decreto legislativo 6 novembre 2
Governo, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano sul docume
"Requisiti minimi organizzativi, strutturali e tecnologici delle strutture sanitarie aut
legge 19 febbraio 2004, n. 40 per la qualità e la sicurezza nella donazione, l'appro
controllo, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di cellul

SEZIONE C

Esami pre-trattamento

1. Donazione del partner

1.1 Screening per patologie infettive

Le coppie che si rivolgono ad un Centro per un trattamento di procreazione
assistita devono aver effettuato prima di iniziare il trattamento i test per ricerca
Anticorpi anti HIV

I campioni di sangue vanno prelevati non oltre 90 giorni prima dell'inizio
ripetuti ogni sei mesi durante il trattamento. Nel caso di crioconserva

CONFERENZA DELLE REGIONI E DELLE PROVINCE A

DOCUMENTO SULLE PROBLEMATICHE RELATIVI
FECONDAZIONE ETEROLOGA A SEGUITO DELLA SENTI
CORTE COSTITUZIONALE NR. 162/2014

Test e screening per controllo dei do

Analisi di laborato

- HBsAg o HBV-NAT, HBs Ab, HBcAb Ig
- Ab anti HCV Ab o HCV-NAT
- HIV 1/2 ab (IV generazione) o HIV-NAT
- Ab anti-Citomegalovirus IgG, IgM
- TPHA-VDRL
- HTLV I e II (L'esame degli anticorpi HTLV va effettuato sui donator aree ad alta prevalenza o ne sono originari o i cui partner sessuali pro

I campioni di sangue vanno prelevati al momento di ogni singola donaz a distanza superiore di 90 giorni

DOCUMENTO SULLE PROBLEMATICHE RELATIVI
FECONDAZIONE ETEROLOGA A SEGUITO DELLA SENTI
CORTE COSTITUZIONALE NR. 162/2014

Test e screening per controllo dei do

Oltre agli esami sierologici i donatori di gameti maschili dovranno essere s

- Spermiocoltura, urinocoltura, ricerca di Neisseria ~~Gonorrhoeae~~, Hominis, Ureaplasma Urealyticum, Chlamydia Trachomatis nel liqui

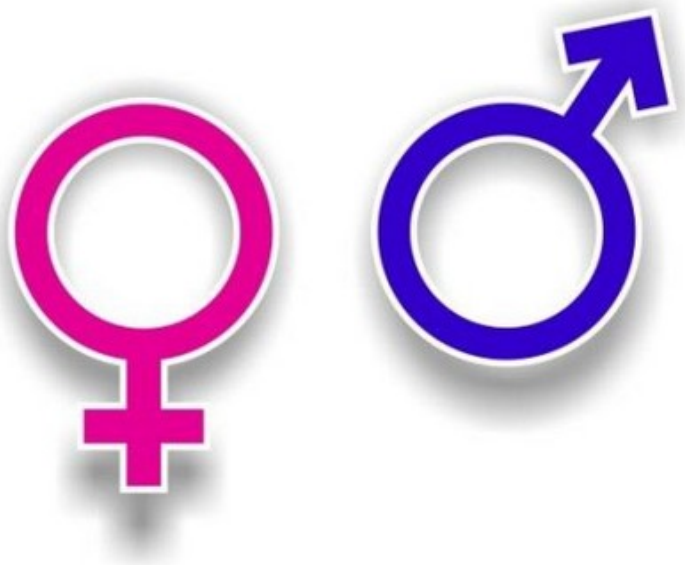
???

Donatrici di gameti femm

- Tampone vaginale e cervicale con ricerca di Neisseria ~~Gonorrhoe~~ Hominis, Ureaplasma Urealyticum, Chlamydia Trachomatis.

Inoltre sono consigliabili un PAP-test o HPV-test ed un'ecografia ma nell'ultimo anno.

PROPOSTA AMCLI



“Il diritto di contare” di Theodore Melfi

Tampone vaginale

Esame microscopico dopo colorazione di Gram (score di Nugent)

Laboratory examination of vaginal smears and the determination of the Nugent Score N Score = The sum of the scores for each bacterial morphotype listed below. (Note Number of Organisms seen / 100X objective)						
Lactobacilli	SCORE	*Gardnerella, Bacteroides*	SCORE	Curved gram-negative bacilli	SCORE	Sum=*N-SCORE
30 or >	0	0	0	0	0	0
5-30	1	<1	1	<1	1	3
1-4	2	1-4	2	1-4	1	5
<1	3	5-30	3	5-30	2	8
0	4	30 or >	4	30 or >	2	10

In studio metodi molecolari per la diagnosi di VB
(molti microrganismi non coltivabili)

Se VB positivo  TERAPIA

Tampone cervicale

Ricerca di:

Microrganismo	Note
Neisseria gonorrhoeae	Se positivo: TERAPIA
Chlamydia trachomatis	Se positivo: TERAPIA
Trichomonas vaginalis	Se positivo: TERAPIA
Mycoplasma genitalium	Se positivo: TERAPIA
Mycoplasma hominis	Se positivo: referto commentato
Ureaplasma urealyticum	Se positivo: referto commentato
Ureaplasma parvum	Se positivo: referto commentato
HPV	PAP test o HPV-DNA nell'ultimo anno

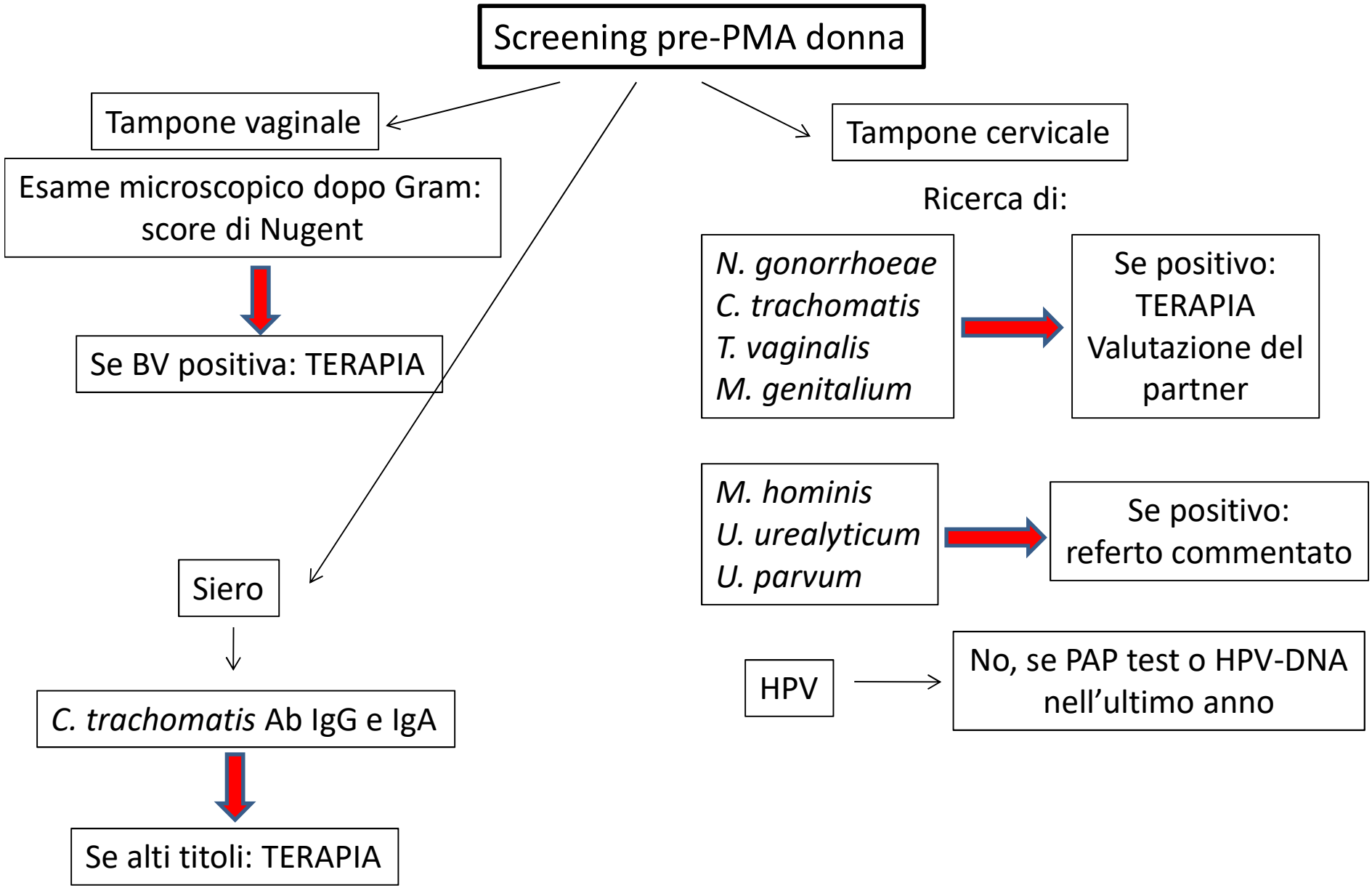
Consigliato test dopo terapia (dopo 30 gg dal test molecolare)

Siero

C. trachomatis: determinazione di IgG e IgA

Titoli elevati possono indicare localizzazione tubarica

 TERAPIA



Consigliato test dopo terapia (dopo 30 gg dal test molecolare)


ALEP

Liquido seminale (preceduto da raccolta urine primo mitto 10 ml)

In entrambi i campioni:

esame colturale batteri Gram+ e Gram- (conta, identificazione e ABG)

Confronto risultati. Se conta LS vs U >10^3 UFC/mL → TERAPIA

Ricerca in entrambi i campioni di:

Microrganismo	Note
Neisseria gonorrhoeae	Se positivo: TERAPIA
Chlamydia trachomatis	Se positivo: TERAPIA
Trichomonas vaginalis	Se positivo: TERAPIA
Mycoplasma genitalium	Se positivo: TERAPIA
Mycoplasma hominis	Se positivo: TERAPIA
Ureaplasma urealyticum	Se positivo: TERAPIA
Ureaplasma parvum	Se positivo: TERAPIA???
HPV nel liquido seminale	Opzionale

Consigliato test dopo terapia (dopo 7 gg o dopo 30 gg dal test molecolare)

Screening pre-PMA uomo

In caso di sospetta uretrite, epididimite o prostatite → Relative lineeguida

Se spermiogramma anomalo e/o leucocitospermia

↓

Liquido seminale (preceduto da raccolta urine primo mitto 10 ml)

In entrambi i campioni:

esame colturale batteri Gram+ e Gram- (conta, identificazione e ABG)

Confronto risultati. Se conta LS vs U >10^3 UFC/mL → TERAPIA

Ricerca in entrambi i campioni di:

N. gonorrhoeae
C. trachomatis
T. vaginalis
M. genitalium
M. hominis
U. urealyticum

→ Se positivo: TERAPIA Valutazione del partner

U. parvum → Se positivo: TERAPIA???

Liquido seminale

HPV → Ricerca?

Consigliato test dopo terapia (dopo 7 gg o dopo 30 gg dal test molecolare)

Questioni irrisolte

- standardizzazione dei protocolli
- standardizzazione delle metodiche
- scarsità di test molecolari validati per LS
- tempistica dei prelievi

“Tutto quello che avreste voluto sapere sul sesso (e non avete osato chiedere)” di Woody Allen

XLVI Congresso Nazionale AMCLI

11 - 14 Novembre 2017

Palacongressi di Rimini

Sessione VIII. Verso un protocollo microbiologico nella Procreazione Medicalmente Assistita (PMA)

Test microbiologici

Guido Scalia
Università degli Studi di Catania

La gravidanza per PMA è più “preziosa”?

Logicamente ogni gravidanza è “preziosa”

di per sé

ma quella da PMA è più “sofferta”

Quella da PMA *È* "programmata"
e come tale POSSONO essere valutati
E PREVENUTI
i fattori di rischio che possono complicare
una gravidanza
NON MEDICALMENTE assistita

La parola *medicalmente* ci
“IMPONE”
di porre particolare attenzione
nel ridurre, prevenendoli,
questi fattori di rischio,
specie quelli infettivi

a) Profilassi attiva

(vaccinazioni, quando disponibili)

b) Corretta consulenza

In conclusione, quindi,

vi prego

di tener conto di questo

diagramma di flusso.

Sarebbe indispensabile per qualsiasi gravidanza

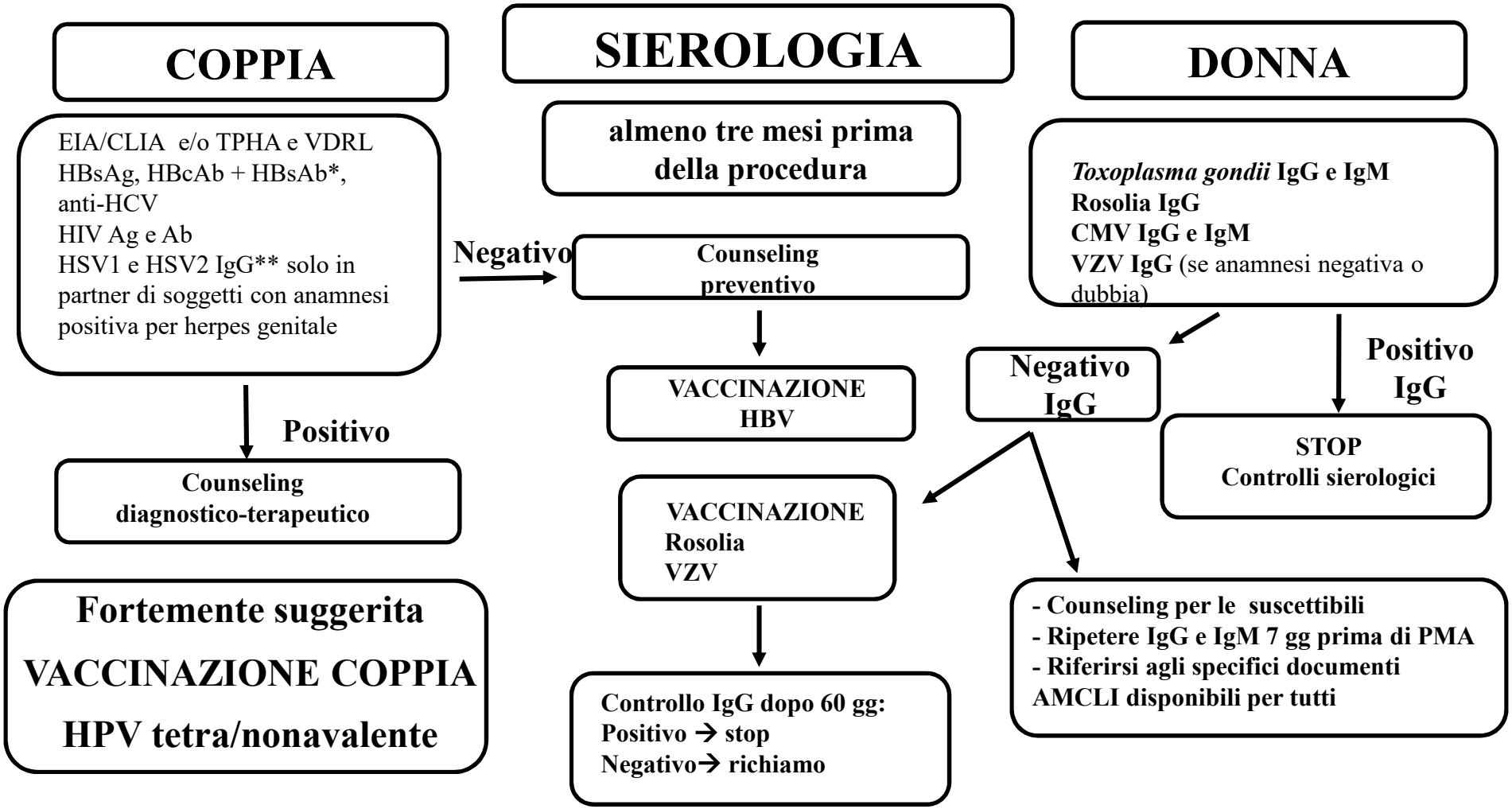
fin dal primo approccio con la coppia

ma nelle coppie che si “rivolgono” alla PMA

abbiamo un vantaggio:

possiamo fare prevenzione perché

le vediamo prima!


SIEROLOGIA
almeno tre mesi prima della procedura
COPPIA
EIA/CLIA e/o TPHA e VDRL
HBsAg, HBcAb + HBsAb*,
anti-HCV
HIV Ag e Ab
HSV1 e HSV2 IgG** solo in partner di soggetti con anamnesi positiva per herpes genitale
Positivo
Counseling diagnostico-terapeutico
Fortemente suggerita
VACCINAZIONE COPPIA
HPV tetra/nonavalente
Negativo
Counseling preventivo
VACCINAZIONE HBV
VACCINAZIONE
Rosolia
VZV
Controllo IgG dopo 60 gg:
Positivo → stop
Negativo→ richiamo
DONNA
Toxoplasma gondii IgG e IgM
Rosolia IgG
CMV IgG e IgM
VZV IgG (se anamnesi negativa o dubbia)
Negativo IgG
Positivo IgG
STOP
Controlli sierologici
- Counseling per le suscettibili
- Ripetere IgG e IgM 7 gg prima di PMA
- Riferirsi agli specifici documenti AMCLI disponibili per tutti

Questioni irrisolte

- ❑ standardizzazione dei protocolli
- ❑ standardizzazione delle metodiche
- ❑ scarsità di test molecolari validati per LS
- ❑ tempistica dei prelievi