associazione
microbiologi
clinici italiani

Ente del Terzo Settore

Rif.2022-20

PERCORSO DIAGNOSTICO

INFERTILITA' DI COPPIA NELLA PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA (PMA)

Gruppo di Lavoro Organizzativo dei Percorsi Diagnostici (GLOPD)

Coordinatore: Cristina Giraldi
c.giraldi54@gmail.com
Proprietà intellettuale di AMCLI ETS.

Nel caso i contenuti siano utilizzati è necessario citare il Percorso Diagnostico nel seguente modo: AMCLI ETS. Percorso Diagnostico - Infertilita' di coppia nella procreazione medicalmente assistita (pma) Rif. 2022-20.

Associazione Microbiologi Clinici Italiani ETS (AMCLI ETS)
Via C. Farini 81 - 20159 Milano - T. 02 66801190 - segreteriaamcli@amcli.it N. 26168 iscrizione RUNTS - sez. "G - altri enti del Terzo Settore" - Iscrizione REA MI - 1969948 C.F. 06653690153 - P.I. 12404560158

REFERENTE

Valeria Meroni - Dipartimento di Medicina Molecolare, Università di Pavia, Sc Microbiologia e Virologia, Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo,Pavia - Gruppo di Lavoro Infezioni a Trasmissione Verticale – (GLITRAVE) AMCLI

ESTENSORI DEL DOCUMENTO:

Maria Agnese Latino - GdL per le Infezioni Sessualmente Trasmissibili, (GLIST) AMCLI

Alessandra Sensini - GLIST AMCLI

Francesco De Seta - Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università degli Studi di Trieste, IRCCS Burlo Garofolo,Trieste - GLIST AMCLI

Christian Leli - Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedaliera SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo, Alessandria

Maurizio Zavattoni - GLITRAVE AMCLI

Patrizia Cambieri - Microbiologia e Virologia, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo - Pavia

Andrea Garolla - Andrologia e Medicina della Riproduzione, Dipartimento di Medicina, A.O.-Università di Padova - Società Italiana di Andrologia e Medicina della Sessualità (SIAMS)

Guido Scalia -Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotechnologiche, Università di Catania, S.C. Laboratorio Analisi, A.O.U. Policlinico "G. Rodolico-San Marco" Catania

Gabriella Zito -Istituto per la salute della madre e del bambino, IRCCS Burlo Garofolo,Trieste - Società Italiana di fertilità e sterilità & medicina della riproduzione (SIFES-MR)

Sommario

1. INTRODUZIONE 4
2. INFERTILITÀ FEMMINILE EPIDEMIOLOGIA, CLINICA E PATOGENESI 5
3. INFERTILITÀ MASCHILE EPIDEMIOLOGIA, CLINICA E PATOGENESI 6
4. PROTOCOLLO MICROBIOLOGICO NELL'INFERTILITÀ DI COPPIA 8
4.1 PROTOCOLLO MICROBIOLOGICO PER LA DONNA 8
4.2 PROTOCOLLO MICROBIOLOGICO PER L'UOMO 9
5. MODALITÀ DI PRELIEVO DEI CAMPIONI DELL'APPARATO GENITALE FEMMINILE 11
5.1 PRELIEVO VAGINALE 11
5.2 PRELIEVO CERVICALE 11
5.3 INDAGINI MICROBIOLOGICHE 11
5.3.1 ESAME MICROSCOPICO DEL FLUIDO VAGINALE DOPO COLORAZIONE DI GRAM 11
5.3.2 ESAME MICROBIOLOGICO DEL FLUIDO CERVICALE 11
5.3.3 TEST SIEROLOGICO PER LA RICERCA DI ANTICORPI IgG E IgA VERSO C.trachomatis 12
6. MODALITÀ DI PRELIEVO DEI CAMPIONI DELL'APPARATO UROGENITALE MASCHILE 12
6.1 INDAGINI MICROBIOLOGICHE 12
6.1.1 ESAME COLTURALE DELLE URINE 1° GETTO 12
6.1.2 ESAME COLTURALE DEL LIQUIDO SEMINALE 12
6.1.3 RICERCA DI HPV-DNA NEL LIQUIDO SEMINALE 13
6.1.4 URINA 1° GETTO E LIQUIDO SEMINALE 13
6.1.5 VALIDITÀ DEGLI ESAMI MICROBIOLOGICI 13
7. PROTOCOLLO PER LA DIAGNOSI E LA PREVENZIONE DELLE INFEZIONI DA AGENTI DEL COMPLESSO TORCH 14
7.1 INTRODUZIONE 14
7.2 PER LA COPPIA (DIAGRAMMA DI FLUSSO 1) 14
7.3 PER LA DONNA (DIAGRAMMA DI FLUSSO 2) 15
7.3.1 Toxoplasma gondii 15
7.3.2 Sifilide 15
7.3.3 Virus dell'epatite B (HBV) e C (HCV) 15
7.3.4 Virus varicella-zoster (VZV) 16
7.3.5 HIV 16
7.3.6 Virus della rosolia (RV) 17
7.3.7 Citomegalovirus (CMV) 17
7.3.8 Herpes simplex (HSV) 18
7.4 PREVENZIONE DELLA TOXOPLASMOSI IN PAZIENTE SIERONEGATIVA 18
7.5 PREVENZIONE DELL'INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUSI IN PAZIENTE SIERONEGATIVA 19
8. BIBLIOGRAFIA 20

1. INTRODUZIONE

La scelta della stesura di un percorso microbiologico, condiviso con ginecologi ed andrologi, che affronti il problema dell'infertilità di coppia, nasce dalla necessità di sopperire alla carenza di linee guida aggiornate, sia nazionali che internazionali, che forniscano indicazioni precise su quali campioni prelevare, quali microrganismi cercare, come cercarli e come e quando trattarli.

Ad oggi, esistono, numerose linee guida emanate da Società Scientifiche che si occupano di medicina della riproduzione, che riguardano le procedure di procreazione medicalmente assistita (PMA), ma tutte trascurano completamente o quasi l'aspetto microbiologico. In mancanza di tali indicazioni, ogni centro che si occupa della diagnosi e della cura dell'infertilità applica protocolli che spesso risultano essere molto diversi fra di loro.

Per questo motivo, anche i risultati ottenuti sono difficilmente comparabili. In questo contesto, è possibile che il ruolo di alcuni microrganismi venga sottostimato e quello di altri sopravalutato.

È noto, infatti, che alcuni possono avere un ruolo patologico ed altri non averlo, rappresentando soltanto dei commensali contaminanti. In quest'ultimo caso si corre il rischio di trattamenti antibiotici inutili e talvolta dannosi, a maggior ragione in un'epoca di crescente e preoccupante incremento di antibiotico-resistenza di alcuni batteri.

In un mondo in cui il 95% degli adulti esprime un desiderio di genitorialità, l'infertilità di coppia riguarda circa l'8-12% delle coppie in età riproduttiva, raggiungendo il 30% in alcune popolazioni dei Paesi di Europa centrorientale, Africa del Nord e subsahariana, Medio Oriente e Asia centro-meridionale.

Ad influenzare la probabilità di una gravidanza spontanea sono principalmente tre fattori: l'arco di tempo in cui la coppia ricerca la gravidanza, l'età (soprattutto della donna) e l'eziologia alla base della diagnosi di infertilità.

Parallelamente ai tre cardini appena elencati, la fertilità dipende da altrettanti plurimi fattori, che la rendono un concetto complesso tanto quanto la sua stessa cura.

Pertanto, a fronte di una diagnosi di infertilità, è necessario mettere in atto un corretto percorso diagnostico-terapeutico, condiviso tra gli esperti, al fine di aumentare le probabilità di successo e ridurre al massimo il fardello psicologico ed economico per la coppia, nonché gli elevati costi per il Sistema Sanitario.

Le infezioni genitali, in atto o pregresse, rappresentano un importante fattore di rischio, in parte noto e in parte tuttora da chiarire, nell'infertilità di coppia.

È noto che le infezioni a trasmissione sessuale (IST) costituiscono uno dei più seri problemi di sanità pubblica globali, sia nei Paesi industrializzati sia in quelli in via di sviluppo.

L'incidenza risulta in continuo aumento, in particolare a causa della maggiore mobilità e della tendenza ad avere rapporti sessuali sempre più precocemente e con più partner.

2. INFERTILITÀ FEMMINILE EPIDEMIOLOGIA, CLINICA E PATOGENESI

Secondo i dati pubblicati nel 2019 dalla *World Health Organization*, sono più di un milione le IST acquisite ogni giorno in tutto il mondo.

Ogni anno si stimano 376 milioni di nuove infezioni, soprattutto quando ci riferiamo a *Chlamydia trachomatis* (127 milioni), *Neisseria gonorrhoeae* (87 milioni), *Trichomonas vaginalis* (156 milioni) e sono più di 290 milioni le donne positive per papilloma virus (HPV).

In particolare, secondo il Bollettino Epidemiologico Nazionale dell'Istituto Superiore di Sanità, la prevalenza italiana si attesta sul 3.7% per *C.trachomatis*, 0.8% per *T.vaginalis* e 0.5% per *N.gonorrhoeae*.

La vaginosi batterica rappresenta la patologia ginecologica ad eziologia infettiva più comune, interessando circa il 40-50% di tutte le donne.

Segue per frequenza la vulvo-vaginite da *Candida* spp.: secondo i *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), il 70-75% delle donne sperimenta almeno un episodio nell'arco della propria vita.

Risultano frequenti anche le infezioni dai micoplasmi genitali (*Mycoplasma genitalium, Mycoplasma hominis, Ureaplasma parvum e Ureaplasma urealyticum*) e la vaginite aerobia, pur non godendo di altrettanto chiare conoscenze scientifiche rispetto alle precedenti.

Donne sessualmente attive presentano nel 40-80% *Ureaplasma* spp., 20-50% *M.hominis*, 0-5% *M.genitalium* e nel 7-13% diagnosi di vaginite aerobia.

Vaginosi batterica, vaginite aerobia e infezioni da micoplasmi, tranne *M.genitalium*, non rientrano con certezza fra le malattie a trasmissione sessuale, sebbene rapporti intimi ne incrementino lo *sharing*.

Di fatto, vaginosi batterica, vaginite aerobia e candidosi sembrano più essere frutto di uno squilibrio della popolazione microbica vaginale, mentre il potenziale patogeno degli altri micoplasmi non è ancora chiaro.

Le infezioni genitali minano la fertilità e una cospicua parte di queste può persistere in maniera del tutto asintomatica.

Il 36% dei casi di infertilità femminile risiede nell'esito cicatriziale obliterante le tube, in gergo "fattore tubarico", prevalentemente post PID (*Pelvic Inflammatory Disease*), nel 70% dei casi attribuibile a IST.

Un'infezione che coinvolga l'apparato genitale può essere motivo di infertilità, come potenziale impedimento all'unione dei gameti così come all'impianto o allo sviluppo embrionale, portando la coppia a rivolgersi a centri per la PMA.

Le patologie infettive ginecologiche si intrecciano dunque con il percorso della PMA, in modo ancora da chiarire, dall'inquadramento diagnostico, all'incremento dei rischi delle procedure e fino all'esito della procedura stessa.

3. INFERTILITÀ MASCHILE EPIDEMIOLOGIA, CLINICA E PATOGENESI

Il 50% dei casi di mancato concepimento è correlato ad un fattore maschile di infertilità.

Si stima che le malattie sessualmente trasmissibili in grado di interferire con la fisiologia del sistema riproduttivo maschile, alterando i parametri seminali classici quali motilità, concentrazione, morfologia e numero, siano la causa di oltre il 15% dei casi di infertilità maschile

Inoltre, è noto che in circa la metà dei casi tali infezioni sono grado di compromettere la fertilità senza modificare significativamente i parametri seminali ed in circa un terzo dei pazienti sono asintomatiche.

Le linee guida dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) per la gestione dell'infertilità maschile comprendono l'indagine microbiologica e la diagnostica relativa alle infezioni delle ghiandole accessorie maschili (MAGI), ovvero delle ghiandole dell'apparato riproduttivo maschile.

Le MAGI comprendono orchiti, epididimiti, vescicoliti, prostatiti e uretriti, che sono cause potenzialmente reversibili di infertilità nel maschio. Il danno seminale può essere indotto anche dall'azione diretta dei germi attraverso la liberazione di prodotti di natura batterica e da metaboliti tossici generati dai microorganismi stessi, oppure da leucociti seminali, radicali liberi dell'ossigeno e citochine che spesso vengono rilasciati a seguito dell'infezione.

Secondo le raccomandazioni dell'OMS, l'anamnesi, l'esame obiettivo e lo spermiogramma, giocano un ruolo cruciale per suggerire una valutazione microbiologica al maschio partner di una coppia infertile.

Tuttavia, lo studio microbiologico del partner viene ritenuto fondamentale in tutti i casi in cui una coppia sia candidata a procedure di PMA, anche in presenza di normali parametri seminali.

Lo spermatozoo può essere danneggiato da numerosi agenti patogeni sia Gram positivi che Gram negativi, quali ad esempio *Enterococcus* spp, *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli, Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp, *Proteus* spp, *Pseudomonas* spp, *Ureaplasma* spp *e Chlamydia trachomatis*.

Dal momento che la diagnosi microbiologica serve a dare una connotazione etiologica al sospetto clinico di una MAGI, va ricordato che secondo la letteratura internazionale sono considerati "patogeni prostatici certi" *le Enterobacterales (Escherichia coli, Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp, *Proteus* spp*), Pseudomonas* spp, *C.trachomatis* e *Ureaplasma* spp.

Sono considerati "patogeni probabili" o "occasionalmente patogeni" microrganismi Gram positivi quali *Enterococcus* spp e *Staphylococcus aureus* se presenti in carica microbica significativa.

Vengono descritti come "patogeni possibili" batteri anaerobi e stafilococchi coagulasi negativi (come ad esempio *Staphylococcus epidermidis*), quando non si associano a chiari criteri diagnostici di MAGI.

Inoltre, studi recenti depongono per una significativa associazione tra infertilità maschile e micoplasmi, ed in particolare *M.genitalium, M.hominis, U.urealyticum* e *U.parvum*.

Infine, negli ultimi anni è stata riportata una maggiore prevalenza dell'infezione da HPV nei pazienti infertili rispetto agli uomini fertili (20,4% vs 11,4%).

Inoltre, una meta-analisi di studi osservazionali ha mostrato che i pazienti con infezione seminale da HPV hanno parametri seminali convenzionali significativamente peggiori ed un tasso di aborti più elevato rispetto ai soggetti non infetti.

Altri dati meta-analitici, inoltre, supportano l'associazione tra infezione da HPV e asteno-teratozoospermia, presenza di anticorpi anti-spermatozoo, elevata frammentazione del DNA spermatico ed elevato tasso di aborti spontanei in coppie infertili sottoposte a PMA di I e II livello.

Alla luce di questi dati, nel 2021 la Società Europea di Riproduzione Umana ed Embriologia (ESHRE), ha affrontato nelle sue "Linee guida sulla fecondazione assistita in coppie con infezioni virali", la problematica dell'HPV. Nelle conclusioni viene riportato che nelle coppie candidate a PMA è utile ricercare l'HPV nel liquido sminale del partner, poiché l'infezione a questo livello è in grado di compromettere il risultato delle tecniche di fecondazione assistita.

AMCLI associazione microbiologi clinici italiani
Ente del Terzo Settore

4. PROTOCOLLO MICROBIOLOGICO NELL'INFERTILITÀ DI COPPIA

4.1 PROTOCOLLO MICROBIOLOGICO PER LA DONNA

La valutazione delle possibili cause di infertilità inizia con una accurata anamnesi e con un esame obiettivo volti ad individuare la presenza di patologie a livello dell'apparato genitale, quali vaginite, vaginosi o cervicite. In quel caso l'iter diagnostico microbiologico segue le indicazioni dei relativi percorsi diagnostici presenti nel sito AMCLI.

uttavia, alcune delle patologie sopra descritte possono decorrere in maniera del tutto asintomatica ed avere comunque un impatto negativo sulla riproduzione.

L'esame microbiologico dell'apparato genitale femminile inizia con l'esame microscopico dopo colorazione di Gram del fluido vaginale, che rimane insostituibile e fornisce preziose informazioni sugli elementi cellulari e microbici della vagina.

Va ricercata e segnalata la presenza di leucociti, cluecells, blastospore e/o pseudoife, cocchi Gram+ e/o batteri Gram- e cellule epiteliali para basali.

a questa osservazione, è possibile calcolare lo score di Nugent (o score secondo criteri simili) per la diagnosi di vaginosi batterica e lo score per la diagnosi di vaginite aerobia.

Tuttavia, nei casi in cui la diagnosi di vaginosi batterica non sia chiaramente definita, è opportuno ricorrere a test molecolari, che rilevano, oltre ai microrganismi responsabili, alcuni non coltivabili, anche la composizione della popolazione lattobacillare.

Il confronto fra i diversi elementi sopra elencati serve ad individuare l'eventuale dismicrobismo vaginale, che rappresenta un ostacolo alla fecondazione.

Il fluido cervicale viene esaminato per la ricerca di microrganismi responsabili di infezioni sessualmente trasmissibili, che possono anch'esse decorrere in maniera asintomatica, soprattutto nelle donne.

Tali microrganismi sono *C.trachomatis, N.gonorrhoeae, T.vaginalis e M.genitalium.*

I test molecolari in formato multiplex consentono la rilevazione contemporanea di tutti questi patogeni in una unica seduta.

Sono disponibili in commercio varie tipologie di amplificazione su varie piattaforme.

L'assenza di *C.trachomatis* non esclude una precedente infezione, che sia risalita alle alte vie. Pertanto, è consigliabile eseguire un test sierologico per la ricerca di IgG e IgA specifiche. Un titolo >2 volte il cut-off del test indica localizzazione tubarica.

La positività per *N.gonorrhoeae* andrebbe confermata con altro test molecolare a target diverso, poiché la bassa prevalenza in questo tipo di popolazione ne diminuisce la specificità.

Inoltre, a causa del crescente aumento della resistenza ai farmaci antibatterici, in caso di positività si consiglia l'esame colturale e successivo antibiogramma.

Gli altri micoplasmi genitali, *M.hominis, U.parvum ed U.urealyticum*, sono abitualmente compresi nel pannello di test molecolari, ma meritano alcune considerazioni.

Mycoplasma hominis è rilevato frequentemente in caso di vaginosi, in quanto è stato dimostrato che stabilisce una relazione di tipo sinergico con *Gardnerella vaginalis. U.parvum* in percentuale nettamente maggiore e *U.urealyticum* in grado minore colonizzano la vagina e non sono associati a specifiche patologie.

Come tali non vanno ricercati, secondo quanto riportato dal documento redatto *dall'European STI Guidelines Editorial Board*, pubblicato nel 2018.

Tuttavia, data la dimostrata capacità di praticamente tutti i Micoplasmi di provocare anomalie dello sperma, può essere giustificata la ricerca e l'eradicazione degli stessi dall'ambiente vaginale della donna in casi di partner positivo.

Va, infine eseguita la ricerca di HPV, a meno che non si abbia un risultato negativo al test per HPV-DNA o al Pap-test nell'ultimo anno.

4.2 PROTOCOLLO MICROBIOLOGICO PER L'UOMO

La valutazione delle possibili cause di infertilità inizia con una accurata anamnesi e con un esame obiettivo volti ad individuare la presenza di patologie a livello dell'apparato genitale.

È particolarmente importante la diagnostica delle MAGI, sopra citate, che comprendono: uretriti, orchiti, epididimiti, vescicoliti e prostatiti.

In questo caso l'iter diagnostico microbiologico segue le indicazioni dei relativi percorsi diagnostici presenti nel sito AMCLI e nelle linee guida delle relative società scientifiche. In tutti i soggetti candidati a PMA si dovrebbe procedere all'esame microbiologico del liquido seminale.

Nella stesura di questo percorso si è ritenuto opportuno introdurre l'esame microbiologico di un altro campione, cioè di un campione del primo getto di urine (circa 10 mL), la cui raccolta deve precedere quella del liquido seminale.

Questa procedura è già citata in alcune pubblicazioni, ma non compare nelle linee guida, che, come già detto, sono estremamente carenti per quanto riguarda la parte microbiologica.

Tuttavia, si ritiene fondamentale introdurre questo campionamento come controllo microbiologico. Il razionale di questa scelta risiede nel fatto che il liquido seminale non è un campione sterile e, durante il suo passaggio nell'uretra, trascina e porta con sé i batteri che fisiologicamente colonizzano tale distretto.

Come conseguenza, si possono isolare germi a bassa carica e anche avere campioni polimicrobici, che potrebbero non indicare una vera batteriospermia, ma una contaminazione, e che potrebbero spingere il medico ad un trattamento antibiotico non appropriato, nonché potenzialmente dannoso.

L'urina primo getto lava l'uretra e serve da controllo, perché permette di confrontare i batteri isolati e le relative cariche con quelli isolati nel liquido seminale.

Inoltre, l'urina primo getto è ormai considerato il campione biologico di scelta per la diagnosi di IST con metodi molecolari, data l'elevata sensibilità di questi test.

Entrambi i campioni vengono seminati sugli idonei terreni per l'isolamento di batteri Gram positivi e Gram negativi. In caso di coltura positiva, si procede all'identificazione, alla conta (UFC/mL) e ai test di suscettibilità agli antibiotici.

In mancanza di un valore soglia di positività approvato, si ritiene significativa una carica microbica nel liquido seminale superiore di almeno 10^3 UFC/mL rispetto a quella presente nelle urine.

Tale valore è suggerito dall'EAU *Guidelines on Male Infertility* 2021. Qualsiasi batterio rispondente a questi requisiti deve essere preso in considerazione. Infatti, poiché tutti i germi potenzialmente possono risalire le vie seminali e provocare prostatite, così tutti possono essere causa di alterazioni seminali. Inoltre, ambedue i campioni devono essere esaminati per la presenza di microrganismi causa di IST.

E' consigliabile anche in questo caso l'uso di test molecolari in formato multiplex per la determinazione in un'unica seduta di *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis* e dei 4 micoplasmi genitali.

Vale anche in questo caso la raccomandazione che in caso di positività per *N. gonorrhoeae*, si proceda con un altro test molecolare a diverso target. Nel caso dell'infertilità maschile, oltre a *M. genitalium*, un patogeno franco, anche la presenza degli altri Micoplasmi va presa in considerazione, poiché molti studi dimostrano la loro responsabilità nel provocare anomalie dello sperma.

Poiché tali Micoplasmi derivano frequentemente dall'ambiente vaginale, potrebbe essere consigliabile la loro ricerca nella partner per un'eventuale terapia di coppia, al fine di evitare l'effetto ping-pong.

Nelle coppie candidate a PMA dovrebbe essere eseguita la ricerca di HPV nel liquido seminale. Nel caso in cui il test risulti positivo, andrebbe eseguita un'analisi FISH (ibridazione in-situ con sonde fluorescenti) per HPV nel liquido seminale, al fine di valutare la presenza di virus adeso agli spermatozoi.

Nei pazienti con indagine positiva e candidati a PMA, sarebbe utile utilizzare una tecnica modificata di selezione spermatica mediante *swim-up* che preveda l'impiego dell'enzima ialuronidasi, una sostanza in grado di staccare il virus dalla superficie degli spermatozoi.

AMCLI associazione microbiologi clinici italiani
Ente del Terzo Settore

5. MODALITÀ DI PRELIEVO DEI CAMPIONI DELL'APPARATO GENITALE FEMMINILE

5.1 PRELIEVO VAGINALE

Affinché il prelievo vaginale risulti idoneo, è necessario che la paziente si attenga alle seguenti indicazioni:

- non avere rapporti sessuali nelle 24 ore precedenti l'esame,
- non essere in periodo mestruale,
- non eseguire irrigazioni vaginali nelle 24 ore precedenti l'esame,
- aver cessato qualsiasi terapia antimicotica o antibiotica, locale o sistemica, da almeno 7 giorni.

Il prelievo del fluido vaginale viene effettuato a livello del fornice posteriore, dopo introduzione di uno speculum bivalve, mediante tampone che viene strisciato su un vetrino portaoggetti per il successivo esame microscopico dopo colorazione di Gram per l'osservazione di morfologie batteriche e cellulari.

5.2 PRELIEVO CERVICALE

Il prelievo cervicale deve essere eseguito almeno 3-4 giorni dopo la fine delle mestruazioni. La paziente deve aver sospeso ogni terapia antibiotica almeno da una settimana (30 gg nel caso in cui la diagnosi venga effettuata mediante tecniche di amplificazione degli acidi nucleici).

Il prelievo deve essere effettuato a livello endocervicale, previa introduzione di uno speculum bivalve sterile, nel modo seguente:

- rimuovere l'eccesso di muco cervicale mediante un tampone "a secco";
- inserire un secondo tampone, preferibilmente floccato, nell'endocervice per circa 1 cm e ruotare per qualche secondo. Per la ricerca di *C.trachomatis* il tampone va inserito per 1,5 cm oltre la giunzione squamo-colonnare.

5.3 INDAGINI MICROBIOLOGICHE

5.3.1 ESAME MICROSCOPICO DEL FLUIDO VAGINALE DOPO COLORAZIONE DI GRAM

Deve essere segnalata la presenza di leucociti, *clue cells*, blastospore e/o pseudoife, cocchi Gram positivi e/o batteri Gram negativi, cellule epiteliali parabasali.

In base ai riscontri, è possibile determinare lo score di Nugent (o score equivalenti) e verificare la presenza di dismicrobismo vaginale, nella maggior parte dei casi dovuto a vaginosi batterica.

Tuttavia, la diagnosi di vaginosi può essere difficile in caso di quadri non chiari, per cui in questi casi è consigliabile ricorrere all'uso di test molecolari, che oltre a rilevare la presenza di batteri responsabili di vaginosi, forniscano indicazioni sulla popolazione lattobacillare.

5.3.2 ESAME MICROBIOLOGICO DEL FLUIDO CERVICALE

Il materiale prelevato con il tampone viene utilizzato per la ricerca di microrganismi responsabili di infezioni sessualmente trasmissibili.

È consigliabile utilizzare test molecolari in formato multiplex, che in un'unica seduta permettono la rilevazione di *C.trachomatis, N.gonorrhoeae, T.vaginalis, M.genitalium, M.hominis, U.parvum e U.urealyticum.*

Come già detto, la presenza di micoplasmi, eccetto *M.genitalium*, un patogeno franco, e la successiva terapia, va valutata in relazione alla presenza degli stessi nei campioni del partner.

È eseguita la ricerca di HPV-DNA. Tale ricerca non è effettuata, tuttavia, se la donna ha eseguito un Pap-test o la ricerca di HPV-DNA con esito negativo nell'ultimo anno.

5.3.3 TEST SIEROLOGICO PER LA RICERCA DI ANTICORPI IgG E IgA VERSO *C.trachomatis*

Si considera indicativa di localizzazione tubarica una concentrazione di anticorpi che superi di almeno 2 volte il cut-off del test in uso.

6. MODALITÀ DI PRELIEVO DEI CAMPIONI DELL'APPARATO UROGENITALE MASCHILE

L'uomo deve:

- lavare le mani e il pene con acqua e sapone
- sciacquare accuratamente
- asciugarsi le mani e il pene
- raccogliere il primo mitto di urine in un contenitore sterile
- terminare la minzione
- eiaculare in un contenitore sterile

I campioni per l'esame microbiologico dovrebbero essere consegnati al laboratorio entro 3 ore dalla raccolta.

associazione microbiologi clinici italiani
Ente del Terzo Settore

6.1 INDAGINI MICROBIOLOGICHE

6.1.1 ESAME COLTURALE DELLE URINE 1° GETTO

Seminare 100 µL per spatolamento sui seguenti terreni:

- agar sangue, agar Mac Conkey in aerobiosi a 35°C per 24-48 ore.
- agar cioccolato, agar CNA, in 5%CO_2a 35°C per 24-48 ore.

In caso di positività, eseguire i test di identificazione e di suscettibilità agli antibiotici.

E' importante riportare la conta in UFC/mL per il confronto con i risultati della coltura del liquido seminale.

Non abbiamo considerato significativa a questi fini la ricerca di miceti.

6.1.2 ESAME COLTURALE DEL LIQUIDO SEMINALE

Diluire 1 mL di liquido seminale 1:10 con soluzione fisiologica sterile

Centrifugare a 1500 giri per 15'

Eliminare il sopranatante e riportare il volume del campione a 1 mL

Vortexare e seminare 100 µL per spatolamento sui seguenti terreni:

- agar sangue,
- agar Mac Conkey in aerobiosi a 35°C per 24-48 ore

- agar cioccolato, agar CNA, agar Thayer Martin in 5%CO_2 a 35°C per 24-48 ore

In caso di positività, eseguire i test di identificazione e di suscettibilità agli antibiotici.

E' importante riportare la conta in UFC/mL per il confronto con i risultati della coltura delle urine 1° mitto.

I batteri isolati vengono considerati significativi in caso di conta superiore di 10^3 UFC/mL rispetto alla conta dei batteri isolati nel campione di urine.

Non abbiamo considerato significativa a questi fini la ricerca di miceti.

6.1.3 RICERCA DI HPV-DNA NEL LIQUIDO SEMINALE

Nel caso in cui il test risulti positivo, i centri PMA dovrebbero essere in grado di eseguire un'analisi FISH per HPV nel liquido seminale, al fine di valutare la presenza di virus adeso agli spermatozoi e, in caso di analisi FISH positiva in coppie candidate a PMA, utilizzare una tecnica modificata di selezione spermatica mediante *swim-up* che preveda l'impiego dell'enzima ialuronidasi per staccare il virus dalla superficie degli spermatozoi, come da metodica da De Toni et al.

6.1.4 URINA 1° GETTO E LIQUIDO SEMINALE

Ricerca mediante amplificazione genica in formato multiplex di:

C.trachomatis, *T.vaginalis*, *N.gonorrhoeae*, *M.genitalium*, *M.hominis*, *U.parvum* e *U.urealyticum*.

Per le relative procedure, seguire le indicazioni della ditta produttrice.

6.1.5 VALIDITÀ DEGLI ESAMI MICROBIOLOGICI

È di 6 mesi

associazione microbiologi clinici italiani
Ente del Terzo Settore

7. PROTOCOLLO PER LA DIAGNOSI E LA PREVENZIONE DELLE INFEZIONI DA AGENTI DEL COMPLESSO TORCH

7.1 INTRODUZIONE

Lo studio dell'infertilità della coppia prevede spesso tempi lunghi e, nella fase interlocutoria dell'espletamento di tutte le indagini necessarie per la definizione diagnostica, deve essere prevista la valutazione sierologica della coppia, e in particolar modo per la donna, delle infezioni che, se contratte in gravidanza possono essere associate a infezione congenita e malattia neonatale.

Ci si riferisce a queste infezioni come complesso TORCH, *Toxoplasma gondii*, Others: virus varicella-zoster, parvovirus B19, *Treponema pallidum*, HIV, virus epatite B e C, etc, virus della rosolia, citomegalovirus e herpes simplex tipo 1 e 2. Il rischio di infezione durante la gravidanza varia a seconda del patogeno e dipende dalla provenienza geografica, dalla prevalenza nella popolazione e dalle pratiche di prevenzione (vaccinazione e screening).

I test indicati di seguito dovrebbero essere eseguiti all'arruolamento in un Centro per lo studio dell'Infertilità e, in caso di dimostrata suscettibilità ad alcune infezioni, è opportuno consigliare provvedimenti di profilassi, ove possibile, e di prevenzione. Queste indagini sono particolarmente rilevanti nel momento in cui la coppia decida di avvalersi di una delle tecniche di PMA.

In caso di assenza di anticorpi, i test vanno ripetuti almeno tre mesi prima della prevista procedura di PMA e sette giorni prima della stessa. Ciò per consentire l'attuazione di una possibile profilassi specifica (vaccinazioni ove disponibili, o profilassi igienico-alimentare) o di un eventuale trattamento. Il prelievo da eseguirsi una settimana prima della procedura consente di escludere l'infezione almeno nei quindici-venti giorni precedenti e conferma una condizione di base per la quale potrà essere applicata la prevenzione adeguata.

Il percorso proposto di seguito sintetizza le indicazioni più opportune da fornire alla coppia per affrontare in modo consapevole un eventuale percorso di PMA. Particolari condizioni della coppia stessa (permanenza anche breve in zone a rischio per particolari malattie infettive per esempio Zika virus, eventuali condizioni epidemiche locali per esempio Parvovirus B19, specifici contatti, atteggiamenti o professione dei componenti la coppia) potrebbero richiedere indagini supplementari mirate, altrimenti non necessarie.

7.2 PER LA COPPIA (DIAGRAMMA DI FLUSSO 1)

Al primo accesso la **coppia** dovrebbe sottoporsi alle seguenti indagini sierologiche:

1. ricerca quantitativa di anticorpi anti-*Treponema pallidum* con tecniche EIA/CLIA o mediante TPHA/TTPA e VDRL/RPR, utilizzati anche come test di conferma
2. valutazione di marcatori per HBV (nello specifico HbsAg o anti-HbsAg in caso di pregressa vaccinazione) e HCV
3. ricerca di anticorpi e antigene per HIV
4. ricerca di IgG anti-HSV-1 e 2. In caso di anamnesi positiva per herpes genitale anche solo di uno dei due componenti della coppia.

In caso di assenza di immunità in entrambi, si effettua un *counseling* preventivo al fine di evitare alla coppia di venire in contatto con gli agenti infettanti valutati. Nel caso di assenza di immunità verso il virus dell'epatite B si raccomanda la vaccinazione specifica e successiva valutazione della risposta anticorpale.

Qualora si riscontrasse una positività, è impositivo il *counseling* diagnostico terapeutico a cura di un infettivologo o di un microbiologo clinico.

7.3 PER LA DONNA (DIAGRAMMA DI FLUSSO 2)

Al primo accesso la donna dovrebbe sottoporsi a controlli sierologici quantitativi per alcuni dei più comuni agenti infettivi, che possono rappresentare un rischio per il buon esito della gravidanza.

7.3.1 *Toxoplasma gondii*

La sieroprevalenza della Toxoplasmosi varia dall'11%-20% in Europa, Italia compresa, al 77% in Sudamerica, con una incidenza di infezione congenita di circa 10-33/100.000 nati vivi.Per la toxoplasmosi le linee guida per la gravidanza fisiologica del ministero della salute del 2010 /11 consigliano lo screening (gratuito) con la ricerca di IgG e IgM specifiche nel primo trimestre di gravidanza e, per le gravide non immuni, la corretta profilassi igienico alimentare e il successivo follow-up sierologico mensile fino al parto.

Nella donna che viene avviata ad una procedura di PMA i test di screening vanno eseguiti al momento dell'arruolamento.

Alle pazienti sieronegative vanno date indicazioni per la profilassi igienico alimentare e viene ripetuto un controllo sierologico una settimana circa prima della procedura di inseminazione per verificare l'assenza di infezione.

In caso di positività per IgG specifiche in assenza di IgM la paziente può essere considerata Immune e non necessita di ulteriori controlli. È preferibile considerare titoli IgG molto bassi come negativi e la donna suscettibile all'infezione. In presenza di IgM e di successiva sieroconversione o avidità delle IgG bassa/ intermedia è opportuno attendere 6-8 mesi prima dell'inseminazione.

7.3.2 Sifilide

La sieroprevalenza dell'infezione da *Treponema pallidum* (sifilide) va dallo 0,67% nel Nordamerica al 10% nell'Africa Centrale. In Italia, nel 2017 si attestava intorno al 2,7% con una incidenza di infezione congenita pari a 1.1/100.000 nati vivi.

Anche per la Sifilide le linee guida per la gravidanza fisiologica prevedono uno screening gratuito all'inizio della gestazione da effettuarsi possibilmente con un test treponemico (CLIA – ELISA- TPHA) ed in caso di positività con un test di conferma non treponemico quantitativo (VDLR–RPR). Il test viene ripetuto al termine della gestazione.

Ogni donna con reazione sierologica positiva per sifilide dovrebbe essere considerata infetta a meno che non sia già stata trattata e sia già stato dimostrato un declino dei titoli anticorpali.

Il farmaco di elezione è la penicillina G per via parenterale ed è anche l'unico farmaco con documentata efficacia nella terapia della infezione in gravidanza e nel prevenire la trasmissione materno-fetale. In caso di PMA, lo screening per sifilide va effettuato all'arruolamento e ripetuto una settimana prima della inseminazione. Nelle donne trattate con penicillina va eseguito un controllo a 6 mesi per valutare la riduzione del titolo anticorpale con un test non-treponemico.

7.3.3 Virus dell'epatite B (HBV) e C (HCV)

La sieroprevalenza globale del virus dell'epatite B (HBV) si attesta al 3,5% ed è più alta in Africa (6,1%) e nell'Europa dell'Est (3,3%), anche perché in queste zone del mondo la copertura vaccinale rimane sotto la media.

Per il virus dell'epatite C (HCV) la sieroprevalenza globale è dell'1% e va dall'1,1% dell'Europa ((Italia 0,2-0,5 per 100000 abitanti) allo 0,7% nel Nordamerica a allo 0,5 % in Asia. La sieroprevalenza più alta si registra nei paesi dell'Europa dell'Est ed è pari al 2,3%.

Lo screening prevede la determinazione di HbsAg, HBcAb, anti-HBsAg e HCV-Ab. In caso di negatività per i suddetti marcatori di HBV, si raccomanda la vaccinazione e successivo controllo della risposta anticorpale prima di sottoporre la paziente a PMA.

Nelle coppie HBsAg discordanti si raccomanda la vaccinazione del partner non immune. Se HCV positiva, va eseguito il dosaggio quantitativo di HCV RNA e va valutata la possibilità di eseguire terapia specifica con antivirale per 8 settimane con clearance della carica virale stimato entro 12 settimane dalla fine della terapia prima dell'arruolamento per PMA.

7.3.4 Virus varicella-zoster (VZV)

In Nord America ed Europa, più del 90% della popolazione contrae l'infezione da VZV prima dei 15 anni. Solo il 5-7% dei casi si verifica negli adulti, dove però la mortalità è circa il 35%.

In Italia la sieroprevalenza negli adulti è comunque inferiore a quella di molti Paesi europei, con conseguente maggiore percentuale di donne in gravidanza suscettibili all'infezione (12-13% contro 5%).

L'anamnesi può dare importanti informazioni sullo stato immunitario della donna in quanto il ricordo di varicella è predittivo di immunità nel 90-99% dei soggetti, almeno nei Paesi a clima temperato.

Anche il ricordo di una vaccinazione per la varicella può avere lo stesso significato, ma solo se sono state somministrate due dosi di vaccino (protezione ottenuta negli adulti: 99% con due dosi, 78% con una dose di vaccino).

Se manca il ricordo della malattia o della vaccinazione o se il ricordo è incerto oppure, ancora, se la donna proviene da Paesi tropicali (il ricordo di varicella è in questo caso meno predittivo di immunità rispetto alle donne nate in Paesi a clima temperato), è opportuno eseguire un test sierologico al momento dell'arruolamento per PMA per verificare lo stato immunitario per VZV.

Le donne con ricordo di varicella o di vaccinazione con 2 dosi di vaccino o con sierologia positiva per VZV-IgG possono essere rassicurate, perché verosimilmente immuni e non necessitano di ulteriori controlli.

Per le donne con sierologia negativa per VZV IgG sono raccomandati regimi vaccinali a due dosi, perché più efficaci rispetto a quelli a una dose sia in termine di protezione dalla malattia che di tasso di sieroconversione.

Essendo un vaccino costituito da virus vivo attenuato, è necessario attendere almeno un mese dall'ultima somministrazione prima di iniziare la procedura di PMA. Dopo la vaccinazione, la donna è da considerarsi immune. Pertanto, non è più necessario ripetere il test per VZV IgG

7.3.5 HIV

La diagnosi di infezione da HIV-1 è basata sulla rilevazione di anticorpi specifici (test di screening), seguito da un test di conferma (Western- o Immuno-Blot).

Come test di screening vengono raccomandati i saggi immunoenzimatici di ultima generazione, che associano la rilevazione di antigeni virali a quella degli anticorpi.

Una diagnosi precoce ed accurata dell'infezione da HIV è importante sia perché il paziente può beneficiare della terapia durante le prime fasi dell'infezione, sia perché il recupero immunologico risulta essere molto più efficace.

Poiché è stato dimostrato che la trasmissione dell'infezione, attraverso rapporti sessuali non protetti è quasi totalmente abolita quando la carica virale nel partner positivo è azzerata, il trattamento precoce ha come effetto la riduzione del contagio dei partners sessuali sieronegativi (treatment as prevention).

Nelle coppie discordanti uomo HIV-pos/ donna HIV–neg bisogna aver presente il rischio di trasmissione orizzontale. Nelle coppie donna HIV-pos /uomo HIV–neg una carica virale al di sotto della soglia di determinazione non esclude il rischio di trasmissione verticale, a cui si aggiunge il rischio di trasmissione orizzontale se il virus è presente nel sangue della partner positiva.

7.3.6 Virus della rosolia (RV)

La copertura vaccinale per rosolia in Italia risulta pari al 93,2% nel 2018 con una incidenza di rosolia congenita <1/100.000 nati vivi

Al momento dell'arruolamento, nelle donne con pregressa vaccinazione o pregressa immunità, non è necessario eseguire alcun test di screening.

Al contrario, è raccomandata sempre una valutazione sierologica delle IgG e IgM specifiche nelle donne che non abbiano una documentazione di pregressa immunità o di vaccinazione.

In caso di suscettibilità o dubbia immunità (IgG negative o a basso titolo protettivo e IgM negative), bisogna procedere alla vaccinazione.

Poiché si tratta di un vaccino contenente un virus vivo attenuato, è opportuno lasciar passare un mese dalla vaccinazione prima della PMA.

Dopo la vaccinazione, non è più necessario ripetere la determinazione delle IgG e IgM specifiche.

Se al momento dell'arruolamento la donna è immune (IgG positiva e IgM negativa), il test non deve più essere ripetuto, neppure nelle gravidanze successive.

Se invece la donna risulta positiva per IgG e IgM, va eseguito il test di avidità al momento dell'arruolamento. Una alta avidità delle IgG esclude l'infezione acuta. Pertanto non ci sono rischi per il feto al momento della PMA.

7.3.7 Citomegalovirus (CMV)

La sieroprevalenza di CMV negli Stati Uniti è del 30-50% come in Europa e >90% in Sudamerica con un'incidenza di infezione congenita negli Stati Uniti pari a 80/100.000 nati vivi. E IN ITALIA?

Al momento dell'arruolamento, la paziente non immune per CMV (IgG e IgM negativa) deve essere informata sulle misure di prevenzione dell'infezione primaria da CMV da applicare fin da prima del concepimento e in gravidanza. In ogni caso il test di screening va ripetuto una settimana prima della PMA, per riconfermare la suscettibilità alla infezione.

La presenza nel siero di anticorpi IgG specifici e l'assenza di anticorpi IgM sono indicative di infezione pregressa e non prevedono ulteriori accertamenti. Tuttavia, le donne con bassi

titoli di IgG dovrebbero eseguire un test di conferma o, in alternativa, essere considerate recettive e quindi osservare le norme igieniche e comportamentali idonee.

Qualora invece venisse evidenziata la presenza nel siero di anticorpi IgG ed IgM anti-CMV, è necessario eseguire il test di avidità IgG. Valori di avidità delle IgG elevati, consentono di escludere una infezione primaria recente, e quindi si può procedere con una PMA. Valori di avidità delle IgG bassi/moderati sono indicativi di infezione primaria acuta/recente da CMV.

Ciò implica che la PMA debba essere procrastinata di almeno 6 mesi dalla diagnosi di infezione primaria. Dopo questo periodo è indicato eseguire tre controlli virologici sequenziali, eseguiti a 2/3 settimane l'uno dall'altro, che prevedono la ricerca ematica del DNA virale (real-time PCR).

La completa negatività di tre prelievi consecutivi permette di escludere con elevata probabilità la presenza, anche intermittente, del virus nel sangue.

7.3.8 Herpes simplex (HSV)

La sieroprevalenza dell'infezione da herpes simplex tipo 2 (HSV-2) tra le donne negli Stati Uniti è pari al 23%, ma superiore a quella rilevata in Europa.

Il rischio di trasmissione al neonato è alto in caso di infezione primaria a termine di gravidanza e basso <1% in caso di infezione primaria nella prima metà della gravidanza o in caso di episodi ricorrenti in prossimità del parto.

Al momento della prima visita, va eseguita una anamnesi accurata in associazione alla determinazione delle IgG anti-HSV-1 e 2 in entrambi i partners.

In caso di positività per HSV-2 IgG in uno dei due o viene riferita una storia di herpes genitale recidivante (in questo caso potrebbe trattarsi di un'infezione genitale da HSV-1), si raccomanda *counseling* ostetrico-ginecologico e infettivologico per entrambi, al fine di prevenire la infezione nel partner negativo.

In particolare, nella donna non immune per HSV, dopo la PMA vanno osservate le misure comportamentali idonee (rapporti protetti e astensione dai rapporti oro-genitali).

Le infezioni neonatali possono essere molto gravi, ma sono molto rare, anche in popolazioni con una sieroprevalenza per herpes genitale molto alta (1/3200 nati negli Stati Uniti)

Indicazioni approfondite possono essere reperite come modello negli specifici documenti disponibili presso il sito AMCLI e nelle schede riassuntive allegate a questo documento.

7.4 PREVENZIONE DELLA TOXOPLASMOSI IN PAZIENTE SIERONEGATIVA

La paziente non immune in attesa di PMA e durante tutta la gravidanza deve rispettare le norme di comportamento, che possono evitare l'infezione:

- NO carni poco cotte o crude e molluschi crudi
- NO carni cotte in unico pezzo (come roastbeef, porchetta, kebab,ecc);
- NO carni tritate compresse anche se cotte (polpette, hamburger, salsiccia ecc.);
- NO insaccati e salumi;
- i vegetali da consumarsi crudi devono essere lavati con estrema cura;
- le verdure imbustate non sono sicure;
- NO fragole e fragoloni lamponi e more o alimenti non cucinati che li contengano;
- lavare bene le mani con acqua e sapone dopo aver toccato la carne cruda e prima di mangiare; i soli disinfettanti per mani non sono efficaci

- se presente un gatto, nutrirlo con cibi sicuri (croccantini, cibo in scatola o cibi ben cotti);
- evitare che il gatto esca di casa;
- cambiare o, meglio, far cambiare da altri quotidianamente la lettiera del gatto;
- a casa di persone con un gatto, evitare se possibile il contatto con l'animale e con superfici che possano essere state a contatto con l'animale e, in caso, lavarsi bene le mani con acqua e sapone.
- fare giardinaggio con le mani guantate;
- evitare viaggi al di fuori dell'Europa e del Nord America
- **Ripetere i test per la ricerca di IgG ed IgM anti-*Toxoplasma* ogni 28-30 giorni e 20 giorni dopo il parto.**

7.5 PREVENZIONE DELL'INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUSI IN PAZIENTE SIERONEGATIVA

La paziente non immune in attesa di PMA e durante **tutta** la gravidanza deve rispettare le norme di comportamento, che possono evitare l'infezione:

- evitare, ove possibile, il contatto **stretto** con bambini in età pre-scolare o scolare;
- non baciar loro le labbra, le guance o **le mani**;
- lavare spesso e bene i giocattoli che i bambini usano mettere in bocca;
- lavarsi le mani spesso ed in maniera molto accurata, soprattutto dopo aver avuto contatto con saliva o con indumenti sporchi di urina o di feci;
- non condividere cibo e bevande o usare le stesse stoviglie di altre persone, specie dei bambini;
- evitare assolutamente il contatto con la saliva di altre persone facendo attenzione che questa non giunga, anche in modo indiretto, alla bocca della paziente;
- lavare immediatamente le mani dopo aver usato *tablets* e *touch-screen* in comune e nel frattempo non portarle alla bocca;
- evitare, per quanto possibile, somministrazione di derivati ematici ed interventi odontoiatrici, e in ogni caso prima consultare prima il ginecologo;
- sottoporsi ad un controllo sierologico mensile con valutazione delle IgG ed IgM specifiche.

8. BIBLIOGRAFIA

1. European Association of Urology Guidelines on Male Infertility 2021
2. World Health Organization Laboratory Manual for the examination and processing of human semen Sixth Edition 2021
3. NICE National Institute for Health and Care Excellence Fertility overview March 2021
4. Notiziario ISS Volume 34 - Numero 87 Luglio-Agosto 2021ISSN 1827-6296
5. Workowsky KA et al Sexually transmitted infections treatment guidelines. MMWR July 23, 2021/ Vol. 70 / No.
6. Tuddenham S et al Diagnosis and Treatment of Sexually Transmitted Infections: A Review. JAMA. 2022;327:161-172
7. Hornder P et al Should we testing for urogenital *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasmaurealyticum*in men and women? a position statement from the European STI Guidelines Editorial Board. J EurAcadDermatol Venereol2018;32:1845-1851
8. Ma C det al The association of genital mycoplasmas and female infertility and adverse pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis. Reprod Sci 2021;28:3013-3031
9. Tantengco OAG et al The role of genital mycoplasma in female infertility: a systematic review and meta-analysis. Am J Reprod Immunol 2021;85:e13390
10. Punzon-Jimenez P and Labarta E The impact of the female genital tract microbiome in women health and reproduction: a review. J Assist Reprod Genet 2021;38:2519-2541
11. Ravel J et al Bacterial vaginosis and its association with infertility, endometritis, and pelvic inflammatory disease. Am J ObstetGynecol2021;224:251-257
12. Condorelli RA et al Chronic prostatitis and its detrimental impact on sperm parameters: a systematic review and meta-analysis. J Endocrinol Invest. 2017; 40:1209-1218.
13. Beeton ML et al The role of *Ureaplasma* spp. In the development of nongonococcal urethritis and infertility among men. Clin Microbiol Rev 2019;32:e00137-18
14. Farsimadan M and Motamedifar M Bacterial infection of the male reproductive system causing infertility. J Reprod Immunol 2020;142:103183
15. Ventimiglia E et al Leukocytospermia is not an informative predictor of positive semen culture in infertile men: results from a validation study of available guidelines. Hum Reprod Open. 2020.
16. Goulart ACX et al HIV, HPV and *Chlamydia trachomatis*: impacts on male fertility. JBRA Assist Reprod. 2020 Oct 6;24:492-497
17. Lundy SD et al Functional and taxonomic dysbiosis of the gut, urine, and semen microbiomes in male infertility. EurUrol2021;79:826-836
18. Farahani L et al The semen microbiome and its impact on sperm function and male fertility: a systematic review and meta-analysis. Andrology 2021;9:115-144
19. Nasr El-Din A et al Evaluation of the role of Chlamydia trachomatis in primary male infertility. Int J Clin Pract. 2021;75:e14702.
20. Garolla A et al Practical Clinical and Diagnostic Pathway for the Investigation of the Infertile Couple. Front Endocrinol (Lausanne). 2021 Jan 19;11:591837
21. Medically assistedreproduction in patients with a viral infection or disease. JULY 2021 European Society of Human Reproduction and Embryology www.eshre.eu/guidelines
22. Muscianisi F et al Is HPV the Novel Target in Male IdiopathicInfertility? A Systematic Review of the Literature. Front Endocrinol (Lausanne). 2021 Mar 8;12:643539
23. De Toni L et al Hyaluronidase-based swim-up for semen selection in patients with human papillomavirus semen infection. Biol Reprod2021;104:211-222

24. Ferlin A et al Management of male factor infertility: position statement from the Italian Society of Andrology and Sexual Medicine (SIAMS) : Endorsing Organization: Italian Society of Embryology, Reproduction, and Research (SIERR). J Endocrinol Invest. 2022 Jan 24
25. Istituto superiore di Sanità :Rosolia https://www.epicentro.iss.it/rosolia/
26. Medically assisted reproduction in patients with a viral infection or disease. JULY 2021 European Society of Human Reproduction and Embryology www.eshre.eu/guidelines
27. Liu Y et al The Association Between Previous TORCH Infections and Pregnancy and Neonatal Outcomes in IVF/ICSI-ET: a retrospective Cohort Study. Front Endocrinol 2020 :466 Ministero della Salute Italiano. Sistema nazionale per le linee guida. Gravidanza fisiologica. Aggiornamento Settembre 2011.
28. Ministero della Salute Italiano. Sistema nazionale per le linee guida. Gravidanza fisiologica. Aggiornamento Settembre 2011.
29. Neu N et al TORCH Infections. Clin Perinatol 2015; 42: 77-108
30. Percorso diagnostico : Infezioni a trasmissione verticale Infezione da *Toxoplasma gondii* https://www.amcli.it/documenti/percorsi/
31. Percorso diagnostico :Infezione da virus della varicella zoster in gravidanza https://www.amcli.it/documenti/percorsi/
32. Percorso diagnostico : Infezioni da HIV https://www.amcli.it/documenti/percorsi/
33. Percorso diagnostico: Infezioni a trasmissione verticale Virus della rosolia https://www.amcli.it/documenti/percorsi/
34. Percorso diagnostico :Infezioni a trasmissione verticale Cytomegalovirus https://www.amcli.it/documenti/percorsi/
35. Percorsi diagnostico assistenziali in Ostetricia-Ginecologia e Neonatologia Consensus:Sifilide, https://www.amcli.it/documenti/percorsi/
36. Voordouw B et al Performance of Zika assays in the context of *Toxoplasma* gondii Parvovirus B19, rubellavirus and cytomegalovirus (TORCH) diagnostic assays. Clin Microbiol Rev 2020 ;33 e00130-18

Screening pre-PMA donna

Tampone vaginale

Ricerca disbiosi

- Es. microscopico dopo Gram: score di Nugent
- test molecolari con indicazione della popolazione lattobacillare

Se positivo: TERAPIA

Siero

C. trachomatis Ab IgG e IgA

Se titoli >2 volte il cut-off: TERAPIA

Tampone cervicale

Ricerca microrganismi causa di IST
test molecolari multiplex

N. gonorrhoeae
C. trachomatis
T. vaginalis
M. genitalium

→ Se positivo: TERAPIA
Valutazione del partner

M. hominis
U. urealyticum
U. parvum

→ Se positivo: TERAPIA solo in caso di coinfezione del partner

HPV → No, se PAP test o HPV-DNA nell'ultimo anno

Screening pre-PMA uomo

Liquido seminale (preceduto da raccolta urine primo mitto 10 ml)
Razionale: urine come controllo dei batteri presenti in uretra
In entrambi i campioni:
esame colturale batteri Gram+ e Gram- (conta, identificazione e ABG)
Se conta LS vs U >10^3 UFC/mL → BATTERIOSPERMIA E TERAPIA

RICERCA MICRORGANISMI CAUSA DI IST

Urine + liquido seminale
Test molecolari multiplex
→ *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, *T. vaginalis*, *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. Urealyticum*, *U. parvum*
→ Se positivo: TERAPIA Valutazione del partner

Liquido seminale
Test molecolare
→ HPV
→ Se positivo: Test FISH

FISH: ibridazione in situ con sonde fluorescenti

Screening TORCH pre-PMA coppia

EIA/CLIA e/o qTPHA/TTPA e qVDRL/RPR
HBsAg, HBcAb + HBsAb*
anti-HCV
HIV Ag e Ab
HSV1 e HSV2 IgG

NEGATIVO →

Counseling preventivo
Vaccinazione anti-HBV
Se HBcAb +HBsAb negativo

POSITIVO** →

Counseling
Diagnostico -terapeutico

* da solo, in caso di pregressa vaccinazione
** per Herpes: se anamnesi positiva per herpes genitale o HSV-2 IgG positivi, anche in coppie discordanti

Screening TORCH pre-PMA donna

***T. gondii*, CMV, RV, VZV ***

IgG / IgM NEG

T. gondii, CMV: counseling igienico-alimentare.
Ripetere tests 7 gg prima PMA.
RV, VZV: vaccinazione e attendere 1 mese post vaccinazione.

IgG POS /IgM NEG

Immunità da pregressa infezione.
Non ripetere prelievi.

IgG POS/ IgM POS

T. gondii, CMV, RV

Test di avidità delle IgG

Avidità bassa/intermedia: attendere 6/8 mesi

Avidità alta: immunità da pregressa infezione.
Non ripetere prelievo.

IgG NEG / IgM POS

Ripetere dopo 15 gg.
In assenza di IgG: falsa positività IgM, soggetto non immune.
Se comparsa IgG : infezione acuta, attendere 6-8 mesi.

*Per VZV effettuare solo ricerca IgG se anamnesi NEG/DUBBIA. Se IgG negativa, vaccinazione.
Se IgG positiva, immune