



Prot. Int. N.

PDTA

(PERCORSO DIAGNOSTICO-TERAPEUTICO-ASSISTENZIALE)

U.O.S.D. di FISIOPATOLOGIA DELLA RIPRODUZIONE e PMA- ANDROLOGIA

AZIENDA OSPEDALIERA DI COSENZA

Cosenza, ... settembre 2013

FASE 1: Accesso del paziente al Servizio:

FASE 2: Scelta del percorso diagnostico indirizzabile verso:

- 2.a) Percorso andrologico
- 2.b) Percorso ginecologico
- 2.c) Laboratorio di seminologia
- 2.d) Crioconservazione omologa del seme
- 2.e) Procreazione Medicalmente Assistita di I° livello

FASE 3: Trattamento e Terapia

- 3.a) Trattamento andrologico
- 3.b) Trattamento ginecologico
- 3.c) Trattamento di crioconservazione omologa del seme
- 3.d) Trattamento di procreazione medicalmente assistita di I° livello

FASE 4: Dimissioni

Descrizione della fase 1 in dettaglio (ACCESSO DEL PAZIENTE AL SERVIZIO)

I pazienti (utenti) afferiscono alla UOSD, con impegnativa del MMG, tramite prenotazione presso il C.U.P, ad eccezione dello spermioγραμμα, della crioconservazione del seme e della P.M.A., che, per motivi tecnici ed organizzativi, vengono prenotati direttamente presso la Struttura.

Al momento dell'ingresso, dopo la visita, vengono annotati su appositi registri le visite e gli esami strumentali da effettuare ambulatorialmente.

Per i soggetti che presentano una maggiore complessità di indagini viene programmato un ricovero in DH. In caso di ipogonadismo maschile, viene invece programmato un PAC 13 ed il tutto annotato su apposito registro.

Il giorno programmato per effettuare questo gruppo di esami, quando il paziente accede nella struttura, viene compilata una cartella dove vengono inseriti tutti i dati anagrafici e clinico anamnestici, raccolti dal personale medico e trattati secondo la regolamentazione della privacy vigente presso la UOSD e impostato il percorso diagnostico- terapeutico appropriato al caso in esame.

Descrizione delle fasi 2 in dettaglio (SCELTA DEL PERCORSO DIAGNOSTICO)

Fase 2.a) Percorso andrologico:

Nella UOSD vengono trattate le problematiche inerenti la sfera sessuale e la fertilità di coppia. Dopo la raccolta dell'anamnesi, al paziente che afferisce alla UOSD viene effettuata una visita andrologica (Dr. G. Morrone, Dr. C. Perri) e vengono programmati esami strumentali: Ecografia testicolare, Ecocolordoppler scrotale, Ecocolordoppler penieno, basale e dinamico, spermioγραμμα secondo i criteri del WHO 2010, e quindi stabilito il percorso terapeutico più idoneo relativamente alla patologia riscontrata e le indicazioni relative agli esami clinico/diagnostici da eseguire, finalizzati al trattamento della eventuale patologia riscontrata.

Per effettuare successive visite, ecografie e ecocolordoppler l'accesso avviene tramite prenotazione al CUP con impegnativa medica.

Mentre per la diagnostica seminologica, la Crioconservazione del seme, l'Inseminazione intrauterina le prenotazioni si effettuano direttamente presso la UOSD (dr.ssa G. Peluso).

L'accesso alla Struttura con ricovero in regime di Day Hospital, avviene secondo i criteri di appropriatezza fissati dalla DGR 726/2008.

Solo per accertamenti diagnostici che possono comportare problemi di sicurezza per il paziente viene programmato il ricovero in regime di DH.

E' il caso della Disfunzione Erettile e altre patologie peniene quali la I.P.P. e la Trombosi dei corpi cavernosi, in soggetti con alterazioni della coagulazione o cardiopatie, considerato che la somministrazione di farmaci intracavernosi possono portare "priapismo" e necessitano di monitoraggio, dopo l'esecuzione dell'esame, per oltre un'ora.

Il regime di DH non è utilizzato in caso di Infertilità Maschile e Femminile.

In caso di sospetto **ipogonadismo**, (testicoli di volume inferiore a 15 ml l'uno o Testosteronemia < a 3,5 ng/ml o in presenza di dispermia) si attiva il **PAC 13** al fine di raggruppare delle prestazioni ambulatoriali quali la visita, lo spermioγραμμα, gli esami di laboratorio (Testosteronemia-LH-FSH-PRL-Glicemia-Creatinina e PSA, solo per i pazienti che hanno superato i 40 anni)), l'ecocolordoppler testicolare.

Fase 2.b) Percorso ginecologico

Viene effettuata una accurata valutazione della fertilità femminile che inizia dalla raccolta dell'anamnesi familiare, fisiologica, patologica remota e prossima della stessa, con particolare riguardo ad eventuali allergie ed all'insorgenza della patologia per cui la paziente giunge all'osservazione. A ciò segue l'esame obiettivo generale e speciale della paziente e l'eventuale presa in considerazione di esami ematochimici e strumentali, esibiti dalla stessa, per una compiuta e corretta valutazione della paziente a poter eseguire la prestazione ambulatoriale richiesta presso il Servizio. Il giudizio di praticabilità dell'intervento presso la Struttura è sotto la diretta ed esclusiva responsabilità dei Medici Ginecologi del Servizio (*Dott. Giampaolo Arena*)

Fase 2.c) Laboratorio di seminologia

Vengono effettuati, per motivi tecnico-organizzativi, con prenotazione telefonica diretta alla UOSD, lo spermogramma, il test di frammentazione del DNA spermatico, i test di capacitazione nemaspermica, il Post Coital Test e altri test di studio della fertilità maschile.

Fase 2.d) Crioconservazione omologa del Seme

In tutti i pazienti afferenti alla UOSD che risultano affetti da patologie neoplastiche e costretti a sottoporsi a trattamenti in grado di indurre sterilità permanente o temporanea, viene consigliata la crioconservazione del proprio seme, offrendo loro la possibilità di preservare la fertilità futura, con una metodologia consolidata che permette di mantenere in vita i gameti maschili per un tempo indefinito in azoto. La crioconservazione del seme rappresenta infatti uno dei più importanti strumenti che abbiamo oggi a disposizione nella gestione di pazienti affetti da patologie neoplastiche, autoimmuni, urologiche, neurologiche, a rischio di sterilità permanente o temporanea nonché nei pazienti affetti da azoospermia secretoria ed escretoria.

Ogni anno, come risulta dalle linee guida nazionali, il paziente deve rinnovare il consenso a mantenere crioconservato il liquido seminale, altrimenti la UOSD è autorizzata ad eliminare le paillettes.

I pazienti per effettuare la Crioconservazione del Seme possono accedere con impegnativa medica e, quindi con accesso ambulatoriale, o essere ricoverati in altre UO della nostra Azienda.

Fase 2.e) Procreazione Medicalmente Assistita di I° livello

La coppia che decide di avere un bambino, dopo un periodo di attesa che comprende almeno un anno di rapporti non protetti e senza esito di gravidanza, si può rivolgere alla Struttura.

La donna viene visitata dal ginecologo (Dott. G. Arena) e il partner dai dottori G. Morrone o C. Perri, dai quali riceverà una preliminare consulenza in cui verrà raccolta l'anamnesi di entrambi i partner ed illustrate loro le varie procedure procreative di I° e II° livello, per quanto riguarda la fecondazione assistita, i limiti ed eventuali rischi sui possibili esiti in base alle normative di legge 40/04, precisando loro che la UOSD espleta, al momento, esclusivamente il trattamento di PMA di I° livello.

L'indicazione alle tecniche di PMA di I° livello si dà nelle seguenti condizioni cliniche:

- sterilità inspiegata
- sterilità di fattore maschile lieve-moderato
- sterilità in pazienti con endometriosi minima o lieve
- sterilità anovulatoria in caso di fallimento della semplice induzione dell'ovulazione con rapporti mirati.

La coppia decide pertanto volontariamente di effettuare la PMA, firmando il consenso almeno 7 giorni prima del ciclo di inseminazione (legge 40/04).

Descrizione delle fasi 3 in dettaglio (TRATTAMENTO E TERAPIA)

Fase 3.a) Trattamento andrologico

RESPONSABILE: DR. GIANCARLO MORRONE

Il paziente nel Servizio effettua un colloquio e una visita andrologica (*Dr. G. Morrone o Dr C. Perri*), e lo spermioγραμμα (*Biologo dott.ssa G. Peluso*).

In caso di dispermia si programma una spermiocoltura, esami ormonali, ecografia e ecocolordoppler testicolare (se vi è sospetto di ipogonadismo si programma il PAC 13).

Dopo un periodo di almeno 3 mesi di cura del maschio, in caso di mancato concepimento della coppia, si può programmare una fecondazione di I° livello (IUI) (è consigliato avere almeno 5.000.000 di spermatozoi con motilità vivace e progressiva) previo controllo dei Markers infettivologici HCV, HBV, HIV, Citomegalovirus e VDRL della coppia.

Si possono eseguire sino a 4 cicli, prima di passare al II° livello di PMA (DPGR 129/2011).

In caso di oligoastenozoospermia severa o azoospermia, verranno consigliati esami genetici quali:

-Cariotipo

-Ricerca microdelezioni del cromosoma Y (AZF)

-Ricerca mutazioni del gene della Fibrosi Cistica

In caso di azoospermia è prevista, nelle sospette forme ostruttive, l'agoaspirato testicolare diagnostico.

Nell'infertilità maschile lo scenario più frequente è l'oligo-asteno-teratozoospermia idiopatica.

Tutti i soggetti sono invitati ad evitare alcoolici, fumo di sigaretta, droghe e a fare una vita attiva riducendo il peso corporeo, se quest'ultimo è in eccesso. Si utilizzano integratori multicomponente, soprattutto in quei casi in cui si sospetta uno stress ossidativo seminale (flogosi, varicocele, obesità, fumo, alcool, vita sedentaria ecc), per almeno tre mesi.

Viene utilizzata, nel maschio, la terapia con FSH per via parenterale solo se il dosaggio serico del FSH del paziente risulta < a 8.0 UI/ml, così come prevede la nota 74, con piano terapeutico, per almeno tre mesi.

Tutti i trattamenti (ormonali, antiossidanti, antiflogistici ecc..), quindi, possono considerarsi accettabili in caso di infertilità di breve durata in coppie in cui la donna non abbia evidenti problemi ginecologici.

In caso di età della donna superiore a 36 anni o di patologie femminili concomitanti o di infertilità di durata superiore a 3 anni, queste terapie non devono essere considerate alternative alle tecniche di PMA di I° e II° livello, ma essere eseguite contemporaneamente nell'uomo e nella donna, per migliorare la qualità gametica e permettere un maggior successo con la PMA, riducendo l'abortività.

Il tutto nel rispetto della *gradualità terapeutica dell'intervento*, così come prevede la legge 40/2004.

L'opportunità di **operare un varicocele** ai soli fini di ottenere una gravidanza, resta controversa.

Al paziente va riferita l'incertezza del miglioramento del liquido seminale dopo intervento per varicocele. Le linee guida europee urologiche indicano l'intervento di varicocele in soggetti con ipotrofia testicolare o nelle forme sintomatiche o nei soggetti infertili con alterazioni del liquido seminale o, per prevenzione dell'infertilità, negli adolescenti.

Fase 3.b) Trattamento ginecologico

RESPONSABILE: DR. GIAMPAOLO ARENA

Il ginecologo effettua una serie di indagini finalizzate a valutare il tipo di infertilità, prendendo in esame i seguenti elementi:

- **funzione ovulatoria** mediante una preliminare indagine anamnestica ed opportuno dosaggio ormonale basale al 2/3 giorno del ciclo (FSH-LH-Estradiolo-Testosterone-Progesterone-hPRL-TSH-FT3-FT4) ed ecografia pelvica.

- **pervietà tubarica** valutata mediante dati anamnestici (algie pelviche, storia di pregressa malattia infiammatoria, chirurgia addominale), alcune semplici indagini laboratoristiche (ricerca della Chlamydia nel muco cervicale) oppure indagini di primo livello come l'isterosalpingografia (ISG) o isteroscopia.

Il rationale è valutare se il tipo di infertilità femminile può essere trattato con tecnica di PMA di I° livello.

Prima di passare alla PMA si tenta di ottenere la gravidanza con terapia medica stimolando l'ovulazione (legge 40/04: gradualità dell'intervento).

Fase 3.c) Trattamento di crioconservazione omologa del seme

RESPONSABILE: DR.SSA GIUSEPPINA PELUSO

Riferimenti legislativi:

- Accordo del 15 marzo 2012 tra il Governo e le Regioni della legge 40/2004
- Decreto Legislativo 16/2010
- Decreto Legislativo 191/2007
- Linee Guida Italiane 2005
- Direttiva 2004/23/CE

per quanto riguarda le prescrizioni tecniche per la donazione, l'approvvigionamento e il controllo di tessuti e cellule umani, nonché le prescrizioni in tema di rintracciabilità, la notifica di reazioni ed eventi avversi gravi e determinate prescrizioni tecniche per la codifica, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di tessuti e cellule umani.

- *Gli Istituti che conservano cellule riproduttive (Centri di PMA) sono compresi tra gli istituti dei tessuti, in qualità di "strutture sanitarie autorizzate ai sensi della legge 19 febbraio 2004, n. 40, per le attività compatibili con la legge medesima" (Art 3 comma 1q), sono quindi già autorizzati dalle regioni e la loro attività è già disciplinata da quanto stabilito dalla legge 40/2004.*

- *ogni istituto dei tessuti dovrà designare una **persona responsabile**, con adeguata formazione ed esperienza che dovrà garantire che il trattamento dei tessuti e delle cellule sia conforme a quanto stabilito dal decreto legislativo e dovrà badare alla qualità, sicurezza, informazione, la comunicazione relativa all'attività dell'istituto e la notifica degli eventi avversi (dl 191/2007- art 17).*

Nel nostro centro viene effettuata la crioconservazione "omologa", cioè il paziente può crioconservare il proprio seme, dal momento che l'utilizzo del seme di un donatore non è più effettuabile nel nostro

Paese, secondo quanto previsto dall'art. 4, comma 3, della legge 40/2004 "Norme in materia di riproduzione medicalmente assistita".

Responsabile della nostra Banca del seme (Istituto dei tessuti) è la dottoressa Giuseppina Peluso, biologa, (come indicato nella richiesta di Autorizzazione Regionale alla PMA di 1° livello presentata dal Direttore Generale pro tempore) che si avvale della professionalità medica del Dr. G.Morrone, del Dr. C. Perri e del Dr. G. Arena per gli aspetti di competenza.

Le principali indicazioni alla crioconservazione del seme sono le seguenti:

- Pazienti affetti da patologie che necessitano di terapie inducenti danni alla spermatogenesi (patologie neoplastiche, autoimmuni, ecc.)
- Pazienti affetti da patologie che necessitano di interventi chirurgici all'apparato urogenitale che possono ledere la funzione eiaculatoria
- Soggetti che per motivi di lavoro sono esposti a sostanze potenzialmente genotossiche
- Pazienti con oligoastenoteratozoospermia (OAT) che presentano transitori miglioramenti della qualità del seme
- Pazienti che mostrano un severo e progressivo peggioramento della qualità del seme
- Pazienti criptozoospermici
- Pazienti che hanno difficoltà (psicologiche o logistiche) a raccogliere il liquido seminale il giorno della procreazione medicalmente assistita (PMA)
- Soggetti che si sottopongono a vasectomia.

La nostra Banca del Seme, unica nelle strutture pubbliche della Calabria, è stata attivata nell'agosto 2009 insieme alla PMA di 1° livello, (Decreto Regionale 15018 del 2009). Al momento, è utilizzata prevalentemente, per pazienti oncologici, visti i limiti strutturali e la presenza nella UOSD di un solo biologo esperto in fisiopatologia della riproduzione.

REQUISITI VALUTATI PER L'ACCESSO ALLA CRIOCONSERVAZIONE:

- Età
- Terapie
- Analisi
- Astinenza
- Raccolta
- Accertamento Identità
- **ETÀ**

Non è opportuno indicare limiti di età a meno che non intervenga una normativa regionale specifica.

• TERAPIE

Se il paziente deve subire trattamenti antiblastici o radioterapia, entrambi induttori di danno genotossico, è necessario eseguire la crioconservazione prima dell'inizio di qualsiasi trattamento. Se il paziente è già stato trattato con chemio o radioterapici è opportuno attendere, a scopo prudenziale, circa due anni dalla fine della terapia stessa prima di effettuare una crioconservazione.

Nel caso di farmaci che non agiscono sul ciclo cellulare è possibile fare crioconservazione dopo tre mesi dalla sospensione del farmaco per utilizzare gameti derivanti da una nuova spermatogenesi, se ciò non interferisce con l'urgenza di iniziare un nuovo ciclo di terapia.

Nel caso di farmaci di cui non è stato ancora dimostrato l'effetto genotossico, si può eseguire la crioconservazione inserendo nel consenso informato una frase riferita alla possibilità che tali farmaci agiscano sul nucleo della cellula e possano essere, quindi, dannosi per il feto.

ANALISI DA EFFETTUARE PRE-CRIOCONSERVAZIONE

In considerazione del fatto che l'azoto liquido, come l'acqua, può agire come veicolo di trasmissione per batteri, virus e funghi, si ritiene opportuno non procedere alla crioconservazione di liquido seminale o di tessuto testicolare in assenza di markers infettivologici. Le analisi virologiche necessarie sono le seguenti:

- Virus EPATITE B: HBsAg - HBcAb:IgG-IgM
- Virus EPATITE C: Anticorpi anti – HCV
- HCV-RNA Qualitativo (nel caso di anticorpi anti – HCV positivi)
- HIV: Anticorpi anti – HIV(1/2)
- CITOMEGALOVIRUS: Anticorpi anti IgG, Anticorpi anti IgM
- VDRL-TPHA

I campioni di sangue vanno prelevati entro i 90 giorni prima della donazione (Allegato III dl 191/2010).

PERIODO DI ASTINENZA

Si consiglia il classico periodo di astinenza di 3-5 o 2-7 giorni, fermo restando che in caso di urgenza di inizio della terapia non viene tenuto conto di tale limitazione.

RACCOLTA DEL CAMPIONE

Il paziente deve raccogliere il campione seminale per masturbazione in un contenitore sterile per urine. Il Servizio deve fornire il contenitore sterile contrassegnato con nome e cognome del paziente **La raccolta deve avvenire presso il Centro di crioconservazione per motivi medico legali.**

È possibile raccogliere il liquido seminale fuori sede solo se il paziente è impossibilitato a farlo in sede (es. ricoverato ed intrasportabile o paraplegico che richiede l'ausilio di un elettrostimolatore), in tal caso è necessario che il paziente compili una autocertificazione attestante la proprietà del campione di liquido seminale consegnato.

ACCERTAMENTO DI IDENTITÀ

E' indispensabile che il paziente si presenti munito di **documento di identità valido** che deve essere **fotocopiato**, inserito in cartella e riportato sul consenso informato. Se il paziente è minorenne oltre al proprio documento è necessario il documento di identità di almeno un genitore o di chi esercita la potestà genitoriale.

CONSENSI INFORMATI

· E' indispensabile prevedere una serie di consensi informati per la gestione del paziente e del seme crioconservato. In particolare:

- per la crioconservazione (è necessario un consenso per ogni campione seminale crioconservato)
- per il rinnovo della crioconservazione
- per l'eliminazione del campione
- per il ritiro di tutto il campione
- per il ritiro di una o più paillettes

· Al momento della firma di ognuno di questi consensi è indispensabile che il paziente mostri un documento di identità. Nel caso di pazienti minorenni, è necessaria la firma ed il documento di identità sia del paziente che almeno un genitore o di chi esercita la potestà genitoriale.

· I singoli consensi informati vengono predisposti dal Centro. Modelli dei singoli consensi sono riportati in appendice.

Non basta, naturalmente, fare sottoscrivere il modulo con le informazioni, ma il paziente va informato dal medico che gli fa firmare il consenso, spiegando tutte le procedure e i rischi in maniera dettagliata.

RITIRO DEL CAMPIONE CRIOCONSERVATO

· **Il ritiro del campione crioconservato (tutte le paillettes o solo una parte), può essere effettuato solo dal proprietario dei gameti, previa presentazione di un documento di identità.**

· Richiesta e ritiro paillettes *post-mortem* : poiché le paillettes possono essere ritirate solo dal “proprietario dei gameti”, **la richiesta post-mortem non può essere evasa** ed il campione crioconservato sarà eliminato alla scadenza prevista sul consenso. Fatte salve disposizioni differenti della magistratura.

TEMPO DI DURATA DEL DEPOSITO

In considerazione del fatto che esistono due diverse modalità di Banca del seme a seconda che la crioconservazione sia inclusa in una tecnica di fecondazione assistita o persegua finalità strettamente **conservative** ed indipendenti dalla fecondazione assistita, essa può essere regolata da un differente consenso informato per quanto riguarda il tempo di durata del deposito. In entrambi i casi si deve indicare chiaramente la scadenza della crioconservazione, che nel caso del semplice deposito sarà fissa (per es. annuale), mentre nel caso della PMA può essere legata alla sola effettuazione della tecnica. Quindi

· Nel caso di deposito per fecondazione assistita viene stabilito un tempo di crioconservazione che può anche essere limitato alla sola effettuazione della procedura di PMA. Il Servizio, prima di eliminare il campione, si farà carico di contattare il paziente per avvisarlo che il periodo di crioconservazione è scaduto, in modo tale che il paziente possa decidere se eliminare o rinnovare il deposito del proprio campione.

· **Nel caso di deposito a fine puramente conservativo, si stabilisce un periodo di tempo di crioconservazione definito “ un anno”** che deve essere riportato chiaramente nel consenso informato, preferibilmente con una precisa data di scadenza.

GESTIONE INTERNA

STRUTTURA

· L'accesso all'area di crioconservazione è consentito esclusivamente a personale autorizzato.

MATERIALI

Tutti i materiali utilizzati per la crioconservazione sono specifici per la criogenia.

Elenco Materiali

- Azoto liquido
- Terreno di crioconservazione
- Contenitori per azoto liquido
- Stecche
- Visotubi
- Paillettes e Raccordi specifici

· AZOTO LIQUIDO

Viene effettuato un controllo settimanale del livello di azoto ed il rifornimento settimanale o mensile in funzione del consumo dell'azoto stesso. Le operazioni relative alla gestione dell'azoto vengono annotate in un apposito registro.

TERRENO DI CRIOCONSERVAZIONE

Come crioprotettore viene utilizzato Sperm Freeze, che si conserva a 2-8°C. Prima dell'utilizzo del terreno viene controllata la scadenza, eventuali contaminazioni e viene registrato il numero di lotto. Tutte le procedure di preparazione del seme per la crioconservazione vengono effettuate in condizioni di assoluta sterilità.

Il centro di crioconservazione è fornito di contenitori a bassa evaporazione per azoto liquido e contenitori per lo stoccaggio dei campioni, che sono resi inaccessibili con appositi sistemi di chiusura. Inoltre è fornito di contenitore con azoto per rifornimento.

NORME PER L'IGIENE

I contenitori e l'apparecchiatura di congelamento sono sottoposti a regolare disinfezione e detersione per evitare contaminazioni da microrganismi ambientali.

PAILLETTES E PROVETTE PER CRIOGENIA

Vengono utilizzate paillettes ad elevata sicurezza cioè termosaldabili. Le paillettes attualmente in commercio con queste caratteristiche (CBS) sono da 0,300 ml e da 0,500 ml. Le paillettes sono sigillate con appositi tappini sterili specifici per le stesse (jonc).

ETICHETTATURA

Per garantire la rintracciabilità del paziente le paillettes sono tutte marcate con nome e cognome. Sempre ai fini di una facile e sicura rintracciabilità la marcatura consiste nel riportare il nome o il codice del paziente oltre che sulle paillettes, anche sui viso tubi e sulla stecca relativa a ciascun paziente.

PERCORSO IDENTIFICATIVO DEL PAZIENTE

Viene contrassegnato con nome o codice:

- Contenitore sterile per la raccolta
- Provetta sterile in cui viene trasferito il campione
- Paillettes
- Visotubi

E, vengono registrati:

- tipo di paillettes
- tipo di terreno e il lotto
- numero paillettes crioconservate per singolo paziente e loro localizzazione nella Banca

CONGELAMENTO

Si effettua nei vapori di azoto e possono essere adoperate due tipi di metodiche: una si basa sul congelamento lento, l'altra su quello rapido.

Il primo metodo si avvale di apparecchiature automatiche che portano gradualmente le cellule dalla T ambiente a quella di crioconservazione con velocità controllata (opzionali).

Il secondo metodo permette un congelamento rapido e non richiede attrezzature sofisticate come la precedente. La tecnica più utilizzata è il congelamento verticale che si effettua nei vapori di azoto in contenitori criogenici di adeguato calibro.

METODOLOGIA DI CRIOCONSERVAZIONE

CONGELAMENTO - METODO RAPIDO

- Ø Vengono valutati i parametri seminali al termine della fluidificazione
- Ø Viene diluito 1:2 il liquido seminale con terreno crioprotettivo e lasciato in termostato a 37°C per 10 min (fase di condizionamento).
- Ø Sigillate le paillettes e marcate
- Ø Inserite le paillettes nell'apposito supporto verticale
- Ø Inseriti i visotubi porta paillettes nelle apposite stecche e posizionate in uno dei cestelli del contenitore di stoccaggio
- Ø Inserito il dispositivo di crioconservazione nel contenitore dell'azoto e lasciate nei vapori di azoto circa 8 minuti
- Ø Al termine del congelamento le paillettes vengono immerse lentamente nell'azoto liquido
- Ø infine vengono estratte lentamente le paillettes dall'azoto e trasferite rapidamente nei visotubi immergendo il tutto nell'azoto liquido.

Per garantire una maggiore sicurezza nella conservazione delle paillettes, occorrerebbe usare una termosaldatrice, più volte richiesta insieme alla etichettatrice, alla Direzione Generale nel corso degli anni: (20 dicembre 2007 Prot. Int. N. 13/07--- 19 maggio 2011 Prot.Int. N. 14/11 Prot DG 0012643 del 20/05/2011--- 03 maggio 2013 Prot. Int. N.09/13: in seguito a questa ultima richiesta è in corso di espletamento la gara per l'acquisto oltre alla termosaldatrice e etichettatrice, anche di un microscopio ottico binoculare e 2 Kit di studio seminale, realizzata con il Contributo liberale in favore di SSD di Andrologia e Fisiopatologia della Riproduzione da parte di MERCK SERONO).

Allo stato attuale e nelle more che venga acquistata la termosaldatrice, vengono utilizzati i tappini jonc per le apposite paillettes.

SCONGELAMENTO

La tecnica di scongelamento deve consentire alle cellule di recuperare le normali attività biologiche, limitando quanto più possibile rapide differenze di temperatura. Pertanto, l'estrazione delle paillettes dall'azoto liquido viene eseguita lentamente al fine di consentire il raggiungimento dell'equilibrio termico tra materiale cellulare ed ambiente esterno.

Tecniche di scongelamento utilizzate:

- a T ambiente per 10' e in termostato a 37 °C per 10'
- in termostato a 37° C per 10'
- a T ambiente (22 °C) per 15'

ARCHIVIO

La banca del seme è dotata di un archivio dedicato, in cui sono conservati a tempo indefinito (per almeno trenta anni-art 14 d. legsl 16/2010) tutti i dati relativi ai pazienti che hanno crioconservato il proprio seme, anche se quest'ultimo è stato eliminato o ritirato in toto.

Art. 14 Decr Legisl 16/2010

Rintracciabilità

1. L'istituto dei tessuti pone in atto sistemi efficaci ed accurati per identificare ed etichettare individualmente cellule e tessuti ricevuti e distribuiti.

*2. L'istituto dei tessuti e l'organizzazione responsabile dell'applicazione sull'uomo conservano per **almeno trenta anni** i dati di cui all'allegato X, avvalendosi di un sistema di registrazione adeguato e leggibile.*

Tale archivio è accessibile solo a personale autorizzato.

Per ogni paziente sono archiviati i seguenti dati:

- Dati identificativi del paziente (codice, cognome, nome, codice fiscale)
- Data della crioconservazione
- Fotocopia del documento di identità
- Documentazione attestante il motivo per cui è stata eseguita la crioconservazione
- Analisi infettivologiche
- Consensi informati
- Numero paillettes congelate, loro capacità volumetrica e loro localizzazione
- Numero paillettes ritirate
- Certificato di morte (eventuale)

Il personale della Banca del Seme (come previsto nell'art.18 del d legsl 191/2007) che possiede le qualifiche necessarie per svolgere tali funzioni e riceve adeguata formazione professionale sono:

1. la drssa G. Peluso, nella qualità di responsabile della Banca,
2. il dr. G. Morrone, medico
3. il dr. C. Perri, medico
4. il dr. G. Arena, medico
5. l'I.P. Natalina Gallo (responsabile, insieme alla drssa Peluso, dell'Archivio)
6. l'IP G. Chiodo.

Fase 3.d) Trattamento di Procreazione Medicalmente Assistita (PMA) di I° livello

RESPONSABILE: DR. G. ARENA

RESPONSABILE del LABORATORIO di P.M.A.: drssa G.PELUSO

- Accordo del 15 marzo 2012 tra il Governo e le Regioni della legge 40/2004
- Legge 40/2004

La PMA di 1° livello è praticata ambulatorialmente con prescrizione del MMG come previsto nel DPGR 129/2011.

Viene seguito inizialmente un iter diagnostico per entrambi i partner nel corso del quale verranno valutati i fattori che portano all'identificazione delle principali cause dell'infertilità e all'impostazione del relativo approccio terapeutico.

Per quanto riguarda la parte femminile, si procede nel seguente modo:

-**anamnesi accurata** (interventi chirurgici, patologie flogistiche addomino –pelviche, ciclicità mestruale, storia ostetrica, familiarità, professione.

-**monitoraggio del ciclo mestruale**

-**esami ormonali**

-**valutazione della pervietà tubarica**

-**valutazione della cavità uterina**

Per quanto riguarda la parte maschile, l'andrologo del servizio procederà nel seguente modo:

-**anamnesi generale**, comprensiva di anamnesi familiare, fisiologica, patologica remota,

-**esami ormonali**

-**esami microbiologici**

-**esame del liquido seminale.**

Quest'ultimo è un' indice predittivo importante per l'entità dell'infertilità maschile poiché sono proprio le caratteristiche del liquido seminale ad indirizzare verso la metodica da utilizzare secondo la gradualità delle procedure di PMA sancita dalla legge 40/2004. Nei casi di patologie medio-lievi del liquido seminale e nei casi di sterilità inspiegata, si procede con **l'Inseminazione Intrauterina**. In base ai risultati scaturiti dalle indagini effettuate nello studio dell'infertilità di coppia, viene indirizzata la coppia verso la metodica più idonea alla problematica d' infertilità che la riguarda.

La coppia sposata o convivente, prima di essere avviata al programma di PMA di I° livello, sottoscrive e firma un consenso informato al trattamento, che illustra e sottolinea tutti i limiti e rischi per quanto riguarda la suddetta metodica, in conformità alla legge 40/04 e ciò è espresso per iscritto in data antecedente al trattamento di almeno 7 giorni. Non basta solo firmare il modulo con le informazioni, ma la coppia viene informata dal medico che gli fa firmare il consenso, dettagliatamente, su tutte le procedure e i rischi della PMA, in quanto la coppia che chiede di essere sottoposta a PMA sia pienamente consapevole del trattamento medico a cui si sottopone. Il medico inoltre dovrà spiegare le possibili terapie e soluzioni alternative, così come prevede la legge 40/2004.

Allo scopo di prevenire la trasmissione di malattie cromosomiche, genetiche ed infettive, entrambi i componenti della coppia vengono sottoposti ai seguenti esami:

-Cariotipo

-Fibrosi Cistica

-Esami ormonali

-Esami infettivologici (epatite B, C, HIV, Citomegalovirus, Sifilide).

-Tamponi: vaginale, cervicale e nel maschio, spermiocoltura per ricerca di germi comuni, miceti, micoplasmi e clamidia con relativo antibiogramma.

-Emocromo ed elettroforesi delle emoglobine.

-MTHFR

E' comunemente definita PROCEDURA DI I° LIVELLO in quanto è la tecnica di procreazione medicalmente assistita meno invasiva .

L'inseminazione intrauterina è considerata una metodica di facile esecuzione, poiché consiste nell'introdurre nella cavità uterina gli spermatozoi, opportunamente capacitati in laboratorio mediante

metodiche di selezione nemaspermica che provvedono alla scelta degli stessi con motilità e morfologia ottimale e alla loro attivazione biochimica.

Si procede pertanto nel seguente modo:

nel periodo dell'ovulazione della donna, che può effettuare questo trattamento o in ciclo spontaneo (senza trattamento farmacologico), o dopo induzione farmacologica blanda (somministrazione di clomifene citrato oppure gonadotropine), viene effettuata presso l'ambulatorio della UOSD la suddetta procedura:

Si fa raccogliere in sede il liquido seminale al partner maschile (previa astinenza di almeno tre giorni), e nel laboratorio di seminologia si procede alla sua preparazione (Respons.biologo dott.ssa G.Peluso). Una volta preparati gli spermatozoi, si mantiene la soluzione degli stessi risospesi in terreno tamponato e in termostato a secco fino al momento dell'utilizzo.

-si procede quindi con il caricamento del catetere solo immediatamente prima di procedere con l'inseminazione;

-quando il ginecologo e la paziente sono pronti, lavorando sotto cappa, il biologo procede a raccordare il catetere alla siringa e ad aspirare tutto il terreno contenente gli spermatozoi direttamente immergendo il catetere nella provetta contenente il liquido;

-quindi si ripone il catetere nella sua custodia sterile al riparo dalla luce, e si passa al medico che procederà all'inseminazione sopracervicale.

- **il ginecologo responsabile delle attività espletate è il Dr. G. ARENA.**
- **in caso di necessità, tutti i medici della UOC di Ginecologia ed Ostetricia e della UOSD di Fisiopatologia della Riproduzione e PMA-Andrologia, possono effettuare tecniche di PMA di 1° livello.**

La Responsabile dell'ARCHIVIO delle cartelle cliniche della P.M.A. di 1° livello è l'IP. Natalina GALLO.

Descrizione della fase 4 in dettaglio (DIMISSIONI)

Ultimato il percorso diagnostico e terapeutico, i pazienti ricoverati in DH o con PAC 13 vengono dimessi dalla UOSD.

Le cartelle cliniche relative alla PMA di 1° livello e alla Crioconservazione del seme e i PAC 13 vengono archiviate in appositi classificatori, quindi mantenute per il periodo indicato dall'Azienda Ospedaliera a disposizione degli addetti per consultazione di carattere scientifico, per l'Istituto superiore di Sanità o per estrarne copia qualora i pazienti lo richiedessero.

Le cartelle di DH vengono conservate nell'Archivio dell'Ospedale.

ATTIVITA' TRASVERSALI A PIU' PROFESSIONALITA' E A PIU' DIPARTIMENTI

Sono in atto collaborazioni con:

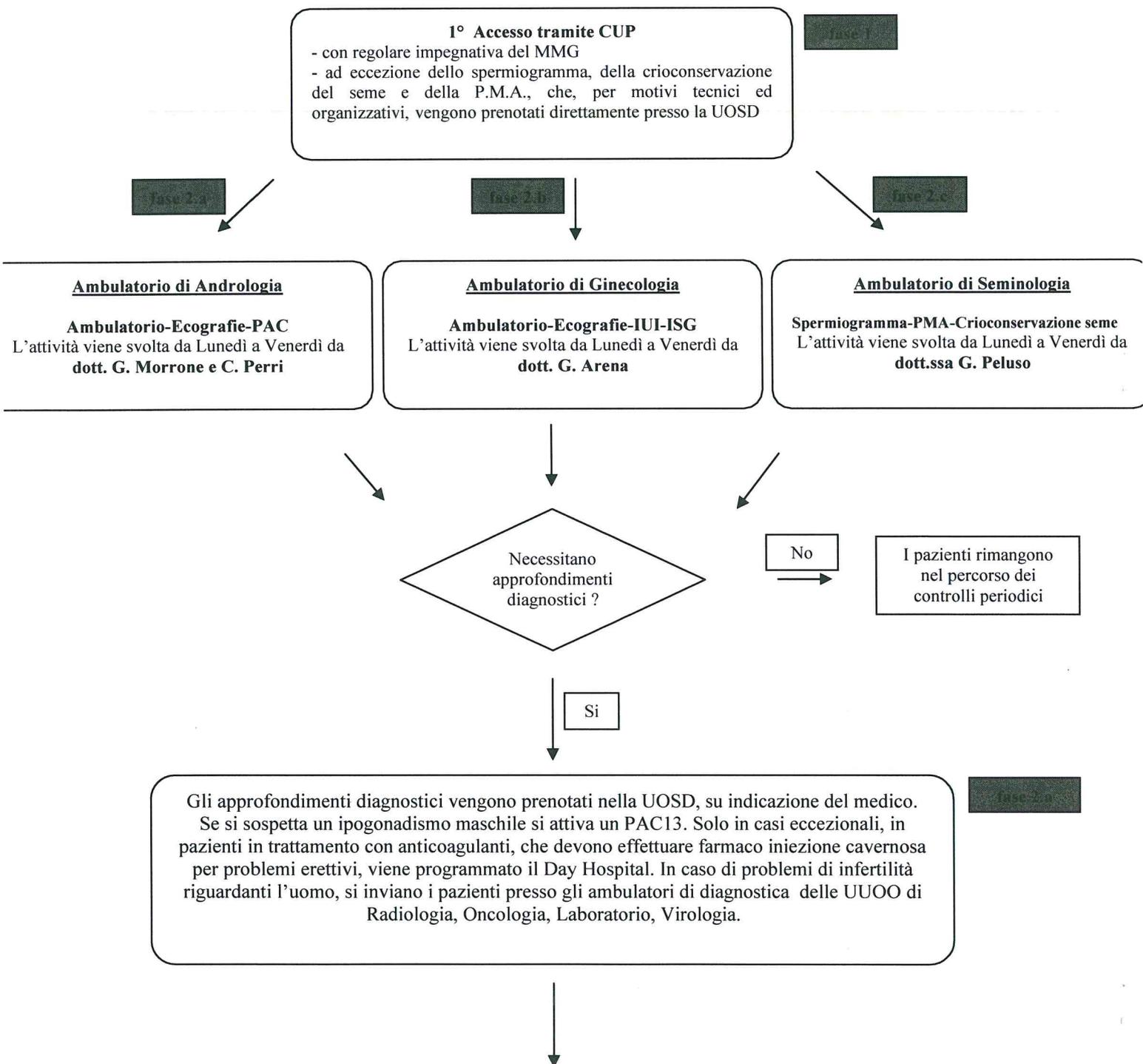
1. UOC OONCOLOGIA (Dr. S. Palazzo - Dr Filice-) "Banca del Seme"

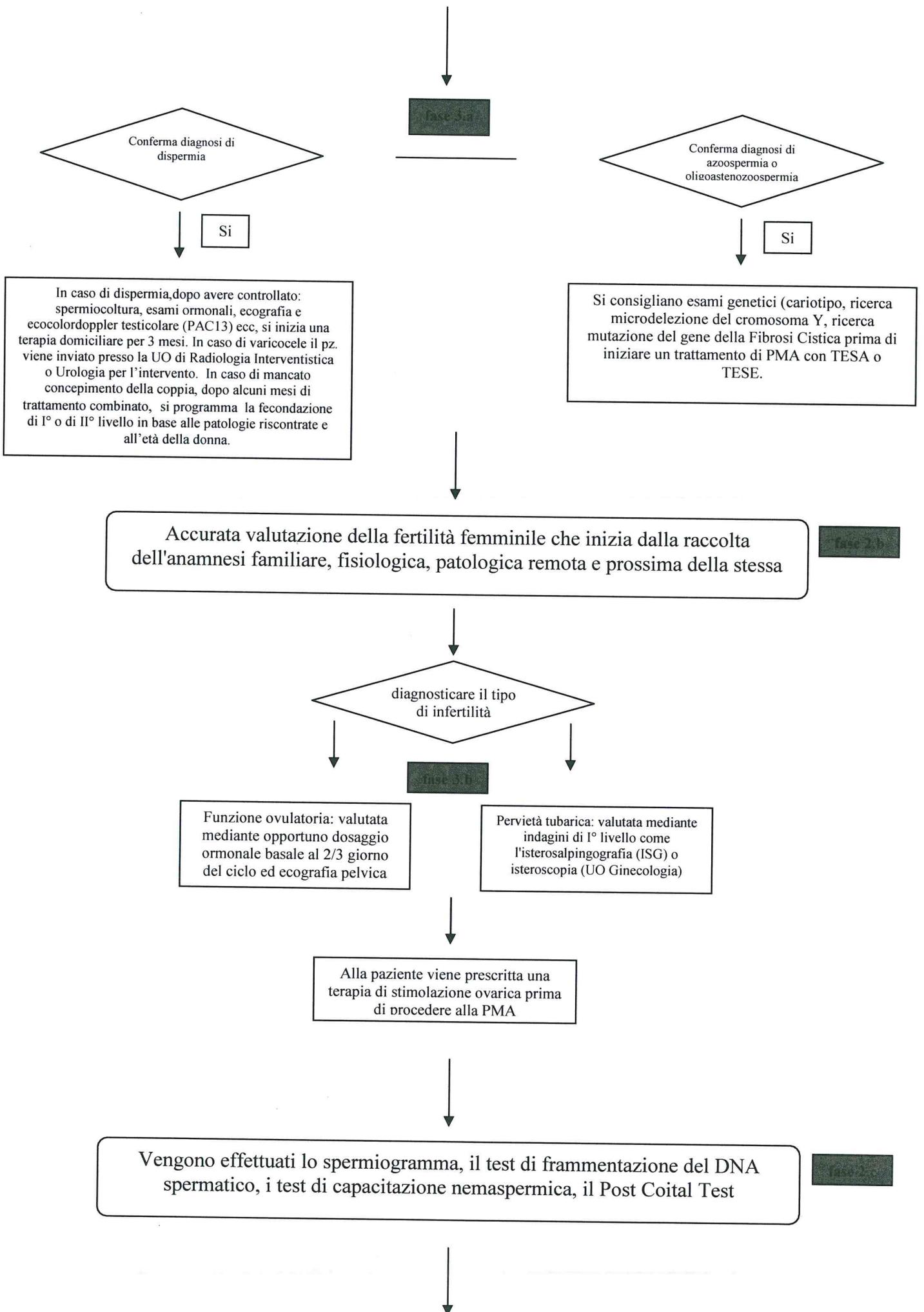
2. UOC UROLOGIA: PP Cozza- G. Rende “interventi per varicocele, fimosi, biopsie testicolari...”
3. UOC GINECOLOGIA: drssa P. Romano-Dr. F. Carbone” Isteroscopia”
4. UOC LABORATORIO ANALISI (Dr. S. Vaccarella) “esami genetici e ormonali”
5. UOC VIROLOGIA: “esami per PMA e CRIOCONSERVAZIONE SEME” (Dr.ssa C. Giraldi)
6. UOSD RADIOLOGIA INTERVENTISTICA (Dr G. Guido-Dr Almolla): “varicocele”
7. UOC PSICHIATRIA: (Dr G. Marchese) “ sostegno alle coppie per Procreazione Assistita”

FERIE

La Medicina della Riproduzione è fondata sul lavoro di gruppo tra il ginecologo, il biologo e l'andrologo e i trattamenti delle coppie infertili sono programmabili. Per non creare disservizio e problemi agli utenti durante tutto l'anno lavorativo, vi è la necessità di concentrare le ferie dei 3 medici e dell'unica biologa in servizio, nello stesso periodo estivo, visto il lavoro di squadra di questa UOSD, con specialisti di branche diverse, ma sinergico nel risultato.

PROPOSTA PDTA
U.O.S.D. di FISIOPATOLOGIA DELLA RIPRODUZIONE e PMA- ANDROLOGIA
Responsabile Dott. Giancarlo Morrone





A tutti i pazienti afferenti alla UOSD che risultano affetti da patologie neoplastiche e costretti a sottoporsi a trattamenti in grado di indurre sterilità, viene consigliata la crioconservazione del proprio seme.
BANCA del SEME-Responsabile: Dott.ssa G. Peluso

Requisiti d'accesso alla crioconservazione

Accertamento di identità e consensi informativi

Periodo di astinenza: 3-5 giorni

Terapie: inducenti danni alla spermatogenesi

Analisi da effettuare pre-crioconservazione

Età: non opportuno indicare limiti di età

Raccolta del campione: deve avvenire presso il centro di crioconservazione

Gestione interna

Struttura: accesso consentito solo a personale autorizzato

Materiali: azoto liquido, terreno di crioconservazione, stecche, visotubi, paillettes e raccordi specifici

Regolare disinfezione

Archivio: dati relativi ai pazienti che hanno crioconservato il proprio seme
Responsabili: Dssa G.Peluso-I.P. N.Gallo

Procreazione Medicalmente Assistita di I° livello
Responsabile: Dott. G. Arena

Iter diagnostico seguito da entrambi i partner

parte femminile si procede con: anamnesi accurata, monitoraggio del ciclo mestruale, esami ormonali, esami microbiologici, esami genetici, valutazione della pervietà tubarica, valutazione della cavità uterina

parte maschile si procede con: anamnesi generale, esame del liquido seminale, esami microbiologici, esami ormonali, ecografia testicolare, esami genetici.



Si procede con l'inseminazione intrauterina che consiste nell'introdurre nella cavità uterina gli spermatozoi, opportunamente capacitati in laboratorio mediante metodiche di selezione nemaspermica che provvedono alla scelta degli stessi con motilità e morfologia ottimale e alla loro attivazione biochimica



LEGENDA SIMBOLI

La linea rappresenta la direzione del ciclo processo



La freccia indica il senso verso cui procede il lavoro



L'ellisse può rappresentare:

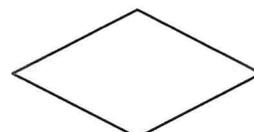
- l'input, il punto del processo
- l'output, punto di arrivo del processo



Il rettangolo indica attività o fasi



Il rombo rappresenta punti di maggiore interesse clinico



e scelte diagnostico-terapeutiche