



# *Ministero della Salute*

## **LINEE GUIDA CONTENENTI LE INDICAZIONI DELLE PROCEDURE E DELLE TECNICHE DI PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA**

**Art. 7 - Legge n. 40/2004  
LINEE GUIDA 2011**

### **PREMESSA**

La legge 19 febbraio 2004, n. 40 "Norme in materia di procreazione medicalmente assistita", all'articolo 7 prevede la definizione da parte del Ministro della Salute di "linee guida contenenti l'indicazione delle procedure e delle tecniche di procreazione medicalmente assistita", linee guida "vincolanti per tutte le strutture autorizzate".

La stessa legge stabilisce modalità che sono da rapportarsi all'indicazione delle procedure e delle tecniche di procreazione medicalmente assistita la cui definizione sarà parte integrante delle presenti linee guida.

Verranno quindi presi in considerazione anche:

- il ricorso alle tecniche di procreazione medicalmente assistita (articolo 4);
- la gradualità nel ricorso alle tecniche (articolo 4);
- il consenso informato da parte di coloro che si sottopongono alle tecniche stesse (articolo 6);
- l'accertamento dei requisiti previsti per le coppie alle quali si applicano le tecniche di procreazione medicalmente assistita (articolo 12);
- le disposizioni concernenti la sperimentazione sugli embrioni umani (articolo 13);
- i limiti all'applicazione delle tecniche di procreazione medicalmente assistita sugli embrioni (articolo 14).

Scopo delle presenti linee guida è quello di fornire chiare indicazioni agli operatori delle strutture autorizzate all'applicazione delle tecniche di procreazione medicalmente assistita affinché sia assicurato il pieno rispetto di quanto dettato dalla legge.

### **INTRODUZIONE**

Secondo una prima definizione la sterilità, almeno nella donna, andrebbe distinta dall'infertilità, intesa come incapacità di condurre la gravidanza fino all'epoca di vitalità fetale. Nell'uomo, invece, essendo il concetto di aborto ovviamente estraneo alla patologia della riproduzione, i due termini sono largamente utilizzati come sinonimi.

Secondo un'altra definizione una coppia è considerata infertile quando non è stata in grado di concepire e di procreare un bambino dopo un anno o più di rapporti sessuali non protetti, mentre è sterile la coppia nella quale uno o entrambi i coniugi sono affetti da una condizione fisica permanente che non rende possibile la procreazione. Secondo questa interpretazione il termine "sterilità" si riferisce, quindi, ad una condizione più grave e comunque assoluta di "infertilità" riguardante la coppia e non il singolo membro di essa.

Ai fini delle presenti linee guida i due termini, infertilità e sterilità, saranno usati come sinonimi.

Viene definita sterilità (infertilità) l'assenza di concepimento, oltre ai casi di patologia riconosciuta, dopo 12/24 mesi di regolari rapporti sessuali non protetti.

Tutte le coppie che non ottengono gravidanza nei termini sopra definiti costituiscono la popolazione delle coppie infertili. Questa popolazione è costituita da:

- coppie sterili nelle quali siano stati accertati fattori di sterilità di almeno uno dei due coniugi;
- coppie con sterilità idiopatica, nelle quali non sia stato possibile accertare un definito fattore responsabile;
- coppie subfertili, per ragioni biologiche o per ripetuta abortività spontanea.

I dati relativi all'incidenza ed alle principali cause di sterilità sono simili a livello mondiale. Nella tabella che segue sono riportati i dati pubblicati da Collins e Spira.

Cause di Sterilità		
CAUSA DI STERILITA'	SPIRA	COLLINS
	FREQUENZA	FREQUENZA
<b>Fattore femminile</b>	57%	54%
Difetto ovulatorio	29%	27%
Fattore tubarico	16%	22%
Endometriosi	7%	5%
Fattore Cervicale	2%	/
Fattore Uterino	3%	/
<b>Fattore Maschile</b>	21%	25%
<b>Sterilità inspiegata</b>	4%	17%
<b>Fattore Masch-Femm.</b>	18%	/
<b>Altri</b>	4%	/

Nella nostra società motivazioni molteplici di ordine sociale, economico e culturale portano molte donne a rinviare oltre la terza decade di vita la ricerca di un concepimento. Dagli ultimi dati relativi alla natalità in Europa, infatti, emerge che l'età media in cui la donna italiana partorisce il primo figlio è superiore ai 31 anni, dato aumentato rispetto al precedente rilievo del 1990 dove risultava essere di 29 anni.

Il fattore temporale si concretizza in tre differenti aspetti e condiziona le strategie diagnostiche:

- età della donna;
- esposizione alla probabilità di concepire;
- riserva ovarica.

**Età della donna:** è uno dei principali limiti posti alla fertilità umana. Con l'età, inoltre, aumenta il rischio di abortire spontaneamente. Tale rischio risulta essere pari al 10% circa per donne di età <

30 anni, al 18% per i soggetti con età compresa fra i 30 e i 39 anni, al 34% per le donne intorno ai 40 anni. Donne di età superiore ai 35 anni hanno una più elevata probabilità di avere difficoltà riproduttive in relazione ad aneuploidie determinate da non-disgiunzioni cromosomiche. La capacità riproduttiva della coppia subisce un declino con l'età. Tale fenomeno si manifesta in maniera più sensibile nella donna; l'aspettativa di avere un figlio per una coppia nella quale è presente una donna di età > 35 anni è ridotta del 50% rispetto alle coppie nelle quali le donne hanno un'età inferiore. Sebbene esistano evidenze scientifiche che la fertilità nella donna diminuisca a partire dai 25 – 28 anni è unanimemente accettato che la riduzione della capacità riproduttiva nella partner femminile inizi intorno ai 35 anni con un progressivo e considerevole calo fino al completo esaurimento della funzionalità ovarica.

**Esposizione alla probabilità di concepire:** la durata dell'infertilità rappresenta il criterio che seleziona la prognosi riproduttiva della coppia a prescindere dalla diagnosi di sterilità. Coppie con una condizione di sterilità di lunga durata hanno una prognosi riproduttiva sfavorevole.

**Riserva ovarica:** la gonade femminile, diversamente da quella maschile, è costituita da un numero finito di unità follicolari, e quindi di cellule uovo, che rappresenta un patrimonio predeterminato suscettibile di un irreversibile depauperamento.

Esiste una soglia critica di patrimonio follicolare, al di sotto di cui vi è una riduzione della potenzialità riproduttiva della donna che può rappresentare l'unico elemento determinante la sub-fertilità, che può essere dovuta all'età riproduttiva avanzata ma anche ad un ridotto patrimonio follicolare congenito (dissociazione tra età anagrafica e patrimonio follicolare), o alla interferenza di fattori iatrogeni o patologici sulla consistenza e consumo del patrimonio follicolare (infezioni, esiti chirurgici, fattori ambientali, stili di vita, etc.).

Un orientamento sulla riserva ovarica può essere ottenuto tramite la valutazione dei livelli di FSH ed estradiolo eseguita in III giornata del ciclo.

#### **ACCESSO ALLE TECNICHE (Articolo 4, legge n. 40/2004)**

*“1. Il ricorso alle tecniche di procreazione medicalmente assistita è consentito solo quando sia accertata l'impossibilità di rimuovere altrimenti le cause impeditive della procreazione ed è comunque circoscritto ai casi di sterilità o di infertilità inspiegate documentate da atto medico, nonché ai casi di sterilità o di infertilità da causa accertata e certificata da atto medico.*

*2. Le tecniche di procreazione medicalmente assistita sono applicate in base ai seguenti principi:*

- a. gradualità, al fine di evitare il ricorso ad interventi aventi un grado di invasività tecnico e psicologico più gravoso per i destinatari, ispirandosi al principio della minore invasività;*
- b. consenso informato, da realizzare ai sensi dell'articolo 6.*

*3. È vietato il ricorso a tecniche di procreazione medicalmente assistita di tipo eterologo.”*

Un'anamnesi accurata e un corretto esame obiettivo rappresentano il primo passo di rilievo nell'ambito del primo colloquio con la coppia infertile/sterile. Durante questa fase, infatti, può emergere una specifica causa di infertilità/sterilità e ciò può aiutare a focalizzare le successive valutazioni diagnostiche sui fattori più probabilmente responsabili della infertilità/sterilità stessa.

Le cause di infertilità/sterilità devono essere ricercate in modo sistematico, efficace e devono essere identificati tutti i fattori rilevanti.

Il percorso e la durata degli accertamenti devono tenere conto dei desideri della coppia, dell'età della donna, della durata dell'infertilità/sterilità e dei dati personali emersi dall'anamnesi e dall'esame obiettivo.

Deve essere compilata una scheda clinica, contenente le valutazioni e i dati pertinenti della coppia, che sarà conservata a cura del centro.

### **CERTIFICAZIONE DI INFERTILITÀ O STERILITÀ (ai sensi del comma 1)**

Certificazione dello stato di infertilità o sterilità: può essere effettuata da ogni medico abilitato all'esercizio della professione.

Certificazione dello stato di infertilità o sterilità per l'accesso alle tecniche di riproduzione assistita: è effettuata dagli specialisti di volta in volta competenti, quali: (in conformità al parere espresso dal CSS).

- uno specialista in genetica medica, per le patologie genetiche;
- un ginecologo, per le patologie femminili;
- un endocrinologo con competenze andrologiche, ovvero un urologo con competenze andrologiche per le patologie maschili;

una volta assicurati i criteri diagnostici e di gradualità terapeutica, tenendo conto anche di quelle peculiari condizioni in presenza delle quali - essendo l'uomo portatore di malattie virali sessualmente trasmissibili per infezioni da HIV, HBV o HCV - l'elevato rischio di infezione per la madre o per il feto costituisce di fatto, in termini obiettivi, una causa ostativa della procreazione, imponendo l'adozione di precauzioni che si traducono, necessariamente, in una condizione di infertilità, da farsi rientrare tra i casi di infertilità maschile severa da causa accertata e certificata da atto medico, di cui all'articolo 4, comma 1 della legge n. 40 del 2004.

Per assicurare adeguato sostegno psicologico alla coppia ciascun centro offre la possibilità di una consulenza da parte di uno psicologo con adeguata formazione nel settore.

La negazione del ricorso alle tecniche, certificata dallo specialista, verrà verificata dal responsabile del centro.

Ogni accertamento effettuato, così come la certificazione di infertilità accompagnata eventualmente dalle sue cause, va riportato in cartella clinica.

### **GRADUALITÀ DELLE TECNICHE (ai sensi del comma 2, punto a)**

Spetta al medico, secondo scienza e coscienza, definire la gradualità delle tecniche utilizzando in prima istanza le opzioni terapeutiche più semplici, meno invasive e meno onerose, tenendo in debito conto l'età della donna, le problematiche specifiche della coppia, le presumibili cause dell'infertilità e della sterilità di coppia, i rischi inerenti le singole tecniche, sia per la donna che per il concepito, nel rispetto dei principi etici della coppia stessa e in osservanza della legge.

Le modalità con cui modulare la gradualità delle tecniche vanno riportate in cartella clinica e motivate.

## **CONSENSO INFORMATO (Articolo 6, Legge n. 40/2004)**

*"1. Per le finalità indicate dal comma 3, prima del ricorso ed in ogni fase di applicazione delle tecniche di procreazione medicalmente assistita il medico informa in maniera dettagliata i soggetti di cui all'articolo 5 sui metodi, sui problemi bioetici e sui possibili effetti collaterali sanitari e psicologici conseguenti all'applicazione delle tecniche stesse, sulla probabilità di successo e sui rischi dalle stesse derivanti, nonché sulle relative conseguenze giuridiche per la donna, per l'uomo e per il nascituro.*

*Alla coppia deve essere prospettata la possibilità di ricorrere a procedure di adozione o di affidamento ai sensi della legge 4 maggio 1983, n. 184, e successive modificazioni, come alternativa alla procreazione medicalmente assistita. Le informazioni di cui al presente comma e quelle concernenti il grado di invasività delle tecniche nei confronti della donna e dell'uomo devono essere fornite per ciascuna delle tecniche applicate e in modo tale da garantire il formarsi di una volontà consapevole e consapevolmente espressa.*

*2. Alla coppia devono essere prospettati con chiarezza i costi economici dell'intera procedura qualora si tratti di strutture private autorizzate.*

*3. La volontà di entrambi i soggetti di accedere alle tecniche di procreazione medicalmente assistita è espressa per iscritto congiuntamente al medico responsabile della struttura, secondo modalità definite con decreto dei Ministri della Giustizia e della Salute, adottato ai sensi dell'articolo 17, comma 3, della legge 23 agosto 1988, n. 400, entro tre mesi dalla data di entrata in vigore della presente legge. Tra la manifestazione della volontà e l'applicazione della tecnica deve intercorrere un termine non inferiore a sette giorni. La volontà può essere revocata da ciascuno dei soggetti indicati dal presente comma fino al momento delle fecondazione dell'ovulo.*

*4. Fatti salvi i requisiti previsti dalla presente legge, il medico responsabile della struttura può decidere di non procedere alla procreazione medicalmente assistita, esclusivamente per motivi di ordine medico-sanitario. In tale caso deve fornire alla coppia motivazione scritta di tale decisione.*

*5. Ai richiedenti, al momento di accedere alle tecniche di procreazione medicalmente assistita, devono essere esplicitate, con chiarezza e mediante sottoscrizione, le conseguenze giuridiche di cui all'articolo 8 e all'articolo 9 della presente legge."*

## **ATTIVITÀ DI CONSULENZA E SOSTEGNO RIVOLTA ALLA COPPIA**

L'attività di consulenza è un processo di comunicazione, riconosciuto di grande beneficio, correlato ad ogni tipo di trattamento offerto.

Ogni centro di PMA dovrà prevedere la possibilità di consulenza alla coppia e la possibilità di un supporto psicologico per la donna e le coppie che ne abbiano necessità (in conformità al parere espresso dal CSS).

L'attività di consulenza e di supporto psicologico deve essere resa accessibile, quindi, in tutte le fasi dell'approccio diagnostico terapeutico dell'infertilità e, eventualmente, anche dopo che il processo di trattamento è stato completato.

Tutti i centri debbono garantire che la consulenza sia offerta ai soggetti prima di iniziare le singole procedure diagnostiche.

In tale occasione alle coppie devono essere forniti gli elementi utili a maturare una accettazione consapevole della tecnica proposta. In particolare devono essere illustrati e discussi:

1. la possibilità di ricorrere agli strumenti offerti dalla legge 4 maggio 1983, n.184, in tema di affidamento ed adozione, come alternativa alla procreazione medicalmente assistita;
2. la disciplina giuridica della procreazione medicalmente assistita (ivi comprendendo anche i divieti, le sanzioni, le tutele e le conseguenze giuridiche per l'uomo, per la donna e per il nascituro di cui agli articoli 8 e 9 della legge 19 febbraio 2004, n. 40);
3. le problematiche bioetiche;
4. le diverse tecniche impiegabili e le procedure/fasi operative di ciascuna tecnica, con particolare riguardo alla loro invasività, nel rispetto dei principi etici della coppia e in osservanza della legge 40/2004;
5. l'impegno dovuto dai richiedenti (ivi comprendendo anche i tempi di realizzazione, l'eventuale terapia farmacologica da seguire, gli accertamenti strumentali e di laboratorio da esperire, le visite ambulatoriali ed i ricoveri, anche in day hospital, da effettuare);
6. gli effetti indesiderati o collaterali relativi ai trattamenti;
7. le probabilità di successo delle diverse tecniche;
8. i rischi per la madre e per il/i nascituro/i, accertati o possibili, quali evidenziabili dalla letteratura scientifica;
9. gli aspetti psicologici relativi ai singoli richiedenti, alla coppia e al nuovo nato;
10. la possibilità di crioconservazione dei gameti maschili e femminili;
11. la possibilità di revoca del consenso da parte dei richiedenti fino al momento della fecondazione dell'ovulo;
12. la possibilità da parte del medico responsabile della struttura di non procedere alla procreazione medicalmente assistita esclusivamente per motivi di ordine medico-sanitario motivati in forma scritta;
13. la possibilità di determinare il numero di embrioni da generare, che non deve essere superiore a quello strettamente necessario alla procreazione, e il cui trasferimento deve essere effettuato non appena possibile, senza pregiudizio della salute della donna. Deve altresì essere illustrato e discusso il rischio di produrre un numero eccessivo di embrioni, con l'inevitabile conseguenza di destinare quelli in soprannumero alla crioconservazione. Ogni decisione va motivata in forma scritta;
14. la possibilità di crioconservazione degli embrioni nei casi conformi a quanto disposto dall'articolo 14 della legge 40/2004 e dalla sentenza della Corte Costituzionale 151/2009;
15. i costi economici totali derivanti dalla procedura adottata.

A volte la consulenza è in grado di aiutare alcuni pazienti ad accettare il fallimento del trattamento e ad accettare l'idea di non avere bambini. E' inoltre fondamentale anche quando si instaura una gravidanza come esito di un trattamento.

I centri debbono assicurarsi che i soggetti siano consapevoli che l'offerta della consulenza viene fatta di routine.

L'offerta dell'attività di consulenza e sostegno deve includere l'informazione scritta di chi la offre.

L'attività di consulenza, a seconda delle situazioni, può essere:

1. **decisionale** il cui scopo fondamentale è di consentire ai soggetti di comprendere e riflettere nel corso della proposta di trattamento che li riguarda sulle implicazioni che questo potrebbe avere per loro, per le loro famiglie e sugli eventuali figli nati come risultato del trattamento.

Questo tipo di consulenza dovrà essere disponibile prima di intraprendere ogni tipo di trattamento o di decisione.

L'operatore che offrirà la consulenza dovrà discutere con tutti i soggetti coinvolti le implicazioni del trattamento:

- per se stessi;
- per i propri familiari, inclusi figli già esistenti o figli futuri, e per la società;

- per ogni figlio o figli che verranno;

2. **di sostegno** che deve supportare le coppie in momenti di stress e difficoltà. Questo può accadere in ogni momento, prima, durante e dopo l'esecuzione del trattamento.

I centri debbono fare ogni sforzo possibile per offrire supporto a qualsiasi soggetto coinvolto nel trattamento e che richieda aiuto,

come ad esempio:

- individui che non possono accedere alle terapie;
- individui che hanno difficoltà ad affrontare un determinato ciclo di trattamento;
- individui nei quali il trattamento e' fallito;

3. **genetica** nella previsione di rischio di anomalie genetiche trasmissibili;

4. **terapeutica** che deve riuscire ad assistere i soggetti che ne abbiano bisogno nello sviluppare strategie che consentano loro di far fronte alle conseguenze dei trattamenti per l'infertilità sia a breve che a lungo termine. Essa include l'aiutare i soggetti a moderare le loro aspettative e ad accettare la realtà di particolari situazioni.

I centri devono invitare coloro che si sottoporranno ai trattamenti a considerare:

- a. la loro attitudine rispetto alla propria infertilità o a quella del partner;
- b. la possibilità che il trattamento fallisca.

L'attività di consulenza decisionale e di sostegno potrà essere svolta dai medici della struttura autorizzata mentre l'attività di consulenza genetica e terapeutica potrà essere svolta da specialisti del settore.

L'offerta dell'attività di consulenza ad una coppia va sempre registrata nella cartella clinica sia che la coppia accetti l'attività di consulenza sia che la rifiuti.

#### **LINEE GUIDA (Articolo 7, Legge n. 40/2004)**

*"1. Il Ministro della Salute, avvalendosi dell'Istituto Superiore di Sanità, e previo parere del Consiglio Superiore di Sanità, definisce, con proprio decreto, da emanare entro tre mesi dalla data di entrata in vigore della presente legge, linee guida contenenti l'indicazione delle procedure e delle tecniche di procreazione medicalmente assistita.*

*2. Le linee guida di cui al comma 1 sono vincolanti per tutte le strutture autorizzate.*

*3. Le linee guida sono aggiornate periodicamente, almeno ogni tre anni, in rapporto all'evoluzione tecnico-scientifica, come le medesime procedure di cui al comma 1."*

## PROCEDURE E TECNICHE DI PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA

Per tecniche di procreazione medicalmente assistita si intendono tutti quei procedimenti che comportano il trattamento di oociti umani, di spermatozoi o embrioni nell'ambito di un progetto finalizzato a realizzare una gravidanza. Questi procedimenti includono: la inseminazione omologa, la fecondazione in vitro e il trasferimento embrionale, il trasferimento intratubarico dei gameti, il trasferimento intratubarico degli zigoti, il trasferimento intratubarico degli embrioni, la crioconservazione dei gameti e degli embrioni. Queste tecniche sono attualmente rappresentate da una gamma di opzioni terapeutiche a diverso grado di invasività sia tecnica che psicologica sulla coppia. La suddivisione qui riportata in Tecniche di I, II e III livello è stata effettuata tenendo conto della loro complessità e del grado di invasività tecnica.

Il principio seguito nella stesura di queste linee guida è quello di utilizzare in prima istanza le opzioni terapeutiche più semplici, meno invasive e meno onerose, tenendo in debito conto l'età della donna e la causa, quando nota, dell'infertilità e della sterilità di coppia.

### **Tecniche di I Livello:**

- inseminazione sopracervicale in ciclo naturale eseguita utilizzando tecniche di preparazione del liquido seminale;
- induzione dell'ovulazione multipla associata ad inseminazione sopracervicale eseguita utilizzando tecniche di preparazione del liquido seminale;
- eventuale crioconservazione dei gameti maschili.

### **Tecniche di II Livello (procedure eseguibili in anestesia locale e/o sedazione profonda):**

- fecondazione in vitro e trasferimento dell'embrione (FIVET);
- iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo (ICSI);
- prelievo testicolare dei gameti (prelievo percutaneo o biopsia testicolare);
- eventuale crioconservazione di gameti maschili e femminili ed embrioni (nei limiti delle normative vigenti);
- trasferimento intratubarico dei gameti maschili e femminili (GIFT), zigoti (ZIFT) o embrioni (TET) per via transvaginale o guidata o isteroscopica.

### **Tecniche di III Livello (procedure che necessitano di anestesia generale con intubazione):**

- prelievo microchirurgico di gameti dal testicolo;
- prelievo degli ovociti per via laparoscopica;
- trasferimento intratubarico dei gameti maschili e femminili (GIFT), zigoti (ZIFT) o embrioni (TET) per via laparoscopica.

## **I) INSEMINAZIONE SOPRACERVICALE CON O SENZA INDUZIONE MULTIPLA DELL'OVULAZIONE**

Vengono in questa sede prese in considerazione le inseminazioni sopracervicali che consistono nell'introduzione degli spermatozoi in utero (IUI), in peritoneo (IPI), oppure mediante perfusione tubarica (FSP)

In questi tipi di inseminazione è necessaria idonea preparazione del campione seminale.

### **Indicazioni**

1. sterilità inspiegata;
2. infertilità maschile di grado lieve - moderato;
3. endometriosi I-II stadio e casi selezionati di III-IV stadio della classificazione American Fertility Society (AFS) in particolare dopo intervento chirurgico;

4. ripetuti insuccessi di induzione della gravidanza con stimolazione dell'ovulazione e rapporti mirati;
5. patologie sessuali e coitali che non hanno trovato giovamento dall'inseminazione intracervicale semplice;
6. fattore cervicale.

In caso di induzione della crescita follicolare multipla:

- è obbligatorio un monitoraggio ecografico e/o ormonale al fine di ridurre il rischio di gravidanze multiple e di sindrome dell'iperstimolazione ovarica severa;
- alle coppie con un problema di infertilità maschile lieve, sterilità inspiegata e endometriosi minima o moderata possono essere offerti fino a sei cicli monitorizzati di inseminazioni intrauterine perché questo protocollo aumenta le possibilità di ottenere una gravidanza.

### **Procedure**

metodiche che prevedono una serie di azioni con questa sequenza:

1. ciclo spontaneo o con induzione farmacologica dell'ovulazione;
2. monitoraggio ecografico e/o ormonale della crescita follicolare;
3. preparazione del campione seminale osservando le seguenti indicazioni
  - il contenitore per la raccolta deve riportare i dati identificativi del soggetto interessato;
  - deve essere registrato su una scheda apposita:
    - nome, cognome, data di nascita della partner femminile;
    - nome, cognome, data di nascita del partner maschile;
    - il periodo di astinenza osservato;
    - il momento e il luogo della raccolta (con particolare riguardo per quei campioni che non vengono raccolti direttamente nel centro);
    - il tempo intercorso fra la raccolta e la preparazione del campione;
  - debbono essere, inoltre, registrati: i parametri del liquido seminale, il metodo di preparazione del campione includendo in dettaglio ogni eventuale variazione dal prodotto standard di laboratorio, i parametri del liquido seminale post-preparazione;
4. introduzione degli spermatozoi nella cavità uterina.

*N.B.: Per le modalità di raccolta/crioconservazione del liquido seminale vedi anche Allegato: Sezione D/par. 5 "Prelievo gameti per PMA/Crioconservazione"*

## **II) FECONDAZIONE IN VITRO E TRASFERIMENTO DELL'EMBRIONE (FIVET)**

### **Indicazioni**

1. fattore tubo-peritoneale: patologia tubarica acquisita o congenita (precedente gravidanza ectopica, precedenti aborti tubarici, anamnesi positiva per flogosi pelvica, interventi chirurgici sulla pelvi);
2. infertilità maschile di grado moderato: quando il trattamento medicochirurgico o inseminazioni intrauterine non hanno dato risultati o sono stati giudicati non appropriati;
3. endometriosi di III o IV grado;
4. endometriosi se la chirurgia o le inseminazioni intrauterine non hanno dato risultati o sono state giudicate non appropriate;

5. infertilità inspiegata se il trattamento precedente (es: cicli di inseminazione) non ha dato risultati o è stato giudicato non appropriato;
6. seme crioconservato in relazione alla qualità seminale successiva allo scongelamento;
- 7- fallimento dell'iter terapeutico a bassa tecnologia.

### **Procedure**

metodiche che prevedono una serie di azioni con questa sequenza:

1. in ciclo spontaneo o con induzione della crescita follicolare e maturazione di più ovociti mediante la somministrazione di farmaci induttori dell'ovulazione;
2. controllo della risposta ovarica a tale terapia mediante monitoraggio ecografico e/o dosaggio di estradiolo;
3. prelievo degli ovociti per via transvaginale, sotto controllo ecografico, in anestesia locale e/o sedazione profonda;
4. preparazione del campione di liquido seminale;
5. scelta degli ovociti;
6. unione e coltura extracorporea dei gameti (ociti e spermatozoi);
7. verifica dell'avvenuta fecondazione di ciascun oocita;
8. trasferimento in utero degli embrioni.

### **III) MICROINIEZIONE INTRACITOPLOSMATICA DELLO SPERMATOZOO (ICSI)**

#### **Indicazioni**

1. infertilità maschile di grado severo;
2. azoospermia ostruttiva e secretiva (spermatozoi testicolari o epididimari);
3. mancata o ridotta fecondazione in precedenti cicli di fecondazione in vitro (FIV);
4. ovociti scongelati;
5. ridotto numero di ovociti;
6. seme crioconservato in relazione alla qualità seminale successiva allo scongelamento.

#### **Procedure**

1. in ciclo spontaneo o con induzione della crescita follicolare e maturazione di più ovociti mediante la somministrazione di farmaci induttori dell'ovulazione;
2. controllo della risposta ovarica a tale terapia mediante monitoraggio ecografico e/o dosaggio di estradiolo;
3. prelievo degli ovociti per via transvaginale, sotto controllo ecografico, in anestesia locale e/o sedazione profonda;
4. preparazione del campione di liquido seminale;
5. le tecniche utilizzate per il prelievo, in caso di azoospermia, sono: Aspirazione Percutanea di Spermatozoi per via Testicolare (TESA), Estrazione di Spermatozoi per via Testicolare (TESE), Aspirazione Microchirurgica di Spermatozoi dall'Epididimo (MESA), Aspirazione Percutanea di Spermatozoi dall'Epididimo (PESA);
6. rimozione del complesso cumulo-corona;
7. inseminazione di ovociti mediante tecnica di microiniezione intracitoplasmatica di un singolo spermatozoo;
8. verifica dell'avvenuta fecondazione di ciascun oocita;
9. trasferimento in utero degli embrioni.

Al fine di consentire alle coppie che si sottoporranno alla ICSI l'espressione consapevole della loro volontà all'esecuzione della tecnica, si raccomanda:

a) nei casi in cui sia presente o sia sospettato uno specifico difetto genetico che si associa con infertilità maschile, ad esempio agenesia congenita mono o bilaterale dei vasi deferenti (CBAVD), deve essere predisposta una consulenza genetica e condotta una serie di indagini specifiche;

b) nei casi in cui l'indicazione alla ICSI sia costituita da un deficit qualitativo grave del liquido seminale o da una azoospermia non ostruttiva deve essere effettuato un cariotipo del partner maschile;

c) i test per l'accertamento di microdelezioni del cromosoma Y devono essere richiesti in casi selezionati caratterizzati da azoospermia o grave oligospermia (< 5 mil/ml).

Le coppie, inoltre, devono essere informate:

- che non si dispone, al momento, di dati di follow-up a lungo termine della salute dei bambini. Inoltre, alcuni dati della letteratura riportano la presenza di una maggiore percentuale di anomalie cromosomiche ed epigenetiche rispetto ai concepimenti naturali. E' ancora controverso se l'aumento di tali anomalie sia legato alla tecnica o alla alterata qualità del liquido seminale paterno.

- del fatto che la ICSI aumenta le possibilità di fecondazione rispetto alla sola IVF ma una volta avvenuta la fecondazione le percentuali di gravidanza ottenute con le due tecniche sono le stesse.

I prelievi chirurgici degli spermatozoi possono avvenire mediante varie tecniche a seconda della situazione clinica del soggetto.

In ogni caso nel centro dovranno essere presenti gli strumenti tecnologici per garantire la possibilità di congelare gli spermatozoi o di eseguire un prelievo testicolare.

#### **IV) TRASFERIMENTO INTRATUBARICO DI GAMETI O EMBRIONI**

##### **Trasferimento intratubarico di gameti (GIFT)**

prevede:

- prelievo degli oociti per via transvaginale ecoguidata o per via laparoscopica;
- trasferimento intratubarico dei gameti maschili e femminili per via laparoscopica o transvaginale, (ecoguidata o isteroscopica).

La tecnica è stata utilizzata per le stesse indicazioni previste per le metodiche a bassa tecnologia (e richiede la normalità morfo-funzionale di almeno una tuba).

La GIFT è un protocollo efficace in coppie con infertilità sine causa.

Va accolta l'opzione preferenziale della donna per la GIFT, anche laparoscopica, ove tale opzione sia motivata dal desiderio di evitare una fecondazione extracorporea.

##### **Trasferimento intratubarico di zigoti od embrioni (ZIFT - TET)**

prevede:

- prelievo degli ovociti per via transvaginale ecoguidata;
- fecondazione in vitro degli oociti;
- trasferimento intratubarico degli zigoti o degli embrioni per via laparoscopica o transvaginale (ecoguidata o isteroscopica).

Non esistono studi prospettici randomizzati che dimostrino una migliore efficacia del trasferimento intratubarico di zigoti od embrioni rispetto al loro trasferimento in utero.

## V) PRELIEVO DI GAMETI DAL TESTICOLO

È compito dello specialista andrologo, o endocrinologo con competenze andrologiche, ovvero urologo con competenze andrologiche, valutare l'opportunità o meno di un trattamento specifico medico oppure chirurgico/endoscopico disostruttivo o di ricanalizzazione delle vie seminali o di correzione della patologia genitale in atto e di scegliere la tecnica di recupero di spermatozoi più appropriata, stabilendo quale sia la soluzione terapeutica più efficace, conveniente e meglio accettata dall'uomo e dalla coppia.

Il prelievo dei gameti maschili può essere praticato con metodiche diverse in relazione alle cause di sterilità maschile:

- patologie eiaculatorie;
- azoospermie ostruttive;
- dispermie secretorie (lievi-medie-gravi).

Le tecniche utilizzate in relazione a tali patologie potranno essere:

- prelievo urinario post-coitum (eiaculazione retrograda);
- prelievo transuretrale dopo elettrostimolazione e massaggio prostatico (aneiaculazione);
- raccolta dell'eiaculato, prelievo testicolare, epididimale, deferenziale, vescicolare con tecnica chirurgica, microchirurgica, percutanea.

## INDICAZIONI PROCEDURALI (anticipate rispetto alle precedenti LG)

### Accertamento dei requisiti per l'accesso alle tecniche

I requisiti previsti dal comma 3 dell'art. 12 vengono accertati dal medico che raccoglie l'autocertificazione dello stato di matrimonio o di convivenza della coppia.

### Esami preconcezionali

I soggetti che si rivolgono ad un centro per un trattamento di procreazione medicalmente assistita devono aver effettuato gli accertamenti previsti dal D.M. 10/09/1998 in funzione preconcezionale per la donna, l'uomo e la coppia.

### Screening per patologie infettive

*Si rinvia all'Allegato: Sezione C Esami pre-trattamento/ 1. Donazione del partner/ Screening per patologie infettive*

### Comportamento da tenere in caso di presenza di patologia infettiva

Quando vi siano coppie positive per HIV, HBV o HCV che vogliano intraprendere un trattamento di fecondazione in vitro devono essere considerate le implicazioni di queste patologie infettive per i potenziali figli.

### REGISTRAZIONE E MANTENIMENTO DEI DATI (\* vedi prototipo)

1. Per ogni coppia deve essere approntata una scheda clinica che contenga le generalità di entrambi i partner, il loro recapito ed in cui siano riportate:
  - a. i dati anamnestici e clinici dei componenti la coppia;

- b. eventuali esami;
  - c. la diagnosi;
  - d. il trattamento con le prescrizioni terapeutiche e la descrizione della procedura eseguita;
  - e. le eventuali tecniche di anestesia e/a sedazione e/o analgesia utilizzate;
  - f. i nominativi del/degli operatori;
  - g. il decorso clinico;
  - h. eventuali complicanze;
  - i. l'esito del trattamento.
- Ecc.

2. Per ogni paziente deve essere approntata una scheda di laboratorio che contenga le generalità di entrambi i partner, il loro recapito e le altre informazioni per le quali

*Si rinvia all'Allegato: Sezione E, punto 2 "Registrazione documentazione"*

- a. per le tecniche minori: le caratteristiche del liquido seminale prima e dopo la preparazione.
- b. per le tecniche maggiori:
  - il numero di ovociti prelevato ed il loro grado di maturità;
  - le caratteristiche del liquido seminale prima e dopo la preparazione, nonché il metodo di preparazione del campione;
  - il numero di ovociti inseminati;
  - il numero di ovociti fertilizzati;
  - il numero di embrioni prodotti e la loro descrizione morfologica;
  - il numero di embrioni trasferiti;
  - deve essere documentato lo stadio dello sviluppo embrionale;
  - gli esami di accertamento dello stato di gravidanza devono essere adeguatamente documentati.
  - i dati riferiti all'embrione devono includere:
    - il numero del lotto e del mezzo utilizzato per il transfer;
    - il tempo intercorso fra pick-up ovocitario e transfer;
    - il tempo intercorso fra l'inseminazione dell'ovocita ed il transfer;
    - il numero degli embrioni ed il loro stadio di sviluppo al momento del transfer;
    - il tipo di catetere utilizzato durante il transfer;
  - il numero di ovociti congelati;
  - l'eventuale numero di embrioni congelati;
  - la codifica utilizzata per l'identificazione degli ovociti congelati;
  - la codifica utilizzata per l'identificazione degli embrioni congelati;
  - la codifica per la corrispondenza alle cartelle cliniche.

3. La scheda clinica e la scheda di laboratorio debbono essere conservate dal centro.

4. In una relazione conclusiva, clinica e biologica, destinata al medico curante e consegnata all'utente al termine della prestazione devono essere indicati:

- la procedura impiegata ed i dettagli della stessa;
- il monitoraggio endocrino/ecografico;
- i dati di laboratorio;
- eventuali farmaci utilizzati nel pick-up;
- il risultato ottenuto;
- ogni indicazione terapeutica utile al curante per il periodo successivo alla procedura effettuata.

**REGISTRAZIONE E MANTENIMENTO DEI DATI (\*prototipo)**

Bozza di Scheda Codice centro

Scheda Clinica Codice Identificativo Coppia

<b>Scheda Anagrafica</b>	
Paziente	Partner
Nome e Cognome	Nome e Cognome
Data di nascita	Data di nascita
Regione di nascita e provincia	Regione di nascita e provincia
Regione di residenza e provincia	Regione di residenza e provincia
Indirizzo	
Stato Civile	Stato Civile
Titolo di Studio	Titolo di Studio
Titolo di Studio	Titolo di Studio
Professione	Professione

<b>Scheda Anamnestica-Clinica</b>	
<b>Paziente</b>	
Anamnesi Generale	
Anamnesi Riproduttiva	
Esami	
Diagnosi	
Trattamento	
Prescrizioni Terapeutiche	
Descrizione procedure eseguite	
<b>Partner</b>	
Anamnesi Generale	
Anamnesi Riproduttiva	
Esami	
Diagnosi	
Trattamento	
Prescrizioni Terapeutiche	
Descrizione procedure eseguite	
<b>Anestesia – Sedazione - Analgesia</b>	
<b>Paziente</b>	
<b>Partner</b>	
Nominativi Operatori	
Decorso Clinico	
Complicanze	
Esito	
Data	
Firma del compilatore	
<b>Scheda di Laboratorio</b>	
Paziente	
Nome e Cognome	

Data di nascita	
Regione di nascita e provincia	
Regione di residenza e provincia	
<b>Tecniche minori</b>	
Partner	
Caratteristiche del liquido seminale (prima e dopo la preparazione)	
<b>Tecniche maggiori</b>	
Paziente	
Numero di ovociti prelevato e grado di maturità	
Numero ovociti inseminati	
Numero ovociti fertilizzati	
Numero embrioni prodotti e loro descrizione morfologica	
Numero embrioni trasferiti	
Documentazione stadio sviluppo embrionale	

I dati riferiti all'embrione devono includere

Numero del lotto e mezzo utilizzato per il transfer	Lotto N° _____ Mezzo _____
Tempo intercorso fra prelievo ovocitario e il transfer	
Tempo intercorso fra l'inseminazione dell'ovocita e il transfer	
Numero degli embrioni e loro stadio di sviluppo al momento del transfer	
Tipo di catetere utilizzato al momento del transfer	
Numero degli ovociti congelati	
Numero degli embrioni congelati	
Codifica utilizzata per l'identificazione degli ovociti congelati	
Codifica utilizzata per l'identificazione degli embrioni congelati	
Codifica per la corrispondenza delle cartelle cliniche	
Partner	
Caratteristiche del liquido seminale (prima e dopo la preparazione)	
Data	
Firma del compilatore	

**MISURE DI TUTELA DELL'EMBRIONE  
SPERIMENTAZIONE SUGLI EMBRIONI UMANI  
(Articolo 13, Legge 40/2004)**

*"1. E' vietata qualsiasi sperimentazione su ciascun embrione umano.*

*2. La ricerca clinica e sperimentale su ciascun embrione umano e' consentita a condizione che si perseguano finalità esclusivamente terapeutiche e diagnostiche ad essa collegate volte alla tutela della salute e allo sviluppo dell'embrione stesso, e qualora non siano disponibili metodologie alternative.*

*3. Sono, comunque, vietati:*

*a) la produzione di embrioni umani a fini di ricerca o di sperimentazione o comunque a fini diversi da quello previsto dalla presente legge;*

*b) ogni forma di selezione a scopo eugenetico degli embrioni e dei gameti ovvero interventi che, attraverso tecniche di selezione, di manipolazione o comunque tramite procedimenti artificiali, siano diretti ad alterare il patrimonio genetico dell'embrione o del gamete ovvero a predeterminarne caratteristiche genetiche, ad eccezione degli interventi aventi finalità diagnostiche e terapeutiche, di cui al comma 2 del presente articolo;*

*c) interventi di clonazione mediante trasferimento di nucleo o di scissione precoce dell'embrione o di ectogenesi sia a fini procreativi sia di ricerca;*

*d) la fecondazione di un gamete umano con un gamete di specie diversa e la produzione di ibridi o di chimere ... (omissis)"*

E' proibita ogni diagnosi preimpianto a finalità eugenetica.

**Le indagini relative allo stato di salute degli embrioni creati in vitro, ai sensi dell'art.14, comma 5, dovranno sempre essere volte alla tutela della salute e dello sviluppo di ciascun embrione.**

**LIMITI ALL'APPLICAZIONE DELLE TECNICHE SUGLI EMBRIONI  
(Articolo 14, Legge 40/2004)**

*"1. E' vietata la crioconservazione e la soppressione di embrioni,fermo restando quanto previsto dalla legge 22 maggio 1978, n. 194.*

*2. Le tecniche di produzione degli embrioni, tenuto conto dell'evoluzione tecnico-scientifica e di quanto previsto dall'articolo 7, comma 3, non devono creare un numero di embrioni superiore a quello strettamente necessario (sentenza Corte Costituzionale n. 151/2009) ~~ad un unico e contemporaneo impianto, comunque non superiore a tre.~~*

*3. Qualora il trasferimento nell'utero degli embrioni non risulti possibile per grave e documentata causa di forza maggiore relativa allo stato di salute della donna non prevedibile al momento della fecondazione è consentita la crioconservazione degli embrioni stessi fino alla data del trasferimento, da realizzare non appena possibile, **senza pregiudizio della salute della donna, come indicato dalla sentenza della Corte Costituzionale n. 151/2009.** (omissis)*

5. I soggetti di cui all'articolo 5 sono informati sul numero e, su loro richiesta, sullo stato di salute degli embrioni prodotti e da trasferire nell'utero. (omissis)  
(omissis)

8. E' consentita la crioconservazione dei gameti maschile e femminile, previo consenso informato e scritto. (omissis)"

La donna ha sempre il diritto ad ottenere il trasferimento degli embrioni crioconservati. Tutti gli embrioni **non immediatamente trasferiti** verranno congelati e crioconservati presso i centri dove le tecniche sono state effettuate e i relativi oneri sono carico dei medesimi centri.

Gli embrioni che verranno definiti in stato di abbandono saranno crioconservati in maniera centralizzata con oneri a carico dello Stato. Per tutti gli embrioni al momento già crioconservati e per quelli che in eccezionali condizioni potrebbero essere conservati dall'entrata in vigore della presente legge ci si atterrà alle modalità di crioconservazione esposte nelle presenti linee guida.

In cartella clinica andranno riportate le motivazioni in base alle quali è stato determinato il numero di embrioni strettamente necessario da generare e, eventualmente, quelle in base alle quali si è stabilito quali e quanti embrioni non trasferiti siano temporaneamente da crioconservare.

## **CRIOPRESERVAZIONE DEI GAMETI CRIOPRESERVAZIONE DEGLI EMBRIONI**

**Si rinvia a quanto contenuto nell'ALLEGATO** "Requisiti per la conformità al d. lgs. 191/2007 e d. lgs 16/2010 nel prelievo, il controllo, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di gameti, zigoti ed embrioni per tecniche di procreazione medicalmente assistita

**(Art. 14, commi 3 ed 8)**

### **Strutture di laboratorio e sicurezza**

1. tutti i centri di procreazione medicalmente assistita che effettuano tecniche di fecondazione in vitro debbono dotarsi di attrezzature adeguate per applicare le migliori tecniche di crioconservazione e scongelamento dei gameti e di crioconservazione degli embrioni. Gli embrioni devono essere conservati in contenitori criogenici dedicati;
2. gli ambienti per la criopreservazione dei gameti e degli embrioni devono presentare adeguate caratteristiche strutturali e di sicurezza ed essere dedicati a svolgere tale specifica attività;
3. devono essere presenti in tutti i centri appropriate misure di sicurezza in caso di rottura o malfunzionamento dei contenitori criogenici e dei sistemi di conservazione;
4. devono essere presenti procedure operative scritte per ogni fase di utilizzo delle paillettes e delle provette per minimizzare i rischi di contaminazione o di perdita di materiale dei campioni da criopreservare;
5. devono essere presenti procedure operative scritte anche per tutti i passaggi seguenti:
  - a. qualificazione del personale;
  - b. pulizia e manutenzione dei contenitori criogenici;
  - c. riempimento dei contenitori criogenici;
  - d. controllo dell'accesso ai contenitori criogenici;
  - e. congelamento e scongelamento;
  - f. localizzazione dei campioni e durata della conservazione;
  - g. trasporto di campioni contaminati;

6. l'accesso all'area di conservazione dei gameti e degli embrioni deve essere consentito solamente a personale formalmente autorizzato a svolgere tale lavoro. Nessuna altra persona può avere accesso ai gameti o agli embrioni;
7. la localizzazione dei gameti e degli embrioni deve essere accuratamente registrata onde ridurre il tempo necessario per la loro manipolazione durante le fasi di inserimento ed estrazione dai contenitori criogenici. Ogni fase, di manipolazione dei gameti e degli embrioni deve essere registrata;
8. la struttura deve disporre di un sistema di monitoraggio per assicurare elevati standard di sicurezza durante la manipolazione e la conservazione dei gameti e degli embrioni;
9. la struttura deve disporre di un sistema di monitoraggio degli errori, delle non conformità e degli eventi avversi occorsi nei soggetti che hanno usufruito dei servizi relativi alla fecondazione medicalmente assistita.

#### **Identificazione**

1. i dati identificativi dei soggetti da cui provengono i gameti o da cui sono stati generati gli embrioni devono essere accuratamente registrati ed i campioni etichettati in modo da non consentire alterazioni non autorizzate o non riconoscibili;
2. i sistemi di registrazione devono consentire la rintracciabilità di ogni fase del trattamento degli ovociti, dei campioni di liquido seminale o degli embrioni da parte di un operatore autorizzato fin dalla data di raccolta.

#### **Controllo della conservazione**

1. almeno una volta l'anno deve essere:
  - a. verificata la corrispondenza fra i dati riportati sulla modulistica e il materiale genetico conservato;
  - b. verificato lo scopo e la durata della criopreservazione;
  - c. individuate eventuali azioni necessarie;
2. la documentazione relativa ai gameti e agli embrioni criopreservati deve includere:
  - a. il tipo e l'eventuale numero di lotto del crioprotettore usato;
  - b. lo stadio dello sviluppo embrionario;
  - c. il numero di embrioni contenuti in ogni paillette;
  - d. il numero di ovociti contenuti in ogni paillette;
  - e. la concentrazione di spermatozoi mobili contenuta in ogni paillette;
  - f. il numero di paillettes conservate per ogni paziente;
3. la documentazione delle procedure di scongelamento degli ovociti e degli embrioni deve includere eventuali cambiamenti morfologici osservati durante lo scongelamento ed il periodo di tempo della coltura prima del trasferimento in utero;
4. le strutture che offrono il servizio di criopreservazione di gameti ed embrioni devono perseguire il mantenimento di un contatto con i soggetti cui appartengono i gameti e gli embrioni onde informarli dell'approssimarsi della data di scadenza della conservazione degli stessi. Tali soggetti devono essere adeguatamente informati per consentirgli di scegliere tra le opzioni disponibili;
5. in caso di chiusura o di mancato rinnovo dell'autorizzazione al centro, o di revoca da parte della Regione, il centro deve contattare i richiedenti la conservazione per decidere il destino dei gameti e degli embrioni conservati.

#### **Contaminazione**

1. i gameti e gli embrioni conservati devono essere tenuti lontani da materiale radioattivo e da ogni potenziale sorgente nota di infezione, contaminazione chimica o atmosferica;

2. i soggetti che usufruiscono dei servizi offerti nei programmi di fecondazione medicalmente assistita, fra cui la crioconservazione dei gameti e degli embrioni, devono essere analizzati per epatite B, epatite C ed HIV e il risultato deve essere adeguatamente protetto;

3. i campioni dei soggetti risultati negativi per epatite B, epatite C ed HIV devono essere conservati in contenitori criogenici differenti da quelli contenenti campioni positivi o di cui manca una documentazione di negatività. I campioni di cui manca una documentazione di negatività devono essere conservati in contenitori criogenici differenti da quelli contenenti campioni positivi per epatite B o per epatite C o per HIV. La struttura deve quindi disporre di più tipi di contenitori:

- a. per campioni negativi;
- b. per campioni in attesa di referto;
- c. per campioni positivi per le diverse patologie infettive (epatite B, epatite C o HIV).

#### **Trasferimento di gameti ed embrioni fra centri**

1. in caso di trasferimento di gameti o embrioni è responsabilità del centro ricevente accertare l'esistenza del consenso dei soggetti da cui provengono i gameti e da cui sono stati generati gli embrioni all'uso e alla conservazione dei gameti e degli embrioni trasferiti;

2. in occasione del trasferimento fra centri, devono essere messe in atto procedure per preservare la qualità e la sicurezza dei gameti e degli embrioni. I centri di conservazione, trattamento e ricerca devono garantire il corretto trasferimento dei gameti ed embrioni.

#### **Crioconservazione degli embrioni: modalità e termini**

Si dovranno considerare due diverse tipologie di embrioni crioconservati: la prima, quella degli embrioni che sono in attesa di un futuro impianto, compresi tutti quelli crioconservati prima dell'entrata in vigore della legge n. 40/2004, e la seconda, quella degli embrioni per i quali sia stato accertato lo stato di "abbandono". In entrambi i casi le spese da sostenere per il congelamento saranno a carico del Centro di procreazione medicalmente assistita. Si verificheranno condizioni diverse solo per la conservazione.

Per definire lo stato di abbandono di un embrione si deve verificare una delle seguenti condizioni:

- a. il centro deve avere una rinuncia scritta al futuro impianto degli embrioni crioconservati da parte della coppia di genitori o della singola donna (nel caso di embrioni prodotti con seme di donatore e in assenza di partner maschile, prima della normativa attuale) oppure
- b. il centro deve documentare i ripetuti tentativi eseguiti per almeno un anno di ricontattare la coppia o la donna in relazione agli embrioni crioconservati. Solo nel caso di reale, documentata impossibilità a rintracciare la coppia l'embrione potrà essere definito come abbandonato.

## ALLEGATO

# REQUISITI PER LA CONFORMITA' AL D. LGS. 191/2007 E D. LGS 16/2010 NEL PRELIEVO, CONTROLLO, LAVORAZIONE, CONSERVAZIONE, STOCCAGGIO E DISTRIBUZIONE DI GAMETI, ZIGOTI ED EMBRIONI PER TECNICHE DI PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA.

### RIFERIMENTI :

DE 2004/23/CE

DE 2006/17/CE

DE 2006/86/CE

D.LGS. 191/2007

D. LGS 16/2010

## SEZIONE A

### OBIETTIVI E ATTIVITA'

#### ***Premessa***

Il presente documento si applica ai gameti (ovuli, spermatozoi), zigoti, embrioni e tessuti gonadici destinati ad applicazioni sull'uomo, nel rispetto della normativa vigente.

Il campo d'applicazione si estende alla qualità e sicurezza delle cellule durante il prelievo, e dei gameti, degli zigoti e degli embrioni durante la manipolazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione al centro sanitario in cui verranno applicate. Non si estende all'applicazione clinica sul paziente dei gameti, zigoti ed embrioni (con atti chirurgici, inseminazione o trasferimento di embrioni).

I procedimenti di PMA cui si fa riferimento nel presente documento sono tutti quelli previsti delle norme in vigore.

Il presente documento tiene conto delle disposizioni nazionali, europee e internazionali e delle conoscenze scientifiche riguardanti gli standard di sicurezza e di qualità per l'utilizzo di cellule e tessuti umani a scopo di trattamento di PMA. I requisiti di cui al presente documento sono in applicazione dei Decreti Legislativi 191/2007 e 16/2010, tenuto conto delle Direttive Europee n. 23/2004, n.17/2006 e n. 86/2006.

I suddetti requisiti si aggiungono ai requisiti di autorizzazione/accreditamento stabiliti dalle Regioni in applicazione di quanto approvato nella Conferenza dei Presidenti delle Regioni e delle Province a autonome del 11.11.2004 "Requisiti strutturali, strumentali e di personale per l'autorizzazione delle strutture che erogano prestazioni di Procreazione Medicalmente Assistita". Laddove questi ultimi sono più elevati non vengono modificati dal presente documento.

E' sottoposto a revisione periodicamente ed in occasione di modifiche legislative, di standard e di nuove conoscenze mediche e scientifiche.

## 1. Definizione di Centro di PMA

Per gli ambiti coperti dal presente documento e in conformità al D.Lgs. 191/2007, si definisce un Centro di PMA ogni struttura sanitaria pubblica o privata autorizzata, individuata dalla Regione di competenza, che ha il compito di prelevare, manipolare, conservare e distribuire gameti prelevati ai fini di applicazioni di tecniche di procreazione medicalmente assistita, o zigoti ed embrioni, certificandone la tracciabilità, l'idoneità e la sicurezza e che opera in conformità ai presenti requisiti e alla normativa vigente.

L'utilizzo di gameti, zigoti o embrioni per procedure di PMA è consentito solo previa valutazione della loro idoneità e sicurezza da parte delle strutture definite nel precedente paragrafo.

Un centro PMA si occupa anche delle fasi di applicazione clinica, non coperte dai requisiti definiti dal presente decreto, in conformità a quanto definito nella legge 40.

Le attività di crioconservazione di gameti o tessuti gonadici ai fini di utilizzo dilazionato in epoca successiva per preservare la fertilità in pazienti a rischio di sterilità iatrogena richiedono competenze specialistiche sia cliniche che biologico-laboratoristiche e rientrano quindi nelle attività di competenza di un centro PMA, regolato dalla Legge 40/2004 e dalle relative linee guida. I requisiti strutturali, professionali e organizzativi dei centri PMA vengono definiti dalle regioni sulla base dei requisiti minimi stabiliti dal gruppo di lavoro interregionale.

In generale un istituto dei tessuti che svolge attività di criopreservazione di gameti e tessuti gonadici deve quindi essere autorizzato dalla Regione alla pratica della PMA, iscritto al Registro Nazionale PMA, e dotato dei requisiti strutturali, professionali ed organizzativi di un centro di PMA di secondo e terzo livello nel caso effettui crioconservazione di gameti femminili e tessuti gonadici, mentre sono sufficienti i requisiti di un centro PMA di primo livello nel caso della sola crioconservazione dei gameti maschili.

Inoltre, nel caso le attività di stoccaggio di gameti e tessuti gonadici siano svolte da un istituto dei tessuti al di fuori di un centro di PMA è necessario che tale attività di esclusivo stoccaggio venga svolta in collaborazione con uno o più centri di PMA autorizzati, che garantiscano l'effettuazione delle fasi di prelievo antecedenti lo stoccaggio stesso e del successivo utilizzo dei gameti e tessuti crioconservati. Tale collaborazione dovrà essere realizzata sulla base di accordi scritti tra le parti. L'istituto dei tessuti che svolge esclusivamente crioconservazione dei gameti maschili e tessuto testicolare può anche essere autorizzato in modo indipendente come banca del seme; in questo caso la banca del seme deve comunque essere autorizzata e periodicamente ispezionata a tal fine dalle Autorità competenti, utilizzando gli stessi criteri che vengono messi in essere per i centri PMA.

## 2. Glossario

- a. **conservazione (stoccaggio)**: combinazione appropriata di condizioni che mantiene la qualità dei gameti e degli embrioni durante periodi di deposito specificati
- b. **convalida** (o «qualifica» in caso di attrezzature o ambienti): la definizione di elementi di prova documentati, in grado di garantire con un elevato livello di certezza che determinati processi, POS, attrezzature o ambienti diano luogo

- a un prodotto conforme alle specifiche e alle caratteristiche qualitative prestabilite; un processo è convalidato al fine di valutare se un sistema funziona efficacemente in rapporto all'impiego previsto;
- c. **contenitori criogenici**: sistemi di stoccaggio a vapori (-150°C) e ad azoto liquido (-196°C), che conservano nel tempo materiale umano
  - d. **crioconservazione**: congelamento con l'utilizzo di un crioprotettore, mediante un raffreddamento controllato e conservazione a temperature validate per mantenere le proprietà del materiale richieste
  - e. **crioprotettore**: sostanza, prodotto chimico, che protegge il gamete, zigote o embrione durante la fase di congelamento, minimizzando gli effetti negativi dell'aumento della concentrazione di soluto e della formazione di cristalli di ghiaccio intracellulari (es. dimetilsolfossido DMSO, glicerolo)
  - f. **critico**: che ha potenzialmente effetto sulla qualità e/o la sicurezza dei gameti, zigoti o embrioni o è a contatto con gameti, zigoti o embrioni;
  - g. **distribuzione**: trasporto e consegna dei gameti, zigoti o embrioni per l'utilizzo clinico.
  - h. **donazione da parte di un partner**: la donazione di gameti tra un uomo e una donna che dichiarano di avere rapporti fisici;
  - i. **evento avverso grave**: qualunque evento negativo collegato con l'approvvigionamento, il controllo, la lavorazione, lo stoccaggio e la distribuzione di cellule o tessuti che possa provocare la trasmissione di patologie, la morte o condizioni di pericolo di vita, di invalidità o incapacità dei pazienti, o ne possa produrre o prolungare l'ospedalizzazione o lo stato di malattia. Deve considerarsi un evento avverso grave anche il caso in cui un bambino sia generato con gameti da persone diverse dalla coppia (a seguito di confusione 'mix-up').
  - j. **gameti**: tutte le cellule destinate ad essere utilizzate ai fini della riproduzione assistita, comprese le gonadi;
  - k. **gestione della qualità**: le attività coordinate per dirigere e controllare un'organizzazione sul piano della qualità;
  - l. **impiego diretto**: qualsiasi procedura in base alla quale le cellule donate vengono utilizzate senza essere conservate;
  - m. **organizzazione di prelievo**: un centro sanitario, un'unità ospedaliera o un altro ente autorizzato in cui si prelevano gameti umani o gonadi che può non essere un istituto dei tessuti;
  - n. **organizzazione responsabile dell'applicazione clinica**: un centro sanitario, un'unità ospedaliera che esegue applicazioni cliniche di gameti, zigoti o embrioni umani, in qualità di Centro PMA.
  - o. **procedure operative standard (POS)**: istruzioni scritte che descrivono le fasi di un determinato processo nonché i materiali e i metodi da utilizzare e il prodotto finale previsto;
  - p. **processazione**: tutte le operazioni connesse con la preparazione, la manipolazione, la conservazione e il confezionamento dei gameti, zigoti o embrioni destinati ad applicazioni sull'uomo
  - q. **quarantena**: stato dei gameti prelevati o dei gameti, zigoti o embrioni in attesa dei dati necessari a rendere idonei le cellule o embrioni per il trattamento

- r. **raffreddamento controllato**: un congelamento progressivo, regolare e riproducibile, effettuato in un congelatore a raffreddamento programmato con l'utilizzo di una soluzione crioprotettrice.
- s. **reazione avversa grave**: una risposta non voluta nel paziente, compresa una malattia trasmissibile, connessa con l'approvvigionamento o l'applicazione di cellule o tessuti che provochi la morte, metta in pericolo di vita invalidità o incapacità dell'interessato, o ne produca o prolunghi l'ospedalizzazione o lo stato di malattia
- t. **sistema di qualità**: la struttura organizzativa, le responsabilità, le procedure, i processi e le risorse destinati ad attuare la gestione della qualità, comprese tutte le attività che direttamente o indirettamente contribuiscono alla qualità
- u. **tecniche di procreazione medicalmente assistita (PMA)**: quei procedimenti che comportano il trattamento di ovociti umani, di spermatozoi o embrioni nell'ambito di un progetto finalizzato a realizzare una gravidanza.
- v. **tracciabilità**: la facoltà di reperire e individuare i tessuti o le cellule in ogni fase dell'approvvigionamento, della lavorazione, del controllo e dello stoccaggio fino alla distribuzione al ricevente o al luogo di smaltimento, compresa la capacità di individuare i pazienti coinvolti e il Centro PMA, e il laboratorio che riceve, lavora o conserva i gameti, zigoti ed embrioni e, a livello di strutture mediche, la capacità di individuare i responsabili che effettuano il trattamento; la tracciabilità comporta inoltre la facoltà di reperire e individuare tutti i dati pertinenti relativi ai prodotti e ai materiali che entrano in contatto con tali gameti, zigoti ed embrioni;
- w. **vitrificazione**: processo mediante il quale si evita la formazione di cristalli durante il congelamento grazie alla viscosità di una soluzione crioprotettrice altamente concentrata raffreddata ad una velocità estremamente rapida.

## **SEZIONE B**

### **REQUISITI ORGANIZZATIVI GENERALI DEI CENTRI DI PMA**

#### **1. Organizzazione del Centro di PMA**

Lo scopo del Centro di PMA deve essere chiaramente stabilito e documentato. Deve avere organizzazione, strutture e procedure operative adeguate alle attività per cui è stato identificato

#### **2. Responsabile**

##### **2.1. Requisiti**

Ogni Centro di PMA designa un responsabile che soddisfi le seguenti condizioni e possieda le seguenti qualifiche minime:

- possesso di un diploma di laurea in medicina rilasciato al termine di un corso di studi universitari e specializzazione in ginecologia; il responsabile del centro pma è affiancato (requisito indispensabile per i Centri di II e III livello) da un biologo, un biotecnologo o un medico con esperienza in medicina della riproduzione o con esperienza di laboratorio responsabile per tutti gli aspetti di specifica competenza laboratoristica, con almeno due anni di esperienza pratica nel settore della pma; nel caso di una banca del seme il responsabile può essere anche un andrologo o endocrinologo o

**urologo** con esperienze andrologiche e biologo con competenze di biologia della riproduzione.

- esperienza pratica di almeno due anni nel settore pertinente.

## **2.2. compiti**

Procedure e regolamenti del Centro devono essere prodotti sotto la sua supervisione.

Assicura che il prelievo, la processazione, i controlli di qualità, lo stoccaggio e la distribuzione dei gameti, zigoti ed embrioni vengano eseguiti nel rispetto della legislazione vigente e delle presenti linee guida.

E' garante della validazione dei gameti, zigoti ed embrioni e dell'avviamento delle procedure in caso di reazioni ed eventi avversi gravi.

## **3. Personale**

Deve essere definito un organigramma che indichi chiaramente i rapporti funzionali e le responsabilità.

Il personale operante presso il Centro deve essere di numero sufficiente e qualificato per i compiti da svolgere, in relazione anche al tipo di tecniche offerte dal centro. I mansionari di tutto il personale devono essere chiari, documentati e aggiornati. I relativi compiti, competenze e responsabilità devono essere ben documentati e compresi.

### **2.1. Addestramento del personale**

Tutto il personale deve possedere un adeguato addestramento iniziale e deve adeguare la propria competenza al progresso scientifico e tecnico attraverso la partecipazione a corsi di aggiornamento, ad incontri tecnici o ad altri programmi formativi. Tutto il personale deve conoscere ed aggiornarsi periodicamente sui cambiamenti delle procedure e della normativa di riferimento

Il programma di addestramento deve assicurare e documentare:

- che ogni soggetto sia competente per i compiti che gli sono affidati;
- che abbia una conoscenza e comprensione adeguata del processo tecnico-scientifico inerente i propri compiti;
- che abbia compreso l'organizzazione, il sistema di qualità e le norme di sicurezza della struttura in cui lavora;
- che sia adeguatamente informato sul contesto etico e legale del proprio lavoro.

Il mantenimento dei livelli di competenza del personale deve essere valutato ad intervalli adeguati specificati nel sistema di qualità.

## **3. Gestione della Qualità**

Il Centro deve applicare e mantenere un sistema documentato di gestione della qualità, per il quale deve essere nominato un responsabile, **di norma** diverso dal responsabile del laboratorio. Il Responsabile del Centro di PMA deve assicurare che l'attività complessiva sia conforme ai requisiti di legge, alle presenti linee guida, ai manuali tecnici e alle procedure operative del Centro.

Il sistema di gestione della qualità deve comprendere un manuale e/o procedure operative standard (POS) che descrivano tutte le attività critiche, comprese le politiche per la qualità, i manuali di formazione del personale, schede per la

gestione della strumentazione/attrezzature, e deve prevedere inoltre documenti, moduli, schede e registrazioni.

La documentazione e le procedure devono essere periodicamente verificate e aggiornate dal responsabile qualità, per l'adeguamento alle modifiche dell'attività o ai requisiti di leggi e norme. Tutte le modifiche dei documenti devono essere verificate, datate, approvate, documentate ed eseguite puntualmente da personale autorizzato. Occorre istituire una procedura di controllo dei documenti che fornisca la storia delle verifiche e delle modifiche dei documenti. Deve esserci una procedura di controllo e distribuzione dei documenti che garantisca che venga utilizzata solo la versione in corso.

Copie del manuale e delle procedure devono essere disponibili per tutto il personale e, dietro richiesta, per tutti coloro che sono autorizzati ad ispezionare il Centro. Una copia di riferimento deve essere conservata a cura del Responsabile del Centro.

Le procedure devono garantire la standardizzazione dell'attività svolta e la rintracciabilità in tutte le sue fasi, dal prelievo alla distribuzione.

E' necessario garantire che i rischi inerenti all'uso e alla manipolazione di materiale biologico vengano individuati e minimizzati, coerentemente con il mantenimento di qualità e sicurezza adeguate alla destinazione prevista di tessuti e cellule. Sono compresi i rischi specificamente concernenti le procedure, l'ambiente e lo stato di salute del personale del Centro di PMA.

Deve essere predisposto un sistema documentato che implichi la supervisione della persona responsabile, per confermare la conformità delle cellule e embrioni ad adeguate specifiche di sicurezza e qualità per il rilascio e la distribuzione.

Tutte le registrazioni critiche per la sicurezza e la qualità dei prodotti devono essere conservate per almeno 10 anni dopo l'uso clinico o lo smaltimento e l'accesso deve essere regolamentato e ottemperare alle prescrizioni di riservatezza. Inoltre, i dati che sono necessari per la tracciabilità vanno conservati per 30 anni.

Deve essere predisposta e approvata dalle autorità competenti una procedura da seguire nel caso di chiusura di un centro per qualsiasi ragione.

## **Documentazione**

La documentazione deve essere riservata, accurata e completa.

Tutti gli atti devono essere leggibili ed indelebili. Possono essere manoscritti o avvalersi di altro sistema convalidato, compreso supporto elettronico. In questo caso devono essere prese tutte le misure di sicurezza contro gli accessi esterni e gli attacchi di eventuali virus e deve essere prevista una procedura di back up giornaliera e comunque tale da evitare la perdita dei dati.

L'esecuzione di ogni fase del processo: prelievo, preparazione, test di laboratorio, deposito, distribuzione e utilizzo dei gameti, zigoti ed embrioni deve essere documentata, in maniera tale che ogni passaggio possa essere chiaramente rintracciato e sia identificata la persona che ha svolto il lavoro, inclusi i dati di diverse unità operative e mostrare i risultati dei test così come l'interpretazione dei risultati, i dati relativi ai prodotti o materiali che vengono a contatto con il materiale umano.

La documentazione deve essere dettagliata in modo che sia possibile una chiara comprensione di ogni passaggio eseguito e deve essere disponibile per ispezioni

da parte di soggetti autorizzati su richiesta entro i limiti di riservatezza medico-legale. L'accesso alla documentazione e ai dati deve essere limitato ai soggetti autorizzati dalla persona responsabile, nonché all'autorità competente a fini di applicazione di misure di ispezione e di controllo.

Devono essere definite procedure volte a risolvere le discordanze tra dati tra loro contrastanti.

### **3.1. Verifica interna della qualità**

Deve essere in atto un sistema di verifica periodica delle attività (audit interna).

Le verifiche devono essere eseguite in modo autonomo da persone qualificate e competenti almeno ogni due anni, al fine di accertare l'osservanza dei protocolli approvati e delle prescrizioni della normativa. I risultati e gli interventi correttivi devono essere documentati.

Gli scostamenti rispetto ai parametri di qualità e sicurezza richiesti devono essere oggetto di indagini documentate, comprendenti anche decisioni relative ad eventuali interventi correttivi e preventivi. La sorte dei gameti, zigoti ed embrioni non conformi deve essere decisa seguendo procedure scritte con la supervisione della persona responsabile e successivamente registrata. Occorre identificare tutto il materiale interessato.

Gli interventi correttivi devono essere documentati, avviati e completati con puntualità ed efficacia. L'efficacia degli interventi preventivi e correttivi va valutata dopo l'attuazione.

Il Centro di PMA deve disporre di un sistema di verifica periodica del funzionamento del sistema di gestione della qualità per garantirne l'adeguamento agli sviluppi normativi e scientifici.

### **3.2. Rintracciabilità**

Ad ogni raccolta deve essere assegnata una sigla ed un numero identificativo unico per quella coppia o per il singolo individuo che servirà per identificare il materiale durante tutti i passaggi, dal prelievo fino alla distribuzione ed utilizzo; questi sigla e numero unico devono mettere in relazione i gameti gli zigoti e gli embrioni con il singolo individuo o con la coppia.

## **4. Tutela della sicurezza e della salute del personale**

E' compito del Responsabile del Centro di PMA assicurare l'attuazione degli adempimenti previsti dal D.Lgs. 81/2008 e norme collegate, ai fini della tutela della sicurezza e della salute del personale.

Nel manuale devono essere incluse le procedure e le precauzioni per mantenere un ambiente di lavoro sicuro che devono uniformarsi alla normativa europea, nazionale e locale.

E' necessario assicurare che il rischio inerente l'uso e la manipolazione del materiale biologico sia identificato e ridotto al minimo, pur mantenendo un livello di qualità e sicurezza delle cellule e dei tessuti adeguato allo scopo prefissato.

## **Strutture ed equipaggiamento**

### **4.1. Strutture**

#### **4.1.1. Locali per la processazione**

Il Centro deve disporre di politiche e procedure scritte per l'accesso, la pulizia, la manutenzione e lo smaltimento dei rifiuti, nonché per garantire la riorganizzazione della prestazione dei servizi in situazioni di emergenza.

Quando tali attività comprendono la lavorazione di gameti, zigoti ed embrioni a contatto con l'ambiente, essa deve svolgersi in un ambiente che garantisca una specifica qualità e pulizia dell'aria al fine di minimizzare i rischi di contaminazione, compresa la contaminazione incrociata tra lavorazioni. L'efficacia di questi provvedimenti deve essere convalidata e controllata.

Per le tecniche di I livello è sufficiente che i gameti siano lavorati sotto cappa, in un ambiente dedicato, pulito e monitorato.

Per la processazione delle tecniche di II e III livello è necessario che la lavorazione avvenga ove possibile sotto cappa a flusso laminare (classe A) con un ambiente di fondo che abbia una qualità dell'aria con numeri di particelle equivalenti almeno al grado D di cui alla Guida europea alle buone pratiche di fabbricazione (Good Manufacturing Practice: GMP), allegato 1.

Condizioni ambientali meno rigorose di quelle specificate possono essere accettabili qualora:

- a) si applichi un procedimento convalidato di inattivazione microbica o di sterilizzazione finale; oppure
- b) sia dimostrato che il contatto con un ambiente di grado A ha effetti nocivi sulle proprietà richieste per i tessuti o cellule di cui si tratta; oppure
- c) sia dimostrato che le modalità e il percorso di applicazione di tessuti o cellule al ricevente comportano un rischio di trasmettere al ricevente infezioni batteriche o fungine, notevolmente inferiore rispetto al trapianto di cellule e tessuti, oppure
- d) non sia tecnicamente possibile eseguire il procedimento richiesto in un ambiente di grado A.

Occorre comunque dimostrare e documentare che l'ambiente prescelto corrisponde alla qualità e sicurezza richieste, prendendo almeno in considerazione la destinazione prevista, le modalità di applicazione e lo stato immunitario del paziente.

Ove non sia possibile la lavorazione sotto cappa (es. ICSI), occorre comunque dimostrare e documentare che l'ambiente prescelto garantisca la qualità e sicurezza richieste con un ambiente che raggiunge il grado D, come minimo.

Nel caso in cui la qualità dell'aria sia scesa sotto il grado D durante una processazione di gameti, zigoti o embrioni, tale materiale può essere impiegato solo se il centro usa procedure validate, dirette a minimizzare i rischi aggiuntivi per il paziente (la donna o il nascituro).

L'ingresso ai locali di processazione deve essere rigorosamente limitato alle sole persone direttamente coinvolte nel processo o a visitatori, autorizzati dal Responsabile, accompagnati da personale interno. L'accesso deve prevedere una vestizione specifica ed un comportamento che permettano di minimizzare le possibili contaminazioni dall'esterno e che salvaguardi la sicurezza personale e del materiale crioconservato

Le procedure per l'ingresso dei materiali e del personale devono essere accuratamente riportate nelle POS e facilmente consultabili da tutti.

#### **4.1.2. Criopreservazione e stoccaggio**

Per le attività che comportano lo stoccaggio di gameti, zigoti ed embrioni, occorre definire le condizioni di stoccaggio necessarie per mantenere le proprietà richieste. Ogni centro di PMA deve dotarsi di apparecchiature idonee dedicate, i parametri critici devono essere controllati e monitorati.

Laddove esiste un rischio di trasmissione di infezione, occorre predisporre zone per lo stoccaggio che separino e distinguano nettamente gameti, zigoti ed embrioni in quarantena da quelli idonei all'utilizzo e da quelli scartati. Se materiali in quarantena e idonei all'utilizzo sono stoccati nello stesso locale/ambiente, è necessario utilizzare dispositivi di stoccaggio fisicamente separati o isolamenti di sicurezza all'interno di contenitori separati.

I campioni dei soggetti risultati negativi per epatite B, epatite C ed HIV devono essere conservati in contenitori differenti da quelli contenenti campioni positivi o di cui manca una documentazione di negatività. I campioni di cui manca una documentazione di negatività devono essere conservati in contenitori differenti da quelli contenenti campioni positivi per epatite B o per epatite C o per HIV. La struttura deve quindi disporre di più tipi di contenitori:

- a) per campioni negativi;
- b) per campioni in attesa di referto;
- c) per campioni positivi per le diverse patologie infettive (epatite B, epatite C o HIV).

Devono essere presenti in tutti i centri appropriate misure di sicurezza in caso di rottura o malfunzionamento dei contenitori criogenici e dei sistemi di conservazione.

### **5. Attrezzature e materiali**

La progettazione e la manutenzione di tutte le attrezzature e i materiali devono corrispondere alle destinazioni previste e minimizzare ogni rischio per i riceventi e/o il personale.

Tutte le attrezzature e i dispositivi tecnici critici devono essere identificati e validati periodicamente ispezionati e preventivamente sottoposti a manutenzione conformemente alle istruzioni del fabbricante. Le attrezzature o i materiali che incidono su parametri critici di lavorazione o stoccaggio (ad esempio temperatura, pressione, numero di particelle) devono essere identificati ed eventualmente sottoposti a osservazioni, vigilanza, allarmi e interventi correttivi adeguati per individuarne le disfunzioni e i difetti e per garantire che i parametri critici rimangano costantemente al di sotto dei limiti accettabili. Tutte le attrezzature che dispongono di una funzione di misurazione critica devono essere tarate su un determinato parametro di riferimento, se disponibile.

Le attrezzature nuove e riparate devono essere controllate al momento dell'installazione e convalidate prima dell'uso. I risultati dei controlli devono essere documentati.

E' necessario procedere periodicamente alla manutenzione, alla pulizia, alla disinfezione e all'igienizzazione di tutte le attrezzature critiche e alle relative registrazioni.

Occorre disporre di norme di funzionamento per ogni attrezzatura critica, con indicazioni dettagliate di come intervenire in caso di disfunzioni o guasti.

Le Procedure Operative devono indicare dettagliatamente le specifiche di tutti i materiali e i reagenti critici. Devono essere in particolare definite le specifiche per gli additivi (ad esempio soluzioni) e i materiali d'imballaggio.

Tutti i terreni e reagenti per uso umano devono essere corredati della documentazione relativa all'esecuzione dei controlli di qualità eseguiti dall'Azienda produttrice. I reagenti e i materiali critici devono corrispondere alle prescrizioni e alle specifiche documentate e, se del caso, alle prescrizioni della direttiva 93/42/CEE del 14 giugno 1993 concernente i dispositivi medici e della direttiva 98/79/CE del 27 ottobre 1998 relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro.

## **6. Collaborazioni esterne**

### **6.1. Idoneità delle strutture in rapporto di collaborazione**

Solo per le fasi e le attività che possono essere svolte al di fuori di un centro PMA, ai sensi della legge 40, qualora il Centro non disponga di tutte le attrezzature organizzative e di laboratorio necessarie ad una ottimale processazione, confezionamento, conservazione o distribuzione dei prodotti, che ne consentano il migliore utilizzo clinico, potrà avvalersi per le procedure mancanti, ma non per l'intero processo, di strutture pubbliche o private nel rispetto delle norme vigenti. Il ricorso a strutture esterne potrà avvenire anche nel caso di impossibilità temporanea, strutturale e/o organizzativa, da parte del Centro di PMA di condurre tutte le operazioni previste. Tale collaborazione sarà regolamentata da apposite convenzioni o accordi scritti o mediante contratti che specifichino le responsabilità che spettano alla struttura esterna e dettagliano le relative procedure.

Il Centro di PMA valuta e seleziona le strutture esterne in base alla loro capacità di ottemperare alle presenti linee guida e alle normative vigenti.

Il Responsabile del Centro di PMA deve garantire che il personale delle strutture terze coinvolto nelle attività effettuate per conto del Centro, sia a conoscenza della normativa di riferimento e del contenuto delle presenti linee guida e che operi in ottemperanza ad esse.

### **6.2. Controllo Parti Terze**

Mediante un sistema di convenzione, il Responsabile deve poter controllare l'attività delle strutture organizzative e/o dei laboratori esterni, acquisire e conservare la certificazione sulla corrispondenza delle attività svolte alle disposizioni contenute al manuale delle procedure e al manuale di qualità del Centro.

## **SEZIONE C**

### **Esami pre-trattamento**

#### **1. Donazione del partner**

##### **Screening per patologie infettive**

Le coppie che si rivolgono ad un centro per un trattamento di procreazione medicalmente assistita devono aver effettuato prima di iniziare il trattamento i test per ricerca di:

Anticorpi anti HIV  
anticorpi anti epatite B (HBsAg) e anticorpi anti core (HBcAb)  
anticorpi anti epatite C

I campioni di sangue vanno prelevati non oltre 90 giorni prima dell'inizio del trattamento e ripetuti ogni sei mesi durante il trattamento. Nel caso di crioconservazione del liquido seminale non è necessaria la ripetizione del test ogni 6 mesi. In determinate circostanze, possono risultare necessari ulteriori esami, in base ai viaggi e all'esposizione del donatore a fattori di rischio e alle caratteristiche dei tessuti o delle cellule donati (per es. malaria, *T. cruzi*).

Nel caso di sperma lavorato per l'inseminazione intrauterina non destinato alla conservazione e a condizione che l'istituto dei tessuti possa dimostrare che il rischio di contaminazione incrociata e di esposizione del personale sia stato scongiurato tramite il ricorso a procedure convalidate, è possibile rinunciare all'obbligatorietà dello svolgimento di test biologici.

#### **1.1. Comportamento da tenere in caso di presenza di patologia infettiva.**

Quando vi siano coppie o pazienti positivi per HIV, HBV o HCV che vogliano intraprendere un trattamento di PMA o stoccare gameti o tessuti per la preservazione della fertilità deve essere prevista una condizione di conservazione e trattamento separati.

### **SEZIONE D**

#### **PRELIEVO CHIRURGICO**

Per le procedure di PMA è necessario dimostrare la rispondenza ai seguenti requisiti:

##### **1. Personale che esegue il prelievo**

Il prelievo è effettuato da medici specialisti che hanno completato e documentato un programma di addestramento predisposto da una équipe medica specializzata o dal Centro di PMA.

##### **2. Procedure per il prelievo**

Devono essere definite procedure per le modalità di esecuzione del prelievo, che tengano conto della sicurezza del soggetto sottoposto a prelievo.

Devono essere definite procedure operative standard (POS) al fine di verificare:

- a) l'identità del donatore;
- b) i documenti relativi al consenso
- d) la valutazione degli esami di laboratorio richiesti.

Vengono inoltre definite POS relative ad approvvigionamento, imballaggio, etichettatura e trasporto delle cellule fino al punto di arrivo al Centro di PMA.

##### **3. Strutture e strumenti per il prelievo**

Il prelievo è effettuato in strutture adeguate, seguendo procedure volte a salvaguardare le proprietà delle cellule e a ridurre il rischio di contaminazione batterica.

Gli strumenti ed i dispositivi impiegati devono essere sterili, convalidati e certificati ed essere regolarmente impiegati per il prelievo di questo tipo di materiale.

Per il materiale non monouso devono essere predisposte procedure per la pulizia e sterilizzazione.

Quando possibile, devono essere impiegati solo strumenti medici con il marchio CE e tutti i membri del personale interessati devono seguire un'adeguata formazione sul loro utilizzo.

#### **4. Fasi pre prelievo**

Prima del prelievo il medico che lo esegue deve effettuare l'identificazione del soggetto, accertarsi che sia stata effettuata la valutazione pretrattamento e sia stata accertato il consenso al trattamento.

La scheda deve essere firmata dal responsabile della procedura di prelievo.

#### **5. Prelievo di gameti per PMA/CRIOCONSERVAZIONE**

Tutti i contenitori devono riportare i dati identificativi del soggetto interessato (nome, cognome, data di nascita e/o codice identificativo) prima che il campione venga prodotto o gli ovociti prelevati.

Per i campioni seminali prodotti fuori dal centro i dati identificativi devono essere apposti sul contenitore dal soggetto interessato il quale deve fornire autocertificazione della consegna del proprio campione di liquido seminale controfirmata dall'operatore che accetta il campione. Per motivi medico-legali i pazienti che crioconservano il liquido seminale nelle Banche del Seme raccolgono il campione presso la Banca stessa esibendo un documento di identità.

Qualora lo sperma sia prelevato a casa, la documentazione relativa al prelievo deve indicarlo e vi deve figurare:

- a) denominazione e indirizzo del laboratorio per PMA cui sono destinati
- b) dati d'identificazione del donatore.
- c) data e ora del prelievo se possibile.

#### **6. Etichettatura delle cellule prelevate**

I dati identificativi dei soggetti da cui provengono i gameti o da cui sono stati generati gli embrioni devono essere accuratamente registrati ed i campioni etichettati in modo da non consentire alterazioni non autorizzate o non riconoscibili.

#### **7. Imballaggio**

Se è necessario effettuare un trasporto di gameti da una struttura esterna al laboratorio fino allo stesso, dopo la raccolta vanno confezionati in modo da ridurre il rischio di contaminazioni e conservati a temperature che salvaguardino le caratteristiche e le funzioni biologiche necessarie. L'imballaggio deve inoltre evitare la contaminazione del personale incaricato di trasportare le cellule.

I gameti imballati vanno spediti in un contenitore idoneo al trasporto di materiali biologici e in grado di salvaguardare la sicurezza e la qualità dei gameti in esso contenuti.

## **8. Etichettatura del contenitore usato per il trasporto**

Se i gameti sono trasportati da un intermediario, ogni contenitore usato per il trasporto deve essere etichettato e recare le seguenti indicazioni:

- a) le diciture: CELLULE e MANIPOLARE CON CAUTELA;
- b) identificazione del Centro di approvvigionamento (indirizzo, telefono)
- c) l'identificazione del Centro di PMA al quale viene spedito il contenitore (indirizzo e numero di telefono) e persona da contattare in caso di problemi;
- d) data e ora d'inizio del trasporto;
- e) descrizione delle condizioni di trasporto con riguardo alla qualità e alla sicurezza e delle cellule;
- f) per tutti i prodotti cellulari, occorre aggiungere la seguente dicitura: NON IRRADIARE;
- g) ove un prodotto risulti positivo a un marcatore di una malattia infettiva, la seguente dicitura: RISCHIO BIOLOGICO;
- i) avvertenze sulle condizioni di conservazione.

## **9. Trasporto**

Il trasporto deve avvenire in modo che siano assicurati sia l'integrità del contenitore, sia il mantenimento di una temperatura adeguata finché non vengono effettuate tutte le procedure previste presso il laboratorio di PMA. Ogni banca deve avere un procedura specifica al riguardo, che definisca le condizioni di trasporto adeguate a ogni tipologia di gamete.

## **SEZIONE E**

### **LAVORAZIONE DELLE CELLULE PER PROCEDURE DI PMA**

#### **1. Ricevimento delle cellule presso il Centro**

All'arrivo presso il laboratorio del Centro, sia che il prelievo sia eseguito all'interno del centro stesso sia che sia stato eseguito presso un'altra struttura, deve essere effettuata una verifica documentata per l'accettazione del materiale.

Per i campioni provenienti da altre strutture l'accettazione deve comprendere la verifica che le condizioni di trasporto, l'imballaggio, l'etichettatura e la documentazione di accompagnamento siano conformi alle SOP della struttura stessa e al presente documento.

Ogni "non conformità" deve essere riportata su apposito registro interno.

Se provengono da strutture esterne, i gameti ricevuti devono essere tenuti in quarantena finché la persona autorizzata, dopo la valutazione dei prodotti e di tutta la documentazione, non li abbia dichiarati idonei all'impiego.

Il laboratorio del Centro deve disporre di procedure documentate per la gestione e la separazione delle cellule non conformi o con risultati delle analisi incompleti, al fine di garantire che non sussistono rischi di contaminazione per altri gameti lavorati, conservati o stoccati.

Prima di accettare qualunque campione biologico deve essere accertata e confermata l'identità del paziente corrispondente.

#### **2. Registrazione documentazione**

Per ogni paziente deve essere approntata una scheda di laboratorio che contenga:

- a) le generalità di entrambi i partner, il loro recapito

b) luogo del prelievo.

### **2.1. per le tecniche minori:**

devono essere indicate le caratteristiche del liquido seminale prima e dopo la preparazione.

### **2.2. per le tecniche maggiori:**

devono essere registrati i seguenti dati:

- il numero di ovociti prelevato ed il loro grado di maturità;
- il destino degli ovociti (congelati, inseminati, eliminati, donati per ricerca)
- le caratteristiche del liquido seminale prima e dopo la preparazione, nonché il metodo di preparazione del campione;
- il numero di ovociti inseminati
- il numero di ovociti fertilizzati;
- il destino degli ovociti fertilizzati (coltura, congelamento, eliminazione per sviluppo anomalo o degenerazione)
- il numero di embrioni prodotti e la loro descrizione morfologica;
- il destino degli embrioni (trasferiti, congelati, eliminati per sviluppo anomalo o degenerati).

Devono inoltre essere riportati i seguenti dati:

- il numero del lotto e del mezzo utilizzato per la coltura
  - il tempo intercorso fra pick-up ovocitario e transfer;
  - il tempo intercorso fra l'inseminazione dell'ovocita ed il transfer;
  - il numero degli embrioni ed il loro stadio di sviluppo al momento del transfer;
  - il tipo di catetere utilizzato durante il transfer;
  - la codifica utilizzata per l'identificazione degli ovociti o degli embrioni congelati;
- la codifica per la corrispondenza con le cartelle cliniche.

### **3. Distinzione del materiale**

Le cellule provenienti da ciascun paziente/coppia devono essere lavorate e conservate singolarmente in modo da evitare contatti o contaminazioni con cellule di altri pazienti.

A ciascun campione di cellule e embrione deve essere attribuito dal laboratorio un codice unico, in modo da renderne possibile la rintracciabilità e il collegamento con gli eventuali altri campioni dei singoli individui coinvolti.

### **4. Modalità di lavorazione**

Ogni centro deve definire un protocollo che garantisca la minimizzazione dei rischi attraverso l'utilizzo di pos specifiche. I passaggi critici del processo devono essere identificati e sottoposti alla verifica in doppio di due operatori.

Durante tutte le fasi di lavorazione e confezionamento si devono usare strumenti sterili, procedure asettiche e condizioni adeguate a evitare la contaminazione e la crescita di microrganismi e a mantenere la vitalità cellulare ove richiesto. Tutte le fasi di lavorazione devono essere effettuate in un ambiente microbiologicamente e climaticamente controllato.

Le procedure di lavorazione critiche devono essere convalidate e non devono rendere le cellule clinicamente inefficaci o nocive per il ricevente. La convalida può

basarsi su studi eseguiti dal Centro stesso, o su dati di studi o linee guida pubblicati, o — per procedure di lavorazione pienamente consolidate — sulla valutazione retrospettiva dei risultati clinici relativi alle cellule o tessuti forniti dal Centro. E' necessario dimostrare che il procedimento di convalida può essere svolto in modo coerente ed efficace nell'ambito del Centro ad opera del suo personale.

Le procedure devono essere documentate nelle POS e tutti i procedimenti devono essere svolti in conformità alle POS approvate. Prima di ogni modifica significativa della lavorazione, il procedimento modificato deve essere convalidato, documentato e approvato dal responsabile del centro.

Le procedure di lavorazione devono essere periodicamente sottoposte a valutazione critica rispetto al mantenimento dei risultati previsti.

## **5. Terreni, reagenti, materiali**

I terreni, i reagenti, i materiali ed i contenitori utilizzati per il prelievo, l'analisi, la conservazione e lo stoccaggio delle cellule o degli embrioni devono essere appropriati al processo da svolgere e sterili. Tali prodotti devono essere corredati da certificati di sterilità e qualità forniti dalle Ditte produttrici con standard riconosciuti in campo internazionale; in caso contrario è richiesta documentazione pubblicata su riviste nazionali o internazionali o su linee guida approvate o dopo approvazione del Comitato Scientifico.

La ditta produttrice, le caratteristiche, il numero di lotto, codice, data di produzione e/o scadenza (nel caso si tratti di prodotti disponibili in commercio) dei terreni e reagenti devono essere registrati sulla scheda di ogni gamete/paziente; nel caso si tratti di reagenti o terreni di coltura prodotti presso il laboratorio del Centro di PMA devono essere registrati n° lotto, data produzione e scadenza, sigla, validazione .

## **6. Stoccaggio**

### **6.1. Criopreservazione**

Gli ambienti per la criopreservazione dei gameti degli zigoti e degli embrioni devono presentare adeguate caratteristiche strutturali e di sicurezza ed essere dedicati a svolgere tale specifica attività e collegati a un sistema di sicurezza e di allarmi per la rilevazione del livello di ossigeno.

Le cellule devono essere conservate in contenitori criogenici dedicati. Devono essere presenti procedure operative scritte per ogni fase di utilizzo delle paillettes e delle provette per minimizzare i rischi di contaminazione o di perdita di materiale dei campioni da criopreservare.

Devono essere presenti procedure operative scritte anche per tutti passaggi seguenti:

- a) pulizia e manutenzione dei contenitori criogenici;
- b) riempimento dei contenitori criogenici;
- c) controllo dell'accesso ai contenitori criogenici;
- d) congelamento e scongelamento;
- e) localizzazione dei campioni e durata della conservazione;

f) trasporto di campioni contaminati.

Solo il personale formalmente autorizzato può avere accesso ai gameti o agli embrioni.

La localizzazione dei gameti e degli embrioni deve essere registrata onde ridurre il tempo necessario per la loro manipolazione durante le fasi di inserimento ed estrazione dai contenitori criogenici. Ogni fase di manipolazione dei gameti e degli embrioni deve essere registrata.

I gameti, gli zigoti e gli embrioni conservati devono essere tenuti lontani da materiale radioattivo e da ogni potenziale sorgente nota di infezione, contaminazione chimica o atmosferica.

## **7. Documentazione**

la documentazione relativa ai gameti, zigoti e agli embrioni criopreservati deve includere:

- a) le tecniche di congelamento e scongelamento utilizzate;
- b) il tipo e l'eventuale numero di lotto del crioprotettore usato;
- c) in caso di embrioni, lo stadio dello sviluppo embrionario;
- e) il numero di zigoti o embrioni contenuti in ogni paillette/vials;
- f) il numero di ovociti contenuti in ogni paillette;
- g) la stima della concentrazione degli spermatozoi nella fase precedente alla crioconservazione.
- h) il numero di paillettes conservate per ogni paziente;

## **8. Controlli**

Almeno una volta l'anno deve essere verificata la corrispondenza fra i dati riportati sulla modulistica e il materiale genetico conservato.

Devono anche essere verificati lo scopo e la durata della criopreservazione e individuate eventuali azioni necessarie.

## **9. Crioconservazione degli embrioni: modalità e termini.**

Tutti gli embrioni che sono in attesa di un futuro impianto verranno congelati e crioconservati presso i centri dove le tecniche sono state effettuate. I relativi oneri verranno definiti sulla base della normativa vigente.

Per quanto concerne gli embrioni, definiti "in stato di abbandono", prodotti prima della legge 40, la Regione o la Provincia autonoma di competenza stabilisce i criteri per allocare i costi di crioconservazione.

## **10. Rilascio di cellule ed embrioni**

Il centro di PMA deve definire una procedura operativa standard che precisi le circostanze, le responsabilità e le procedure inerenti al rilascio di gameti ed embrioni per l'impiego clinico .

Un sistema per l'identificazione dei gameti/embrioni in ogni fase di lavorazione deve distinguere nettamente i prodotti rilasciati da quelli non rilasciati (in quarantena) e da quelli scartati.

Le registrazioni devono dimostrare che prima del rilascio di gameti ed embrioni sono state rispettate tutte le corrispondenti specifiche; che in particolare tutti i moduli di dichiarazione in uso, le cartelle mediche pertinenti, le registrazioni di lavorazione e i risultati dei controlli sono stati verificati in base a una procedura scritta da un soggetto autorizzato a questo scopo dalla persona responsabile. Se per comunicare i risultati di laboratorio si usa un computer, una traccia di controllo deve indicare il responsabile del loro rilascio.

Occorre eseguire una valutazione dei rischi documentata, approvata dalla persona responsabile per decidere la sorte di tutte le cellule ed embrioni stoccati dopo l'introduzione di nuovi criteri di controllo o di notevoli modifiche di fasi di lavorazione, al fine di rafforzare la sicurezza o la qualità.

### **11. Smaltimento di gameti non idonei o non utilizzati e embrioni non-vitali**

Lo smaltimento di gameti non utilizzati o embrioni non-vitali deve avvenire secondo la normativa vigente per lo smaltimento rifiuti potenzialmente infetti, e deve essere riportata e documentata in forma scritta la ragione dell'eliminazione.

## **SEZIONE F**

### **TRASFERIMENTO PER L'IMPIEGO DI GAMETI ED EMBRIONI TRA CENTRI**

#### **1. Preparazione delle cellule o embrioni da inviare ad altra sede**

##### **1.1. Controllo documentazione**

Prima che qualsiasi embrione o gamete sia spedito, il Responsabile Medico del Centro (o altro medico specificatamente delegato) deve ricontrollare l'intera documentazione relativa.

Il Responsabile deve inoltre verificare la completezza e conformità della documentazione di processazione e dei controlli di qualità.

##### **Etichetta finale**

Il contenitore primario delle cellule/embrioni deve indicare:

- a) contenuto, numero d'identificazione o codice dei tessuti/cellule
- b) identificazione Centro di PMA destinatario;
- c) qualora tessuti e cellule risultino positivi a uno specifico marcatore di malattia infettiva, devono recare la dicitura RISCHIO BIOLOGICO.

Se alcune delle informazioni precedenti non possono essere incluse nell'etichetta del contenitore primario, devono essere fornite su un foglio separato ad esso allegato. Il foglio deve essere imballato insieme al contenitore primario in modo da garantire che rimangano uniti.

Le seguenti informazioni devono essere riportate sull'etichetta o nella documentazione di accompagnamento:

- a) descrizione (definizione) e, se del caso, dimensioni del prodotto di tessuto o cellule;
- b) morfologia e dati funzionali se del caso;
- c) data di distribuzione del tessuto/cellule;

- d) raccomandazioni di stoccaggio;
- e) metodica di congelamento e terreni utilizzati
- e) istruzioni per l'apertura del contenitore e dell'imballo e per ogni altra manipolazione/ricostituzione necessaria;
- f) data di scadenza dall'apertura/manipolazione;
- g) istruzioni per la notifica delle reazioni e/o degli eventi avversi gravi
- h) presenza di residui potenzialmente nocivi (ad esempio antibiotici, ossido di etilene, ecc.).

### **1.2. Ispezione dei contenitori**

Deve essere eseguita ispezione finale del contenitore e dei dati riportati sullo stesso, per controllare la sua integrità, la corretta disposizione delle cellule o embrione al suo interno, i dati sull'etichetta e l'identificazione del contenuto. L'etichetta usata dalla struttura dal Centro non può essere rimossa, alterata o oscurata.

### **2. Etichettatura esterna del contenitore per la spedizione**

A fini di trasporto il contenitore primario deve essere collocato in un contenitore per la spedizione, la cui etichetta deve contenere almeno le seguenti informazioni:

- a) identificazione del laboratori del Centro di PMA, compresi indirizzo e numero telefonico;
- b) identificazione dell'organizzazione responsabile dell'applicazione sull'uomo destinatario, compresi indirizzo e numero telefonico;
- c) indicazione che l'imballaggio contiene tessuti/cellule umani con la dicitura MANIPOLARE CON CAUTELA;
- d) la dicitura NON IRRADIARE;
- e) condizioni di trasporto raccomandate (ad esempio conservare al fresco, in posizione verticale, ecc.);
- f) istruzioni per la sicurezza/metodo di raffreddamento (se del caso).

#### **Imballaggio e trasporto nel caso di utilizzo clinico in un centro diverso**

Occorre definire le condizioni di trasporto critiche, quali la temperatura e le scadenze temporali, per il mantenimento delle proprietà richieste per tessuti e cellule.

Il trasporto dei contenitori viene effettuato nel rispetto delle condizioni ambientali predefinite, sulla base della tipologia di prodotti trasportati e delle condizioni di stoccaggio. In alternativa, i prodotti possono essere inviato al centro di trattamento già pronto all'uso, dopo scongelamento e lavaggio, in contenitori sterili e sigillati. Per il trasporto di cellule e tessuti al di fuori del laboratorio del Centro di PMA, é necessario un imballaggio esterno sigillato, idoneo a mantenere la temperatura di stoccaggio o di trasporto indicata nelle procedure operative del laboratorio del Centro di PMA.

Tutti i contenitori e gli imballaggi devono essere convalidati come idonei allo scopo.

Se la distribuzione viene affidata a terzi, occorre predisporre un accordo documentato che garantisca il mantenimento delle condizioni richieste.

### **3.1 Documentazione di ricevimento nel caso di utilizzo in un centro diverso**

Documentazione di conferma del ricevimento delle cellule/embrioni con la firma del medico responsabile del centro o suo delegato deve essere trasmessa al Centro fornitore. La documentazione firmata comprende la data di ricevimento, informazioni sulla destinazione delle cellule /embrione ricevuti e implica la verifica e l'accettazione degli stessi al momento della consegna.

Tale documentazione garantisce la rintracciabilità delle cellule o dell'embrione.

Il centro ricevente ha la responsabilità di comunicare alle autorità competenti le informazioni sul successivo destino delle cellule ricevute (conservazione, utilizzo, eliminazione, ...).

La donna ha sempre il diritto ad ottenere il trasferimento dei gameti, degli zigoti e embrioni crioconservati. Gli eventuali costi di trasferimento da centro a centro sono a carico del richiedente.

In caso di trasferimento di gameti, zigoti o embrioni è responsabilità del centro ricevente accertare l'esistenza del consenso dei soggetti da cui provengono i gameti e da cui sono stati generati gli embrioni all'uso e alla conservazione dei gameti e degli embrioni trasferiti.

## **SEZIONE G**

### **REGISTRAZIONI SUCCESSIVE AL TRATTAMENTO**

#### **Informazioni sui dati minimi da conservare**

- a) Identificazione del Centro fornitore
- b) Identificazione del clinico o responsabile del trattamento
- c) Tipo di gameti
- d) Identificazione del prodotto
- e) Identificazione del ricevente
- f) Data dell'applicazione

## **SEZIONE H**

La struttura deve disporre di un sistema di monitoraggio degli errori, delle non conformità e degli eventi avversi occorsi nei soggetti che hanno usufruito dei servizi relativi alla fecondazione medicalmente assistita.

### **GESTIONE DI REAZIONI ED EVENTI AVVERSI GRAVI**

#### **1. Generalità**

Gli eventi avversi gravi possono realizzarsi in qualunque fase del processo: dal momento della identificazione del donatore al trattamento. Il riscontro può avvenire da parte di una qualunque delle strutture coinvolte nel processo.

In materia di riproduzione assistita si considera evento avverso grave anche ogni tipo di errore d'identificazione o di confusione di gameti o embrioni.

## **2. Responsabilità dei Centri di PMA**

### **2.1. Procedure**

I centri devono fornire le istruzioni per la notifica degli eventi e reazioni a tutte le strutture che intervengono nelle singole fasi del processo.

Ogni struttura deve avere procedure scritte per ottemperare questo requisito.

Il Centro di PMA deve avere procedure per la comunicazione al CNT, che a sua volta deve trasmetterli all'ISS - Registro PMA di ogni reazione/evento avverso grave, comprese tutte le informazioni disponibili pertinenti e le conclusioni dell'indagine volta ad accertarne le cause e l'esito.

Ogni Centro deve avere una procedura scritta, rapida e verificabile, che consenta il ritiro dalla distribuzione di qualsiasi prodotto che possa essere connesso con evento/reazioni avversi gravi.

### **2.2. Notifica**

I Centri devono notificare immediatamente qualsiasi evento/reazione avverso al CNT, che a sua volta deve trasmetterli all'ISS - Registro PMA. Devono essere notificati i provvedimenti adottati per quanto riguarda altri embrioni o cellule interessati, distribuiti per trattamento.

La notifica deve avvenire immediatamente anche se l'implicazione degli embrioni o cellule nella reazione è solo sospetta, così come nel caso in cui vi sia solo l'ipotesi di un rischio legato all'evento rilevato.

### **2.3. Azioni**

I Centri devono intraprendere una indagine per evidenziarne la causa e le implicazioni di eventi/reazioni avverse gravi di cui ha avuto informazione.

Le conclusioni dell'indagine dovranno essere trasmesse al CNT, che a sua volta deve trasmetterli all'ISS - Registro PMA non appena disponibili.

I Centri di PMA, in apposito registro, devono preparare e tenere una relazione scritta sulle ricerche in merito alle reazioni avverse, incluso le conclusioni, il follow-up e le azioni correttive intraprese.

## **3. Modulistica**

I Centri devono inviare tutte le informazioni pertinenti disponibili ed i provvedimenti adottati al CNT, che a sua volta deve trasmetterli all'ISS - Registro PMA, tramite le schede in All I o II, e successivamente la conclusione delle indagine mediante l'All III o IV.

## Allegato I

### NOTIFICA DI REAZIONI AVVERSE GRAVI

#### Notifica rapida di presunte reazioni avverse gravi

Centro di PMA	
Identificazione della notifica	
Data di notifica (anno/mese/giorno)	
Soggetto coinvolto (ricevente o donatore)	
Data e luogo di prelievo(se il soggetto che ha subito reazione è il donatore) o di trattamento (anno/mese/giorno)	
Numero unico d'identificazione della donazione	
Data della presunta reazione avversa grave (anno/mese/giorno)	
Sono coinvolti nella presunta reazione avversa grave Cellule: embrione:	
Tipo di presunta/e reazione/i avversa/e grave/i	

## Allegato II

### NOTIFICA DI EVENTI AVVERSI GRAVI Notifica rapida di presunti eventi avversi gravi

Centro di PMA				
Identificazione della notifica				
Data di notifica (anno/mese/giorno)				
Data dell'evento avverso grave (anno/mese/giorno)				
Evento avverso grave che potrebbe avere effetti sulla qualità e la sicurezza di embrioni o cellule a causa di uno scostamento relativo a:	Specificare			
	Difetto di cellule	Guasto delle attrezzature	Errore umano	Altro (specificare)
Prelievo				
Controllo				
Trasporto				
Lavorazione				
Stoccaggio				
Distribuzione				
Materiali				
Altro ( <i>specificare</i> )				

**Allegato III****Conclusioni dell'indagine  
sulle reazioni avverse gravi**

Centro di PMA	
Identificazione della notifica	
Data di conferma (anno/mese/giorno)	
Data della reazione avversa grave (anno/mese/giorno)	
Numero unico d'identificazione della donazione	
Conferma della reazione avversa grave (sì/no)	
Modifica del tipo di reazione avversa grave (sì/no) In caso affermativo, <i>specificare</i>	
Esito clinico (se conosciuto) – Ristabilimento completo – Postumi lievi – Postumi gravi – Decesso	
Esito dell'indagine e conclusioni finali	
Raccomandazioni di interventi preventivi e correttivi	

## Allegato IV

### Conclusioni dell'indagine sugli eventi avversi gravi

Centro di PMA	
Identificazione della notifica	
Data di conferma ( <i>anno/mese/giorno</i> )	
Data dell'evento avverso grave ( <i>anno/mese/giorno</i> )	
Analisi delle cause di fondo (in dettaglio)	
Provvedimenti correttivi adottati (in dettaglio)	