

# 3

## *Interazione tra spermatozoi e muco cervicale*

### **3.1 Introduzione**

La cervice uterina umana è una struttura cilindrica formata da pareti spesse, che si restringe verso l'orifizio uterino interno. La mucosa endocervicale è costituita da un intricato sistema di cripte che, nel loro insieme, danno la falsa impressione di ghiandole. Queste cripte, formate da tasche di epitelio colonnare della mucosa cervicale, possono essere dirette in maniera obliqua, trasversa o longitudinale; esse non si incontrano mai, sebbene possano essere biforcute o estese verso il basso. La struttura delle cripte cervicali varia con l'età, la fase del ciclo mestruale e gli stati patologici.

L'epitelio cervicale comprende diversi tipi di cellule secretorie che, nelle diverse parti della cervice, variano nella natura e nel numero dei granuli secretori. Le secrezioni di queste cellule contribuiscono alla formazione del muco cervicale. Il ritmo della secrezione mucosa è funzione dell'attività secretoria e della responsività delle cellule secretorie agli ormoni circolanti.

Gli ormoni ovarici regolano la secrezione di muco cervicale; il  $17\beta$ -estradiolo (estrogeni) stimola la produzione di abbondanti quantità di muco acquoso mentre il progesterone (progestinici) inibisce l'attività secretoria delle cellule epiteliali. La quantità di muco cervicale secreto mostra variazioni cicliche. Nelle donne normali in età fertile la produzione giornaliera di muco varia dai 500  $\mu$ l in fase pre-ovulatoria, a meno di 100  $\mu$ l durante gli altri periodi del ciclo. Una piccola quantità di fluidi provenienti dall'endometrio, dalle tube e, talora, dal contenuto follicolare possono a loro volta contribuire al pool del muco cervicale. Sono inoltre presenti leucociti e detriti cellulari provenienti dall'utero e dall'epitelio cervicale.

Il muco cervicale è perciò una secrezione eterogenea che contiene più del 90% di acqua, la maggior parte della quale inclusa nella matrice di mucina. Il muco cervicale mostra alcune caratteristiche reologiche:

La *consistenza* (nella prima edizione indicata come "viscosità") è influenzata dalla situazione molecolare e dalla concentrazione di fosfolipidi e proteine nel muco cervicale. La consistenza del muco varia durante il ciclo: dal muco premenstruale altamente "viscoso", si

passa a quello mediamente "viscoso" e debolmente "viscoso", prima che il muco assuma la tipica consistenza acquosa nella fase centrale del ciclo o pre-ovulatoria;

Lo *spinnbarkeit* (filanza) è il termine utilizzato per descrivere le caratteristiche di fibrosità, di filanza e di elasticità del muco cervicale;

Il *ferning* [cristallizzazione caratteristica del muco cervicale secondo una simmetria a forma di felce, *n.d.t.*] si riferisce al grado e alle caratteristiche di cristallizzazione osservate quando il muco cervicale viene essiccato su una superficie di vetro (Fig. 3.1).

Il muco cervicale è un idrogel, formato da una componente ad alta "viscosità" (fase gel) e da una componente a bassa "viscosità" che comprende elettroliti, composti organici e proteine solubili. A sua volta la componente ad alta "viscosità" è costituita da una rete macromolecolare di mucina, che è la principale responsabile delle proprietà reologiche del muco. Studi biochimici e biofisici hanno dimostrato che la mucina cervicale è un sistema fibrillare formato da subunità che sono costituite da un core peptidico e da catene laterali di oligosaccaridi. Le alterazioni cicliche dei costituenti del muco cervicale possono influenzare la capacità penetrativa degli spermatozoi e la loro sopravvivenza.

La penetrabilità agli spermatozoi del muco cervicale umano inizia approssimativamente alla nona giornata di un normale ciclo e aumenta gradualmente per raggiungere il massimo in corrispondenza dell'ovulazione. La penetrazione degli spermatozoi viene normalmente inibita entro uno o due giorni dopo l'ovulazione. Sono comunque frequenti variazioni individuali per quanto riguarda il tempo e il grado di penetrabilità agli spermatozoi. Gli spermatozoi, seguendo le linee di forza del muco cervicale, raggiungono le cripte cervicali, dove possono essere trattenuti e rilasciati a ritmo lento nell'utero e nelle tube di Fallopio.

Alla cervice e alle sue secrezioni si possono attribuire le seguenti proprietà: (a) recettività alla penetrazione degli spermatozoi in corrispondenza dell'ovulazione e interferenza a tale ingresso negli altri periodi del ciclo, (b) protezione degli spermatozoi nei confronti dell'ambiente ostile della vagina e contro i rischi di fagocitosi, (c) completamento delle richieste energetiche degli spermatozoi, (d) effetto "filtro", (e) possibile serbatoio di spermatozoi e (f) luogo di eventuale capacitazione degli spermatozoi.

Gli spermatozoi sono sospesi in ogni momento in un medium fluido. L'interazione degli spermatozoi con le secrezioni del tratto riproduttivo femminile è di importanza critica per la sopravvivenza e per la capacità funzionale degli spermatozoi. Al momento non esiste un metodo pratico per la valutazione degli effetti dei fluidi uterini e tubarici umani sugli spermatozoi. Il muco cervicale può essere invece facilmente raccolto e studiato. La valutazione dell'interazione tra spermatozoi e muco cervicale è perciò un importante criterio che deve essere incluso in ogni studio approfondito sull'infertilità.

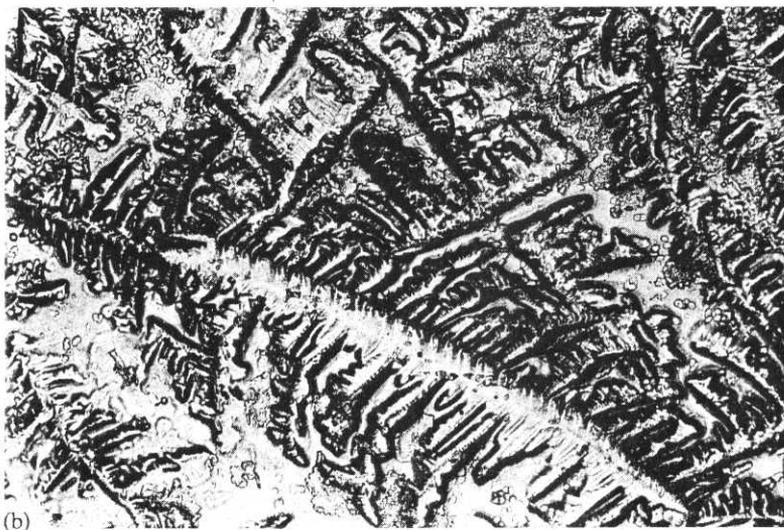
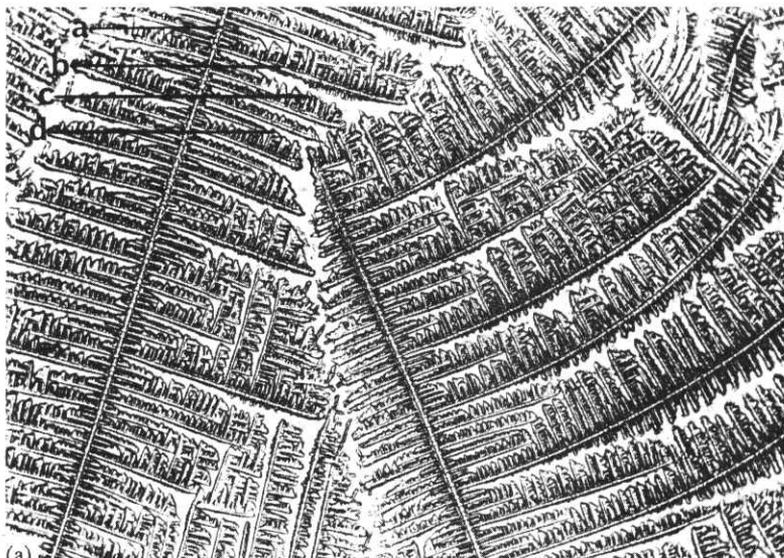
### 3.2 Raccolta e conservazione del muco cervicale

#### 3.2.1 Procedura per la raccolta

La cervice viene evidenziata con uno speculum e l'orifizio esterno viene delicatamente pulito con un tampone di cotone per rimuovere il pool esterno di contaminanti vaginali. Il muco cervicale viene prelevato dall'endocervice con uno dei due seguenti metodi. Il muco può essere aspirato con una siringa da tubercolina (senza ago), una siringa da muco, una pipetta o un tubo di polietilene. Il muco cervicale può essere anche prelevato usando speciali pinze realizzate a tale scopo le cui pale concave raccolgono il muco. Quando il muco cervicale viene prelevato per un post-coital test frazionato, si dovrebbero usare due diverse siringhe per raccogliere separatamente i pools endo e esocervicali. Quando possibile, la qualità del muco dovrebbe essere valutata immediatamente dopo il prelievo. Se ciò non è possibile il campione

Fig. 3.1 Esempi di cristallizzazione con simmetria a felce del muco cervicale essiccato all'aria su un vetrino da microscopio (scala: 100 x). Il tipo di cristallizzazione può essere molto variabile, essendo legata per esempio, allo spessore del preparato o al numero delle cellule presenti. Inoltre un preparato può mostrare più di uno stadio di cristallizzazione: talora tutti gli stadi possono essere presenti nello stesso preparato.

- (a) Cristallizzazione con punteggio 3: a, ramificazione primaria; b, ramificazione secondaria; c, ramificazione terziaria; d, ramificazione quaternaria.
- (b) Ramificazioni primarie e secondarie (punteggio 2), sono parzialmente presenti anche ramificazioni terziarie.
- (c) Cristallizzazione atipica (punteggio 1).
- (d) Assenza di cristallizzazione (punteggio 0). Le strutture tonde con pareti spesse sono bolle d'aria.

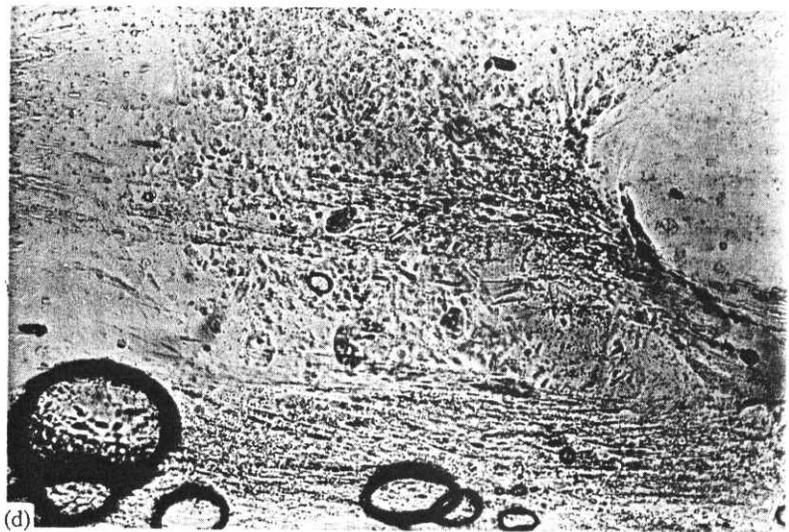


dovrebbe essere conservato con cura fino a quando sarà esaminato in laboratorio (vedi Sezione 3.2.2).

Quando la quantità o la qualità del muco cervicale non siano soddisfacenti, la sua produzione può essere aumentata con la somministrazione, per 10 giorni, di 20-50 µg giornalieri di etinil estradiolo, iniziando dalla quinta giornata del ciclo. Il muco può essere raccolto in qualunque momento, 7-10 giorni dopo la somministrazione. Lo stesso risultato si può ottenere utilizzando un contraccettivo orale sequenziale, nei paesi in cui questo prodotto è disponibile.

### 3.2.2 *Conservazione e mantenimento*

Il muco può essere conservato all'interno della stessa siringa per tuberculina, in tubi di polietilene o in piccole provette, sigillate con un tappo o con carta paraffinata per impedire la disidratazione. I cam-



pioni devono essere conservati in frigorifero a 4 °C per un periodo che non superi i 5 giorni. Non è consigliabile utilizzare per il test di penetrazione e per indagini reologiche campioni che siano stati congelati e scongelati.

### 3.3 Valutazione del muco cervicale

La valutazione delle caratteristiche del muco cervicale comprende la determinazione del valore di spinnbarkeit (filanza), del ferning (cristallizzazione), della consistenza e del pH. L'Appendice XVI mostra un modulo per la registrazione dei dati del post-coital test nel quale queste proprietà del muco cervicale sono registrate secondo lo schema ideato da Moghissi (1976). Il massimo punteggio per il muco cervicale è 15. Un punteggio superiore a 10 normalmente è indicativo di un buon muco cervicale capace di favorire la penetrazione degli spermatozoi, mentre un punteggio inferiore a 10 può indicare un muco sfavorevole. Il punteggio è desunto dal volume del muco cervicale e da altre quattro variabili (da Sezione 3.3.2 a 3.3.5) che descrivono le sue caratteristiche; il pH del muco non viene incluso nel punteggio totale del muco cervicale.

#### 3.3.1 *Volume*

Alla quantità di muco cervicale viene assegnato il seguente punteggio:

- 0 = 0 ml,
- 1 = 0,1 ml,
- 2 = 0,2 ml,
- 3 = 0,3 ml o più.

#### 3.3.2 *Consistenza*

La consistenza del muco cervicale costituisce l'ostacolo principale alla penetrazione degli spermatozoi. Durante la fase peri-ovulatoria non c'è resistenza alla progressione spermatica, mentre il muco "viscoso", tipico della fase luteinica, forma una barriera impenetrabile agli spermatozoi. Detriti cellulari e leucociti presenti nel muco cervicale impediscono la migrazione degli spermatozoi. Si pensa che anche estese endocervicitis possano essere associate ad una ridotta fertilità.

Alla consistenza del muco cervicale viene assegnato il seguente punteggio:

- 0 = muco premenstruale, altamente "viscoso" e compatto,
- 1 = tipo intermedio ("viscoso"),
- 2 = mediamente "viscoso",
- 3 = muco normale nella fase centrale del ciclo (pre-ovulatorio).

#### 3.3.3 *Ferning (cristallizzazione)*

Alla cristallizzazione del muco cervicale viene assegnato il seguente punteggio:

- 0 = mancanza di cristallizzazione,
- 1 = cristallizzazione atipica,
- 2 = cristallizzazione con ramificazioni primarie e secondarie,
- 3 = cristallizzazione con ramificazioni terziarie e quaternarie.

### 3.3.4 *Spinnbarkeit (filanza)*

Un vetrino coprioggetti viene appoggiato sul campione di muco e poi sollevato delicatamente. La lunghezza del filamento di muco cervicale costituito viene misurata in centimetri e classificata come segue:

- 0 = < 1 cm,
- 1 = da 1 a 4 cm,
- 2 = da 5 a 8 cm,
- 3 = ≥ 9 cm.

### 3.3.5 *Cellularità*

Una valutazione del numero di leucociti e di altre cellule presenti nel muco cervicale viene eseguita a 400 ingrandimenti (chiamato "high power field" o HPF).

- 0 = ≥ 11 cellule/HPF,
- 1 = da 6 a 10 cellule/HPF,
- 2 = da 1 a 5 cellule/HPF,
- 3 = 0 cellule/HPF.

### 3.3.6 *pH*

Il pH del muco endocervicale dovrebbe essere misurato *in situ* o immediatamente dopo la raccolta con le apposite cartine indicatrici di pH e dovrebbe essere compreso tra 6,4 e 8,0. Se il pH viene misurato *in situ* si dovrebbe porre particolare cura nel misurare correttamente il pH del muco endocervicale perché il pH del muco esocervicale è sempre più basso; si devono inoltre evitare contaminazioni con i secreti vaginali, che hanno un pH ancora più basso.

Gli spermatozoi sono sensibili ai cambiamenti di pH del muco cervicale. Il muco acido immobilizza gli spermatozoi mentre quello alcalino ne aumenta la motilità. L'eccessiva basicità del muco cervicale (pH superiore a 8,5) può influire negativamente sulla vitalità degli spermatozoi. Il pH ottimale per la progressione e la sopravvivenza degli spermatozoi nel muco cervicale è tra 7 e 8,5 e rappresenta il range di pH del normale muco endocervicale nel periodo pre-ovulatorio. Un pH compreso tra 6 e 7 non è comunque incompatibile con la penetrazione degli spermatozoi.

## 3.4 **Interazione tra spermatozoi e muco cervicale**

Il muco cervicale è idoneo alla penetrazione degli spermatozoi solo per un periodo di tempo limitato durante il ciclo mestruale. Il muco sottoposto all'azione degli estrogeni favorisce la migrazione spermatica. Il periodo di tempo durante il quale gli spermatozoi possono penetrare nel muco cervicale varia considerevolmente da una donna ad un'altra e può variare nello stesso soggetto da un ciclo all'altro. Per ogni soggetto si dovrebbe perciò valutare tale variabilità per determinare il momento migliore in cui effettuare il test di penetrazione.

### 3.4.1 *Test in vivo (post-coital test)*

#### 3.4.1.1 *Scelta del momento in cui effettuare il test*

I post-coital test dovrebbero essere effettuati il più possibile vicino al momento ovulatorio, che viene determinato in base ai tradizionali cri-

teri clinici (temperatura basale, variazioni del muco cervicale e citologia vaginale). Ogni coppia dovrebbe essere informata sulla necessità di astenersi da rapporti sessuali nei due giorni precedenti a quello in cui si effettua il test. Il test dovrebbe essere condotto preferibilmente dopo 6-10 ore dal rapporto. Il test si può effettuare comunque anche dopo intervalli più lunghi, per esempio da 18 a 24 ore dopo il coito. E' importante che ogni laboratorio standardizzi l'intervallo di tempo tra rapporto sessuale e valutazione del muco cervicale.

#### 3.4.1.2 *Tecnica del post-coital test*

Introdotta in vagina uno speculum non lubrificato, viene poi aspirato un campione del pool del fornice vaginale posteriore utilizzando una siringa da tuberculina (senza ago) o una pipetta o un tubo di polietilene. Usando siringhe diverse si possono raccogliere campioni di muco esocervicale e endocervicale. I campioni vengono poi posti su altrettanti vetrini portaoggetti, coperti con vetrini coprioggetti e esaminati a 400 ingrandimenti.

#### 3.4.1.3 *Campione proveniente dal pool vaginale*

Normalmente gli spermatozoi sopravvivono in vagina circa due ore. Lo scopo dell'esame del campione vaginale è quindi quello di assicurarsi che il liquido seminale sia stato realmente deposto in vagina.

#### 3.4.1.4 *Campioni dell'esocervice e della bassa cervice*

Il numero di spermatozoi presenti nella parte inferiore del canale cervicale varia con il tempo trascorso dal rapporto. Entro 2 o 3 ore dopo il coito c'è un notevole accumulo di spermatozoi nella parte inferiore del canale cervicale. La motilità degli spermatozoi nel muco cervicale è classificata come segue: (a) motilità progressiva rapida e lineare; (b) movimenti lineari lenti o non lineari; (c) motilità non progressiva; (d) spermatozoi immobili (vedi Sezione 2.4.2).

In una coppia in cui la partner femminile sia normale e il partner maschile presenti buone caratteristiche del liquido seminale, dopo il rapporto si osservano comunemente più di 25 spermatozoi mobili (con grado di motilità (a) e (b)) per HPF (400 x) in un campione di muco endocervicale (Moghissi, 1976). Un numero di dieci o più spermatozoi/HPF con movimenti direzionali (grado (a)) può essere considerato soddisfacente. La presenza di meno di cinque spermatozoi/HPF, soprattutto quando associata con movimenti lenti e circolari (grado (b)) è indicativa di una riduzione del numero e della motilità degli spermatozoi o di anomalie del muco cervicale.

A partire da 4 ore dopo il coito il numero degli spermatozoi nel pool esocervicale diminuisce gradualmente. Test condotti perciò a quattro o più ore di distanza dal coito possono rivelare un ridotto numero di spermatozoi nel muco raccolto dalla parte inferiore del canale cervicale.

#### 3.4.1.5 *Il campione endocervicale*

Dopo l'eiaculazione pochi spermatozoi raggiungono rapidamente il livello dell'orifizio interno. Il numero aumenta gradualmente e rag-

giunge un picco all'incirca 2 o 3 ore più tardi. Dopo di ciò il numero rimane relativamente costante per altre 24 ore. Si dovrebbero trovare perciò, 6-10 ore dopo il coito, più di 10 spermatozoi/HPF (400 x) con motilità adeguata (grado (a) e (b)). Un numero di spermatozoi simile si ritrova normalmente in un test ritardato (da 10 a 24 ore dopo il coito).

#### 3.4.1.6 Interpretazione

Lo scopo di un post-coital test non è solo quello di determinare il numero di spermatozoi attivi nel muco cervicale ma anche quello di valutare la sopravvivenza e il comportamento degli spermatozoi molte ore dopo il coito (ruolo di serbatoio). Il momento migliore per valutare la longevità e la sopravvivenza degli spermatozoi è 6-10 ore dopo il coito. Dopo tale intervallo di tempo la presenza nell'endocervice di un adeguato numero di spermatozoi mobili esclude i fattori cervicali come possibili cause di infertilità. Valutazioni a tempi di raccolta più brevi possono essere condotte in quei soggetti con precedenti test anormali o negativi. Con queste premesse il post-coital test può essere interpretato su una base razionale (vedi Appendice XVI).

In tutti i casi in cui i post-coital test risultino negativi, per esempio quando non si ritrovano spermatozoi, si dovrebbe avere la conferma che l'ejaculazione e la deposizione degli spermatozoi in vagina siano realmente avvenute. Test negativi possono essere anche dovuti ad un calcolo impreciso della scelta del momento in cui effettuare l'indagine. Test condotti in anticipo o in ritardo rispetto al momento ovulatorio possono dare risultati negativi anche in una donna normalmente fertile. In alcune donne il test può risultare positivo soltanto per 1 o 2 giorni durante l'intero ciclo mestruale. Quando non si possa determinare con un ragionevole grado di esattezza il momento dell'ovulazione, può essere allora necessario ripetere alcune volte il post-coital test durante un ciclo o effettuare ripetuti test *in vitro*.

#### 3.4.2 Test in vitro

Una valutazione dettagliata dell'interazione tra gli spermatozoi e il muco cervicale può essere ottenuta usando test di penetrazione nel muco cervicale *in vitro*. Questi test si possono suddividere in tre categorie principali: (1) il test su vetrino; (2) il test di contatto tra spermatozoi e muco cervicale e (3) il test in tubo capillare. Le prime due tecniche sono semplici da eseguire, forniscono utili informazioni e sono descritte di seguito come aspetti routinari per la valutazione qualitativa del liquido seminale. Il test con tubo capillare è un tipo di analisi più sofisticata che fornisce una misura semi-quantitativa del livello di penetrazione degli spermatozoi nel muco. Un protocollo per questo tipo di test è descritto in Appendice XVII.

Quando si eseguono test *in vitro* si dovrebbero usare campioni seminali freschi, entro un'ora dal momento dell'ejaculazione.

*Nota:* Quando esistano difficoltà nell'ottenere muco cervicale umano, il muco cervicale di bovino in estro fornisce un'alternativa per studi non connessi all'infertilità (vedi Moghissi, 1984). Le proprietà fisico-chimiche delle due secrezioni sono simili: gli spermatozoi umani pe-

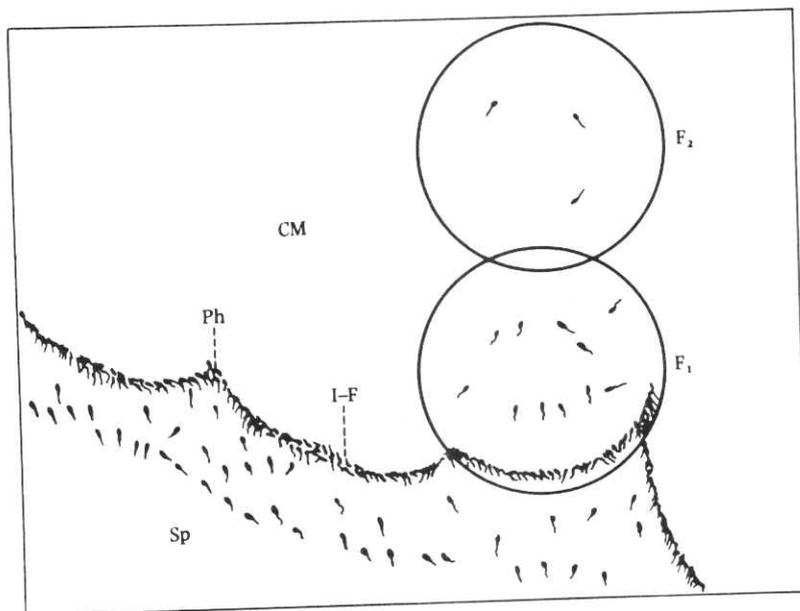
netrano rapidamente il muco cervicale bovino *in vitro* e vi mantengono una buona motilità e vitalità per numerose ore.

### 3.4.2.1 Il test su vetrino

Una goccia di muco cervicale viene posta su un portaoggetti e coperta con un vetrino coprioggetti (25 mm x 40 mm). Una goccia di liquido seminale viene deposta su ciascun lato, a contatto col bordo del vetrino coprioggetti in maniera che il liquido seminale penetri sotto di esso per forza capillare. In questo modo si ottiene una evidente interfaccia tra liquido seminale e muco cervicale.

All'interfaccies si sviluppano in pochi minuti delle proiezioni di liquido seminali simili a dita o falangi che penetrano nel muco. La maggior parte degli spermatozoi percorre questi canali digitiformi prima di penetrare nel muco cervicale. In molti casi un unico spermatozoo sembra guidare una colonna di spermatozoi nel muco. Una volta all'interno del muco cervicale gli spermatozoi si disperdono e iniziano a muoversi con movimenti casuali. Alcuni ritornano verso l'interfaccies muco-liquido seminale, mentre la maggior parte migra profondamente nel muco cervicale fino a venire a contatto con detriti cellulari e leucociti. Per interpretare il test si devono contare gli spermatozoi per HPF a livello dell'interfaccies. Gli spermatozoi che sono all'interno delle falangi non dovrebbero essere inclusi nei risultati. La penetrazione può essere considerata come avvenuta per quegli spermatozoi che si trovano chiaramente all'interno del muco cervicale. Per quantificare il test viene osservato (a 400 ingrandimenti), 5 e 15 minuti dopo l'inizio del test, il primo campo microscopico, chiamato  $F_1$ , in prossimità dell'interfaccies. Per ogni test deve essere segnalato l'ingrandimento usato. Per studiare la profondità della penetrazione possono essere valutati un secondo campo microscopico adiacente al primo ( $F_2$ ) e un terzo ( $F_3$ ) e poi registrato il numero di spermatozoi in questi campi (vedi Fig. 3.2).

Fig. 3.2. Rappresentazione schematica del test di penetrazione *in vitro* (su vetrino) degli spermatozoi in muco cervicale. CM, muco cervicale; Sp, spermatozoi; I-F, interfaccies; Ph, falangi;  $F_1$ , primo campo microscopico;  $F_2$ , secondo campo adiacente a  $F_1$  (da Moghissi, 1966).



*Interpretazione*

I risultati vengono valutati come segue:

- (a) Eccellente:  $\geq 25$  spermatozoi/HPF in  $F_1$ ;  $\geq 25$  spermatozoi/HPF in  $F_2$ .
- (b) Buono: 15 spermatozoi/HPF in  $F_1$ ; 10 spermatozoi/HPF in  $F_2$ .
- (c) Insufficiente: 5 spermatozoi/HPF in  $F_1$ ; 0-1 spermatozoi/HPF in  $F_2$ .
- (d) Negativo: mancata penetrazione in  $F_1$  e in  $F_2$ .

Quando lo scopo del test è quello di comparare la qualità di diversi campioni di muco cervicale si dovrebbe usare un unico campione di liquido seminale con ottima concentrazione, motilità e morfologia. D'altro canto, quando si voglia valutare la qualità di diversi campioni di liquido seminale, si dovrebbe utilizzare uno stesso campione di muco cervicale per valutare la capacità degli spermatozoi di penetrare in esso.

### 3.4.2.2 *Il test di contatto tra spermatozoi e muco cervicale (SCMC test)*

Lo scopo di questo test è quello di individuare la presenza di anticorpi anti-spermatozoo nel muco cervicale e/o sugli stessi spermatozoi.

Questo test si effettua ponendo una piccola quantità (da 10 a 50  $\mu$ l) di muco cervicale pre-ovulatorio e una quantità approssimativamente uguale di liquido seminale fresco ad un'estremità di un vetrino. I due campioni vengono poi accuratamente mescolati. Un'altra goccia dello stesso campione di liquido seminale viene posto all'altra estremità del vetrino. La miscela muco-liquido seminale e la goccia di liquido seminale vengono poi coperti con vetrini coprioggetti. La preparazione viene conservata a temperatura ambiente in una piastra di Petri umida. Dopo 30 minuti viene determinata la percentuale di spermatozoi mobili che si scuotono rapidamente (movimenti di shaking). Il campione di solo liquido seminale serve come controllo dell'attività degli spermatozoi. Viene registrato il numero degli spermatozoi con movimenti di shaking che hanno una motilità progressiva debole o intermittente, mentre non vengono presi in considerazione gli spermatozoi immobili o con lenti movimenti di shaking.

*Interpretazione*

I risultati vengono interpretati come segue:

- (a) Negativo: dallo 0 al 25% di spermatozoi con movimenti di shaking.
- (b) Debolmente positivo: dal 26 al 50% di spermatozoi con movimenti di shaking (in questo caso il test dovrebbe essere ripetuto).
- (c) Positivo: dal 51 al 75% di spermatozoi con movimenti di shaking.
- (d) Fortemente positivo: dal 76 al 100% di spermatozoi con movimenti di shaking.

Quando si ottiene un SCMC test positivo usando il liquido seminale del marito e il muco della moglie, si dovrebbe effettuare un test crociato usando liquido seminale e muco di donatori per verificare se gli anticorpi sono presenti nel liquido seminale o nel muco.

Sebbene un'alta percentuale di spermatozoi con movimenti di shaking sia altamente indicativa della presenza di anticorpi anti-spermatozoo, si possono ugualmente verificare reazioni falsamente positive. I falsi positivi sono quasi sempre dovuti a fattori legati al muco cervicale.