

**UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA**

**FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFIA**

**“ALBERTO CAZORLA TALLERI”**



**“Propuesta de implementación de un Banco de Gametos Donados  
basado en estándares internacionales en un Centro de Reproducción  
Asistida en Perú”**

Trabajo de Suficiencia Profesional para optar el Título de Licenciada en  
Biología

Brenda Jasmireth Valdiglesias Lavalle

Lima - Perú

2021

**MIEMBROS DEL JURADO**

**PRIMER REVISOR**

**Lic. Marco Escobar Aguilar**

**SEGUNDO REVISOR**

**Lic. Diego Venegas Ojeda**

**ASESOR DE TESIS**

**Dra. Carla Gonzales Arimborgo**

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia por ser una parte importante de mi vida y estar siempre a mi lado y brindarme el apoyo incondicional que siempre me ha ofrecido en cada experiencia vivida. Por ser siempre mi roca y guiar mi camino hasta llegar a ser la persona que soy hoy en día. Gracias por siempre estar ahí para mí.

A mis maestros, quienes me han enseñado tantas cosas importantes, no necesariamente relacionadas a la carrera, sino también con la vida. Ellos influyeron con sus lecciones y experiencias en mi formación como profesional y persona, preparándome para afrontar los retos que la vida te pone delante. Especialmente gracias por enseñarme a como pensar y no que pensar.

A mis amigos, compañeros y todo aquel que de una u otra manera haya contribuido a la realización de este proyecto. Gracias por el apoyo brindado, el intercambio de ideas e información, las amanecidas grupales, los temas random y los momentos de risa.

A los distintos mentores y jefes que he tenido a lo largo de mi vida profesional, los cuales me ayudaron a crecer profesionalmente y personalmente. Gracias por todas sus enseñanzas.

El Autor

## **DECLARACIÓN DEL AUTOR**

Declaro que este trabajo es original, autentico, personal, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes. Las ideas, doctrinas resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.

El Autor

## TABLA DE CONTENIDO

**RESUMEN**

**ABSTRACT**

**INTRODUCCIÓN.....1**

**OBJETIVOS.....3**

**ANTECEDENTES.....3**

**MARCO TEORICO.....5**

**1. GENERALIDADES DE UN CENTRO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA....5**

1.1. Descripción general del Centro

1.2. Personal

1.3. Instalaciones

**MATERIALES Y METODOS.....11**

**RESULTADOS.....16**

**FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE SELECCIÓN DE DONANTES.....16**

**I. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE DONANTES.....17**

**1. POLITICAS DEL CENTRO.....17**

1.1. Captación de donantes

1.2. Perfil de los donantes

1.3. Compensación económica

1.4. Perfil de la receptora

1.5. Riesgos y complicaciones

1.6. Responsabilidades

**2. SELECCIÓN DE DONANTES.....23**

2.1. Entrevista inicial

2.2. Información sobre el procedimiento

2.3. Consentimientos informados y Compromiso de colaboración

2.4. Historia clínica

2.5. Entrevista psicológica

2.6. Exámenes de laboratorio e infecciosos

2.7. Screening genético

**II. PRUEBAS REQUERIDAS Y CRITERIOS PARA VITRIFICACIÓN DE  
GAMETOS EN BANCO.....29**

**1. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS Y CRITERIOS DE ACEPTACIÓN.....29**

1.1. Seguridad

1.2. Selección de donante masculino

1.2.1. Espermatograma

1.2.2. Test de congelación espermática

1.2.3. Pruebas complementarias

1.2.4. Obtención de espermatozoides

1.3. Selección de donante femenino	
1.3.1. Chequeo ginecológico	
1.3.2. Pruebas citológicas	
1.3.3. Obtención de óvulos	
1.3.3.1. Inducción de la ovulación	
1.3.3.2. Aspiración folicular	
<b>2. CRIOPRESERVACIÓN DE GAMETOS.....</b>	<b>46</b>
2.1. Vitrificación	
2.2. Desvitrificación	
2.3. Control y trazabilidad	
<b>3. CONTROLES DE LABORATORIO PARA EL MANEJO DE LOS</b>	
<b>GAMETOS.....</b>	<b>53</b>
3.1. Norma de áreas limpias	
3.2. Calidad del aire	
3.3. Normas de trabajo en el laboratorio	
3.4. Rutina diaria dentro del laboratorio: Control de mantenimiento de equipos	
3.5. Limpieza del laboratorio	
3.6. Control de la incubadora	
3.7. Control de los equipos	
3.8. Control de los criotankes	
3.9. Mantenimiento del Laboratorio de Embriología	
<b>III. MANEJO DE GAMETOS DONADOS EN BANCO.....</b>	<b>61</b>
<b>1. SINCRONIZACIÓN DONANTE – RECEPTORA.....</b>	<b>61</b>
1.1. Matching genético	
1.2. Perfil de la receptora	
<b>2. TIPOS DE DONACIÓN.....</b>	<b>62</b>
2.1. Donante de óvulos	
2.1.1. Donación sincrónica	
2.1.2. Donación asincrónica	
2.1.3. Modo ROPA	
2.2. Receptora compartida	
2.3. Donante de esperma	
2.3.1. En fresco	
2.3.2. Banco de semen	
2.4. Donante de embriones	
2.5. Donante no anónimo	
<b>3. PREPARACIÓN ENDOMETRIAL.....</b>	<b>64</b>
<b>4. ASESORIA DE FERTILIDAD.....</b>	<b>65</b>
<b>5. TRANSFERENCIA EMBRIONARIA.....</b>	<b>65</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>67</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>79</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>80</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>82</b>



## **RESUMEN**

En el Perú la infertilidad, definida como la incapacidad de lograr un embarazo, se ha ido incrementando en los últimos años, convirtiéndose en un gran problema, especialmente para parejas que sobrepasan los 35 años y desean concebir. Ante ello, se han desarrollado diversas estrategias, siendo las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) uno de los recursos más utilizados.

Se sabe que el éxito reproductivo en pacientes mayores de 35 años es bajo, sin embargo, una de las alternativas ofrecidas por las TRA es el uso de gametos donados, los cuales, al ser de mejor calidad, logran incrementar las tasas de implantación y éxito reproductivo en las pacientes. Por esta razón, es ideal que los Centros de Reproducción Asistida, de poder hacerlo, cuenten con un banco de gametos donados regulado según normas nacionales e internacionales.

En el Perú, no existe una normativa clara referente a este tema, ni de los parámetros adecuados a tener en cuenta al momento de aceptar a un(a) donante. Por lo cual los centros de fertilidad pueden definir sus propios parámetros de selección según criterios propios. Debido a esto, no suele ser viable la obtención de gametos en otras clínicas o centros de fertilidad al no conocer las regulaciones o control de calidad por las que son seleccionados los donantes.

Por ello, es fundamental el uso de normas internacionales para regular la obtención de gametos donados, desde la elección de donantes hasta la transferencia embrionaria para estandarizar resultados y optimizar procesos. Estableciendo a su vez indicadores y estándares de calidad que logren una reproducibilidad en este proceso.

El objetivo de este trabajo es proponer un plan para la implementación de un banco de gametos donados en un Centro de Reproducción Asistida, utilizando criterios internacionales y estudios científicos de selección de donantes y clasificación de gametos.

**PALABRAS CLAVE:** Infertilidad, Reproducción asistida, Ovodonación, Banco de semen

## **ABSTRACT**

In Peru, infertility, defined as the inability to achieve pregnancy, has been increasing in the last years, becoming a major problem, especially for couples who are over 35 years old and wish to conceive. Given this, several strategies have been developed, with Assisted Reproduction Techniques (ART) being one of the most widely used resources.

It is known that reproductive success in patients over 35 years is low, however, one of the alternatives offered by ART is the use of donated gametes, which, being of better quality, increase implantation rates and reproductive success in patients. For this reason, it is ideal that the Assisted Reproduction Centers, if they can do so, have a bank of donated gametes regulated according to national and international standards.

In Peru, there are no clear regulations concerning this issue, or the appropriate parameters to take into consideration for accept a donor. Therefore, the fertility centers can define their own selection parameters according to their own criteria. Due to this, it is not usually feasible to obtain gametes in other clinics or fertility centers as we do not know the regulations or quality control by which donors are selected.

For this reason, the use of international standards is essential to regulate the obtaining of donated gametes, from the selection of donors to the embryo transfer for standardize results and optimize processes. And, at the same time, establishing indicators and quality standards that achieve reproducibility in this process.

The objective of this work is to propose a plan for the implementation of a donated gamete bank in an Assisted Reproduction Center, using international criteria and scientific studies of donor selection and gamete classification.

**KEY WORDS:** Infertility, Assisted Reproduction, Egg donation, Semen bank

## INTRODUCCIÓN

Para que una pareja sea diagnosticada con infertilidad, esta debe tener como mínimo doce meses o más de relaciones sexuales regulares sin protección intentando lograr un embarazo clínico sin éxito (OMS, 2010) (ESHRE, 1996). En la actualidad se estima que el 15% de parejas en edad fértil podrían tener problemas para concebir (González R. et al, 2008). Este porcentaje aumenta de forma significativa con el aumento de la edad, dado que a partir de los 37 años, se observa que el 50% de parejas tienen problemas para concebir, siendo la infertilidad la principal responsable por ello (Moreno C. et al, 2000).

Este es un problema creciente en la sociedad moderna debido al cambio biopsicosocial que ha experimentado en las últimas dos décadas, dado que hoy en día las personas prefieren perseguir sus metas personales y profesionales, priorizándolas y dejando de lado la formación de una familia, con lo cual reducen sus probabilidades de conseguirlo en más de un 50% (Villasante A. et al, 2005). Hay diferentes riesgos que podría acarrear una reproducción en edad avanzada, entre ellos el afectar directamente a la calidad de los gametos, tanto femeninos como masculinos, pudiendo generar una prole con mayor grado de anomalías genéticas, ya sean estos viables o inviables para finalizar un embarazo. Sin mencionar que, a partir de los 40 años, la función ovárica, en el caso de las mujeres comienza a declinar, lo que conllevaría a una evidente disminución de las tasas de éxito de embarazos. El factor masculino también se ve afectado a partir de cierta edad, viéndose esto reflejado en la disminución de la calidad espermática con el pasar de los años (Garrido N. et al, 2002).

Las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) son las herramientas encargadas de revertir este problema, estando avocadas a atender los problemas reproductivos de las parejas y/o mujeres sin pareja que estén pasando por algún problema de infertilidad, reuniendo una serie de tratamientos enfocados en resolver gran parte de estos problemas (Lobo S, 2017).

La OMS define a las Técnicas de Reproducción Asistida o TRA como "...El conjunto de tratamientos o procedimientos que incluyen la manipulación tanto de ovocitos como de espermatozoides o embriones humanos para el establecimiento de un embarazo. Esto incluye, pero no está limitado sólo a, la fecundación in vitro y la transferencia de embriones, la transferencia intratubárica de gametos, la transferencia intratubárica de cigotos, la transferencia intratubárica de embriones, la criopreservación de ovocitos y embriones, la donación de ovocitos y embriones, y el útero subrogado...". Las TRA por otro lado no incluyen inseminación asistida (inseminación artificial), ya sea usando espermatozoides de la pareja o de un donante (OMS, 2010).

Las TRA facilitan o sustituyen los procesos biológicos naturales que se dan durante la procreación humana natural (Santamaría L. et al, 2000); ya sea con ambos gametos procedentes de los progenitores (TRA homólogos) o cuando uno o ambos gametos proceden de donantes ajenos a la pareja (TRA heterólogos). Incluyendo un manejo in vitro de ovocitos, espermatozoides o embriones con propósitos netamente reproductivos (Santamaría L. et al, 2000).

A pacientes que sobrepasan los 35 años o que poseen algún problema funcional o fisiológico que les impida generar sus propios gametos, se les recomienda realizar las TRA con gametos donados. Evitando los ciclos fallidos con gametos propios de baja calidad y disminuyendo costos y esfuerzos para lograr un embarazo, aumentando así la tasa de éxito reproductivo y disminuyendo las implantaciones fallidas por ciclo, sin mencionar que disminuye notablemente el riesgo de abortos (SEF, 2010) (Lutjen PJ. Et al, 1984). Por ejemplo, al utilizar óvulos donados, la tasa de éxito reproductivo alcanza hasta un 50% más de efectividad en la primera transferencia, esto sería debido a la mejor calidad en los óvulos donados por alguien más joven (SEF, 2010).

El desarrollo de las TRA y el aumento de los donantes de gametos o embriones han hecho posible que muchas personas puedan tener descendencia. Solo en el Reino Unido, entre 1992 y 2009, se concibieron 31 mil niños con gametos donados (Harper JC. et al, 2016) y en Estados Unidos en los últimos 20 años los nacimientos de niños procreados con gametos donados han aumentado de 30 mil a 60 mil, sin embargo estas no son cifras oficiales debido a la limitación en el sistema de registros (Nahata L. et al, 2017).

El mal manejo en la selección de donantes también podría comprometer la calidad de los gametos ofrecidos. Por esta razón, cada centro de reproducción debería de contar con su propio banco de semen y óvulos que pasen por criterios de seguridad y calidad establecidos con estándares internacionales con el fin de poder entregarle un mejor producto final a la pareja infértil.

La creciente demanda de gametos donados así como también el incremento en la disponibilidad de donantes podría aumentar en cierta forma el peligro de cometer errores de juicio al momento de la selección de donantes, por esta razón es importante considerar los aspectos morales y éticos que estos procedimientos requieren para así evitar poner en riesgo la generación de una nueva vida persiguiendo únicamente el éxito tecnológico o monetario (Valencia I. et al, 1987).

A medida que la donación de gameto ha incrementado su aceptación, siendo cada vez más utilizada, se debe considerar también las consideraciones éticas y jurídicas, los cuales incluyen los derechos de autonomía y privacidad de los futuros padres, el derecho a la privacidad de los donantes y el derecho de los futuros hijos a conocer su origen genético (Kemelmajer-De-Carlucci AR, 2018).

Durante mi experiencia profesional, los casos más recurrentes suelen ser parejas mayores de 35 años que desean procrear pero no han tenido éxito intentándolo, viendo en las TRA una nueva ventana de posibilidades para lograrlo, ya sea utilizando gametos propios o donados.

Debido a la edad y a la evaluación de la fertilidad en estos pacientes, se les recomienda utilizar gametos donados para estas técnicas al tener estos una mejor tasa de implantación y éxito reproductivo (Lutjen PJ. Et al, 1984) (Barratt CLR., 1993) (SEF, 2010). Sin embargo, al no contar con un banco de óvulos o semen de donantes implementado en el centro, se buscan donantes para cada procedimiento, retrasando a veces los procedimientos por la falta de estos gametos.

La implementación de un banco de semen y óvulos donados en el Centro, incrementaría el número de casos a realizar, debido a que la mayoría de las parejas no buscan un

embrión donado para transferir, sino que desean realizar el procedimiento utilizando al menos uno de sus gametos para las TRA y futura transferencia embrionaria.

Para estandarizar los resultados obtenidos al utilizar gametos donados, estableceremos criterios a tener en cuenta al momento de seleccionar al donante, basándonos en criterios de selección internacionales asegurando una mejor calidad en los gametos para criopreservar y así poder ofrecerlos en un futuro a los pacientes que lo requieran.

El objetivo de este trabajo es desarrollar un plan de implementación de un banco de gametos donados en un Centro de Reproducción Asistida, contando con criterios internacionales de selección de donantes y clasificación de gametos, así como estudios que demuestren que según algunas modificaciones en relación a la selección de donantes hay mejores resultados en las TRA. Esto con la finalidad de contar con la disponibilidad de gametos de mejor calidad para las TRA que así lo requieran.

## **OBJETIVO**

Proponer un plan para la selección de donantes de gametos replanteando los parámetros de selección utilizados internacionalmente con el fin de obtener gametos de mejor calidad y mayor tasa de implantación; garantizando su disponibilidad para las TRA realizadas en el Centro de Reproducción Asistida.

### **Objetivos Específicos:**

1. Replantar los criterios a tomar en cuenta durante la selección inicial de futuros donantes de gametos.
2. Proponer pruebas complementarias a los donantes para corroborar la calidad de las muestras y establecer criterios para la criopreservación en banco según normas internacionales.
3. Proponer criterios de sincronización Donante - Receptora tomando ejemplos de otros centros a nivel mundial.

## **ANTECEDENTES**

Desde el descubrimiento de las Técnicas de Reproducción asistida se han abierto nuevas oportunidades en el ámbito de la reproducción para personas con algún diagnóstico de infertilidad. Las primeras TRA datan del siglo XIX; como en muchos terrenos de la medicina humana, hay antecedentes de estudios realizados en animales.

El uso de semen para inseminación artificial en humanos, la cual es una técnica de reproducción asistida de baja complejidad, tuvo sus inicios a finales del siglo XIX (Álvarez JA, 2007), sin embargo ya se utilizaba esta técnica desde antes en animales.

La historia de la fecundación in vitro inicia a finales del siglo XIX cuando en 1890, cuando Heape realizó una transferencia embrionaria a un conejo exitosamente (Heape W, 1891). Sin embargo, todavía había ciertas dudas sobre los resultados exitosos en

relación a utilizar embriones donados. Fue Chang en 1959 que comprobó la veracidad de esta técnica (Chang MC, 1959).

El primer gran éxito en las TRA complejas conseguido en humanos se llevó a cabo en 1978, en Inglaterra, cuando Steptoe y Edwards desarrollaron la técnica de Fertilización in vitro o FIV; logrando el nacimiento de un producto femenino sano (Steptoe PC., 1978). Otros países también comenzaron a implementar esta técnica, por lo que en 1980, en Estados Unidos, en la Universidad de Melbourne, Johnston logró otro nacimiento utilizando FIV; y en 1984, en España se logró el primer embarazo utilizando esta técnica. En este mismo año, en América Latina, se reportó en Chile el primer nacimiento de un producto conseguido mediante FIV, siendo el primer embarazo con TRA en Latinoamérica y el cuarto a nivel mundial (Costoya AA. et al, 1984).

En 1992 se produjo otro gran hito en las TRA con la implementación del ICSI o Inyección intracitoplasmática de espermatozoides (Palermo G., et al, 1992), la cual casi ha llegado a desplazar a las otras técnicas por su alta tasa de éxito.

Por otro lado, el primer registro de donación de gametos, semen donado, data de 1884 (Oyarzún EE., et al, 1997), mientras que el primer embarazo reportado con óvulos donados no ocurrió hasta 1983 (Buster JE, et al., 1983). Este gran retraso en comparación con los espermatozoides básicamente se debe a la dificultad que conlleva conseguir un ovulo vs la facilidad con la que se consiguen los espermatozoides.

La técnica de criopreservación de gametos comenzó en 1953 con espermatozoides (Oyarzún EE., et al, 1997). No fue hasta 1986 que se logró el primer embarazo con un ovulo criopreservado (Chen C., 1986). El retraso en la correcta criopreservación de un ovulo se debió a que es más fácil criopreservar a una célula pequeña casi sin citoplasma sin dañarla, como es el espermatozoide; que a una célula grande que tiene un metabolismo mucho más complejo en su estado de quiescencia, como es el óvulo (Álvarez J. 2007).

Los primeros bancos de gametos lógicamente comenzaron con la criopreservación de espermatozoides y se hicieron realidad recién en la década de los sesenta, volviéndose una necesidad obligatoria para los programas de donación de semen según la American Society for Reproductive Medicine (ASRM, 2006) y la European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE, 2002). La donación de óvulos por el contrario, es una práctica mucho más reciente, desarrollándose recién en la década de los noventa debido a la necesidad de las TRA de alta complejidad para darle utilidad.

Históricamente, las TRA y sus avances llegaron en fechas posteriores a América, por esta razón, los casos de TRA que se realizan en Latinoamérica son menores en comparación a Europa o Estados Unidos; esto debido en parte a que la realidad latinoamericana es distinta por muchos factores, entre ellos económicos, culturales, religiosos, sociales, entre otros (Zeger s-Hochschild F., 1999).

Para la implementación de bancos de gametos, como sucede en casos relacionados con la reproducción humana asistida, se observa un desarrollo científico que va ligado, y hasta a veces retrasado, al desarrollo legal en este campo (Santalla A et al, 2008).

Si bien los bancos de gametos en Europa o Estados Unidos iniciaron mucho antes y están mejor regulados leyes y organismos competentes de cada país, en Latinoamérica se cuenta con un número limitado de bancos de gametos los cuales van creciendo e implementándose con el pasar de los años, no siempre contando con leyes que ayuden a regularlos correctamente. Cada vez son más los centros de reproducción asistida, tanto públicos como privados, que cuentan con un banco de gametos donados, operando sus programas de donación de gametos y embriones en normas internacionales y académicas; sin embargo, debido a una falta de lineamiento legal en el tema, no todos los Centros realizan un correcto control a los donantes, lo cual podría llegar a generar cierta vulnerabilidad e inseguridad en este proceso (Esparza-Pérez RV, 2019).

En Latinoamérica son pocos los países que cuentan con leyes que regulan específicamente los procedimientos de reproducción asistida, donación de células germinales o la investigación con embriones humanos, así que los marcos legales son casi inexistentes en este tema por el momento.

El Perú cuenta con casos reportados en TRA complejas, como se publica en el Registro Latinoamericano de Reproducción Asistida (RLA) de la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida (Red LARA, 2008), sin embargo, estos registros solo pertenecen a tres centros de reproducción asistida y no especifican el tipo de procedimiento realizado. Si bien en nuestro país aún no se han establecido mecanismos de control para asegurar una correcta regulación o leyes que certifiquen un correcto accionar en las técnicas de reproducción asistida y el cumplimiento de los mismo por parte de los distintos centros de reproducción asistida es muy variable y difícilmente cuantificable; la actual falta de leyes parte de las autoridades sanitarias y los gobiernos correspondientes no exime a los centros de TRA del cumplimiento de los lineamientos aceptados internacionalmente. Para esto las sociedades internacionales de medicina reproductiva han propuesto guías y recomendaciones éticas básicas para los centros que llevan a cabo estos procedimientos, tanto en EE UU, a través de la American Society for Reproductive Medicine (ASRM), como en Europa, a través de la European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE), en España con la Asociación para el estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR) o el Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI), en Latinoamérica con la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida (Red LARA), entre otros.

## **MARCO TEORICO**

### **1. GENERALIDADES DE UN CENTRO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA**

#### **1.1. Descripción general del Centro**

El Centro de Fertilidad o Reproducción asistida deberá contar con los distintos chequeos relacionados con fertilidad e infertilidad, exámenes ginecológicos tales como:

- Chequeo de infertilidad
- Ecografías 4D, genéticas y morfológicas
- Ecografía ginecológica y de mamas.

- Colposcopia
- Biopsia de cérvix, Cono leep
- Remoción de miomas, quistes y tumores.
- NSP (Nombre de la prueba)
- Histerosonografía e Histerosalpingografía
- IIU (Inseminación intrauterina)

El Centro deberá realizar también procedimientos incluidos y derivados de las TRA de alta y baja complejidad, tales como:

- Espermatograma
- Capacitación espermática
- Cariotipos
- Inseminación artificial con semen de la pareja (IIU)
- Inseminación artificial con semen de donante (IIU-OD)
- Fecundación in vitro con óvulos propios (FIV)
- Fecundación in vitro con gametos donados (FIV-OD)
- Inyección intracitoplasmática de espermatozoides con óvulos propios (ICSI)
- Inyección intracitoplasmática con gametos donados (ICSI-OD)
- Donación de Óvulos para procedimientos en fresco (RKD)

## 1.2. Personal

El Centro deberá contar con profesionales de la salud específicos para realizar una correcta atención de las pacientes durante los ciclos de RA, tales como un Gineco-obstetra conocedor del tema, obstetras o enfermeras con conocimientos en TRA, un psicólogo, genetista, biólogos encargados de las distintas TRA, entre otros. El personal de Anestesiología, psicología, entre otros, pueden ser externos, contratados específicamente para la función que se necesita que desarrollen.

1.2.1. **Medico Ginecólogo:** Con experiencia y capacitado en Medicina Reproductiva, con conocimientos del uso de agentes para la inducción de la ovulación y el control hormonal. Entrenado en el área de ecografía para realizar el monitoreo de la respuesta ovárica.

1.2.2. **Anestesiólogo:** Disponible para los procedimientos en los que se le requiera.

1.2.3. **Biólogos:** Son los encargados de los laboratorios de Genética, Embriología y Andrología. Cuentan con amplios conocimientos en los temas relacionados con las TRA.

1.2.3.1. **Genetista / Microbiólogo:** Biólogo especialista en genética que será el encargado de realizar las pruebas de descarté genético, tales como Cariotipo, X frágil, Fibrosis quística, entre otras que sean necesarias descartar tanto en los pacientes como donantes. Deberá contar también con conocimientos en pruebas microbiológicas, tales como cultivo de secreción vaginal, clamidia, PAPs, entre otros que se requieran tanto en los pacientes como en las donantes.

- 1.2.3.2. **Andrólogo:** Profesional con más de un año de experiencia en el campo, capacitado para identificar las distintas muestras y pruebas complementarias que se presenten. Realiza los espermogramas y cultivos seminales, así como las capacitaciones y los protocolos de vitrificación seminal. De capacitarse podría realizar las pruebas complementarias necesarias para el mejor manejo de los gametos masculinos.
- 1.2.3.3. **Embriólogos:** Realizan las Técnicas de Reproducción asistida, tales como FIV e ICSI, así como la vitrificación de gametos o embriones y las Biopsias de Trofooctodermo. El número de embriólogos en un centro deberá estar siempre acorde al número de casos manejados en el mismo. Se recomienda tener dos embriólogos presentes en cada procedimiento, sin embargo, el personal de andrología podría cumplir perfectamente la función de segundo biólogo durante los procedimientos.
- 1.2.4. **Enfermera u obstetra:** Licenciada con experiencia y entrenada en Reproducción asistida, especialmente en aspiración folicular, procedimiento en el que se necesita su apoyo. Cumple correctamente las funciones que el equipo requiere.
- 1.2.5. **Psicólogo:** Realiza un perfil psicológico de pacientes y donantes, así como el seguimiento anímico y manejo emocional de los pacientes, antes y durante el tratamiento. Ayuda a reducir el estrés causado por la espera de los resultados esperados, el cual a veces es contraproducente para el tratamiento. No es necesario contar con uno dentro del centro, sin embargo se debe poder contar con uno cada vez que se requiera un perfil psicológico para las parejas o donantes, cuando se requieran pruebas psicológicas previas a los tratamientos, para descartar pacientes que sufran de alguna alteración psicológica que se pueda ver agravada por los tratamientos a realizar o descartar donantes con alteraciones psiquiátricas que se puedan heredar, entre otros.

### 1.3. Instalaciones

Las instalaciones deberán cumplir con las normas internacionales de inocuidad, debido a que el éxito en las TRA depende en gran parte del cuidado que se tenga con el ambiente e inocuidad dentro del laboratorio, así como las condiciones del cultivo y manejo de los gametos y embriones dentro del laboratorio de fecundación in vitro (ISO 179007).

Es responsabilidad de cada encargado de área el correcto cumplimiento de las normas de limpieza, así como de las buenas prácticas realizadas en los mismos.

#### 1.3.1. Área quirúrgica

Área completamente inocua y aislada. Cuenta con todo lo necesario para llevar a cabo los procedimientos previos y posteriores a las Técnicas de Reproducción Asistida, tales como Aspiración folicular y Transferencia embrionaria. Cuenta también con equipos necesarios para los diversos procedimientos quirúrgicos que realiza el centro, así como para el monitoreo de la paciente durante los mismos.

### 1.3.2. Laboratorios

El centro deberá contar con laboratorio de embriología, Andrología y Genética, siendo el laboratorio de Embriología el que cuentan con un mayor protocolo de seguridad e inocuidad debido al tipo de muestras que se manejan dentro, teniendo especial cuidado con el filtrado de partículas, la calidad del aire, la temperatura, la luz, entre otros; estos podrían afectar negativamente los resultados obtenidos en las TRA.

1.3.2.1. **Andrología:** El área de andrología deberá contar con todos los equipos necesarios para llevar a cabo las pruebas de infertilidad en semen. No es un área restringida y no requiere de mayor índice de seguridad que la de una cámara de flujos para realizar la capacitación espermática. Debe estar cerca al laboratorio de embriología para disminuir riesgos de transporte de muestras. En este laboratorio se realizan los siguientes procedimientos:

- Espermograma
- Cultivo seminal
- Fragmentación Espermática
- Test de Oxidación y/o Estrés Oxidativo
- Test de Peroxidasa
- Biopsia testicular
- Capacitación espermática, ya sea por Swim up o Gradientes de densidad (Tanto para TRA como para IIU)

1.3.2.2. **Embriología:** El laboratorio de embriología debe ser un área aislada y de poco tránsito, estéril y con acceso restringido. Será de uso exclusivo para los procedimientos de reproducción asistida y deberá contar con iluminación artificial suficiente para poder realizar los distintos procedimientos sin problema alguno. Deberá contar también con un sistema de filtrado y purificación de aire, así como con presión negativa de flujo de aire. La temperatura se debe mantener controlada para un mejor manejo de los gametos y el correcto funcionamiento de los equipos.

En este laboratorio se realizan los siguientes procedimientos:

- Recuperación de ovocitos (Aspiración folicular)
- Denudación y clasificación de ovocitos
- Inseminación de ovocitos (Fertilización in Vitro - FIV)
- Inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)
- Cultivo in Vitro de embriones
- Evaluación de la calidad embrionaria
- Transferencia Embrionaria
- Criopreservación de gametos
- Desvitricación de gametos
- Biopsia embrionaria
- Micromanipulación embrionaria para diagnóstico genético, desfragmentación embrionaria o Hatching (eclosión) asistido

1.3.2.3. **Microbiología y Genética:** El laboratorio de Microbiología y Genética no requiere los niveles de seguridad que los antes mencionados, sin embargo si es recomendable contar con una cámara de flujo dentro del mismo para las pruebas genéticas que así lo requieran.

En este laboratorio se realizan los siguientes procedimientos:

- Cariotipos
- SXF (Síndrome de X Frágil)
- Prueba de detección de FQ (Fibrosis quística)
- Cultivo de secreción vaginal
- Descarte de Chlamydia
- Descarte de Beta talasemia

### 1.3.3. Equipos y suministros

Para los procedimientos de reproducción asistida es indispensable disponer de equipos, dispositivos médicos, medios de cultivo, gases, entre otros; sin los cuales estos procedimientos no podrían llevarse a cabo.

Estos deben ser de calidad y contar con un mantenimiento adecuado, anual o mensual, ya que cada procedimiento depende de su correcto funcionamiento. Para esto, cada equipo debe pasar periódicamente por un control de calidad para demostrar su correcto funcionamiento y poder así brindar un servicio de calidad garantizada.

Los implementos indispensables para el desarrollo de esta actividad en un laboratorio de reproducción asistida serían los siguientes (Red LARA, 2008) (ESHER, 2020):

#### 1. Equipos de laboratorio de Embriología

- 1.1. Estereomicroscopio
- 1.2. Platina térmica para estereomicroscopio
- 1.3. Microscopio de alta magnificación (ICSI)
- 1.4. Micromanipulador (ICSI)
- 1.5. Incubadora de gases
- 1.6. Incubadora tipo Benchtop
- 1.7. Cabina de flujo laminar
- 1.8. Criotanques
- 1.9. Platina termina con bloque de calentamiento para tubos de aspiración
- 1.10. Pipetas (10ul y 100ul)
- 1.11. Pajillas de vitrificación
- 1.12. Tubos de aspiración
- 1.13. Aceites
- 1.14. Hepes
- 1.15. Global total
- 1.16. Hialuronidasa
- 1.17. Pipetas Pasteur
- 1.18. Jeringas de tuberculina
- 1.19. Medios de vitrificación
- 1.20. Medios de desvitrificación

- 1.21. Placas Petri
- 1.22. Frigobar
- 2. Equipos en sala quirúrgica**
  - 2.1. Bomba de aspiración
  - 2.2. Ecógrafo
  - 2.3. Monitor de signos vitales
  - 2.4. Aguja de aspiración
  - 2.5. Mango de aspiración
  - 2.6. Galón de oxígeno
  - 2.7. Especulo
  - 2.8. Gasas
  - 2.9. Campo estéril
- 3. Equipo de laboratorio de Andrología**
  - 3.1. Centrifugas
  - 3.2. Baño María
  - 3.3. Cabina de flujo laminar
  - 3.4. Incubadora
  - 3.5. Gradientes de capacitación
  - 3.6. Agar (MacConkey, Manitol salado, Mueller hinton)
  - 3.7. Pastillas antibióticas
  - 3.8. Kit OxiSperm
  - 3.9. Kit LeucoScreen Plus
  - 3.10. Kit Diff Quick
- 4. Otros insumos**
  - 4.1. Anestesia
  - 4.2. Hormonas (Gonal, Puregón, Menopur, Humog, Cetrotide, Orgalutran, Ovidrel, Progeny, Gonapeptil, Leuprorelina)
  - 4.3. Galón de CO<sub>2</sub> y Nitrógeno

Según normas internacionales, es recomendable mantener separados los gametos donados de los gametos de pacientes para evitar contaminación cruzada, lo cual se podría dar si es que alguna muestra obtenida pasa los controles como falso negativo (ASEBIR, 2020; Barrat C, 1998; ESHRE, 2020).

Si bien es cierto que también se debería realizar la prueba de anticuerpos anti espermáticos (ASA) para una evaluación completa de semen, no la he tomado en cuenta ni en los suministros ni en la futura implementación debido a que diferentes centros han llegado a la conclusión de que son pocas las veces que esta prueba ha resultado de utilidad al realizarla (RBMO, Clínica de Reproducción asistida Hisparep, Hospital Español de México, Gestar Chiclayo, entre otros), ya que son mínimos los pacientes que cuentan con alteraciones autoinmunes; razón por la cual sería mejor realizar esta prueba únicamente cuando se crea conveniente. Un estudio realizado en el 2018, por RBMO, llega a la conclusión de que el factor principal que influye en el porcentaje positivo de ASA es la presencia de aglutinación. En presencia de aglutinación de encontraron 27 pacientes positivos de 72 (37.5%), en comparación con los 33 positivos de 1242 (2.2%) (Gatimel N. et al, 2018). El personal de laboratorio debe estar capacitada para poder realizar esta prueba de ser necesaria.

## MATERIALES Y METODOS

Para esta propuesta se utilizó una revisión bibliográfica de las guías y manuales presentados por las distintas asociaciones internacionales de infertilidad (1) y de las normativas utilizadas internacionalmente para la selección de donantes de gametos para criopreservación en banco o donación en fresco (2). Para ello, se obtuvo información de las normativas de diversos países para poder determinar los parámetros más utilizados como los posibles parámetros que ofrecen mejor calidad y resultados para estas técnicas. Así mismo, se buscó información en los distintos centros y organizaciones de Reproducción Asistida reconocidos a nivel mundial, tales como ASEBIR, Red LARA, IVI, ASRM, ESHRE, SAMER, AMMR, entre otros.

1. Las guías o manuales que se han utilizado para este proyecto son las siguientes:

<i>INSTITUCIÓN</i>	<i>PAIS</i>	<i>FECHA</i>	<i>TEMA Y PAGINA WEB</i>
<i>ESHRE</i>	Europa	2020	Female Fertility Preservation <a href="https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Female-fertility-preservation">https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Female-fertility-preservation</a>
<i>ASRM</i>	Estados Unidos	2020	Minimum standards practices offering assisted reproductive technologies: A committee opinion <a href="https://www.asrm.org/globalassets/asrm/asrm-content/news-and-publications/practice-guidelines-for-non-members/revised_minimum_standards_for_practices_offering_art.pdf">https://www.asrm.org/globalassets/asrm/asrm-content/news-and-publications/practice-guidelines-for-non-members/revised_minimum_standards_for_practices_offering_art.pdf</a>
<i>ASEBIR</i>	España	2020	Recomendaciones para la seguridad y reducción de riesgos ante la infección por coronavirus (SARS-COV-2) en las clínicas de Reproducción Asistida <a href="https://www.sefertilidad.net/docs/noticias/recomendacionesSeguridad.pdf">https://www.sefertilidad.net/docs/noticias/recomendacionesSeguridad.pdf</a>
<i>ASRM</i>	Estados Unidos	2020	Cryostorage of reproductive Tissues in the in vitro fertilization laboratory: A committee opinion <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32778330/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32778330/</a>
<i>ESHRE</i>	Europa	2019	Ovarian Stimulation for IVF/ICSI <a href="https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Ovarian-Stimulation-in-IVF-ICSI">https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Ovarian-Stimulation-in-IVF-ICSI</a>
<i>SEF</i>	España	2019	Cribado genético en Donación de Gametos <a href="https://www.sefertilidad.net/docs/noticias/cribadoGenetico.pdf">https://www.sefertilidad.net/docs/noticias/cribadoGenetico.pdf</a>
<i>CFAS</i>	Canadá	2019	Five Things Clinicians and Patients Should Question <a href="https://cfas.ca/Library/Clinical_Practice_Guidance_Documents/Fertility-Andrology.pdf">https://cfas.ca/Library/Clinical_Practice_Guidance_Documents/Fertility-Andrology.pdf</a>
<i>SEF</i>	España	2016	Programa de donación de Óvulos <a href="https://www.sefertilidad.net/docs/biblioteca/guiasPracticaClinicas/guia20.pdf">https://www.sefertilidad.net/docs/biblioteca/guiasPracticaClinicas/guia20.pdf</a>
<i>ASEBIR</i>	España	2016	Indicadores de calidad del laboratorio de embriología: definición y especificaciones <a href="https://asebir.com/cuadernos-asebir/indicadores-de-calidad-del-laboratorio-de-embriologia-definicion-y-especificaciones-1a-edicion/">https://asebir.com/cuadernos-asebir/indicadores-de-calidad-del-laboratorio-de-embriologia-definicion-y-especificaciones-1a-edicion/</a>
<i>CAFAS</i>	Canadá	2016	Environmental Controls & Monitoring of a Dedicated Tissue Recovery Site

			<a href="https://www.aatb.org/sites/default/files/AATB%20Guidance%20Document%20No.%208%20%289.28.16%29.pdf">https://www.aatb.org/sites/default/files/AATB%20Guidance%20Document%20No.%208%20%289.28.16%29.pdf</a>
<b>SEF</b>	España	2016	Ciclos de inseminación artificial con semen de donante <a href="https://www.sefertilidad.net/docs/biblioteca/guiasPracticaClinicas/guia15.pdf">https://www.sefertilidad.net/docs/biblioteca/guiasPracticaClinicas/guia15.pdf</a>
<b>Fecunditas</b>	Argentina	2016	Laboratorio de Fecundación InVitro de Alta Complejidad: Diseño, equipamiento y equipo humano <a href="http://fecunditas.com.ar/publicados/Lab_FI_alta_complejidad_Dise.pdf">http://fecunditas.com.ar/publicados/Lab_FI_alta_complejidad_Dise.pdf</a>
<b>ESHRE</b>	Europa	2015	Revised guidelines for good practice in IVF laboratories <a href="https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Revised-guidelines-for-good-practice-in-IVF-laboratories-(2015)">https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Revised-guidelines-for-good-practice-in-IVF-laboratories-(2015)</a>
<b>SEF</b>	España	2015	Ciclos de inseminación Artificial con semen de donantes <a href="https://www.sefertilidad.net/docs/biblioteca/guiasPracticaClinicas/guia15.pdf">https://www.sefertilidad.net/docs/biblioteca/guiasPracticaClinicas/guia15.pdf</a>
<b>ESHRE</b>	Europa	2015	Revised guidelines for good practice in IVF laboratories <a href="https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Revised-guidelines-for-good-practice-in-IVF-laboratories-(2015)">https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Revised-guidelines-for-good-practice-in-IVF-laboratories-(2015)</a>
<b>SAMER</b>	Argentina	2015	Normas para la acreditación de Centros de Reproducción Asistida <a href="http://www.samer.org.ar/pdf/normas_ctros/normas_2015.pdf">http://www.samer.org.ar/pdf/normas_ctros/normas_2015.pdf</a>
<b>CFAS</b>	Canadá	2014	Starting Conversations: Donor Conception Resource List <a href="https://cfas.ca/Library/SIGs/Donor-Conception-Resource-List_CSIG_2014.pdf">https://cfas.ca/Library/SIGs/Donor-Conception-Resource-List_CSIG_2014.pdf</a>
<b>MSP Uruguay</b>	Uruguay	2014	Manual de Procedimientos para el manejo sanitario en Reproducción Asistida <a href="http://www.mysu.org.uy/que-hacemos/observatorio/normativas/guia-clinica-y-tecnica/manual-de-procedimientos-para-el-manejo-sanitario-de-la-reproduccion-asistida/">http://www.mysu.org.uy/que-hacemos/observatorio/normativas/guia-clinica-y-tecnica/manual-de-procedimientos-para-el-manejo-sanitario-de-la-reproduccion-asistida/</a>
<b>ASRM</b>	Estados Unidos	2014	Repetitive oocyte donation: A committee opinion <a href="https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(14)00581-0/abstract">https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(14)00581-0/abstract</a>
<b>SAMER</b>	Argentina	2013	Normas para la acreditación de bancos de semen <a href="http://www.samer.org.ar/pdf/normas_ctros/normas_acreditacion_bancos_de_semen.pdf">http://www.samer.org.ar/pdf/normas_ctros/normas_acreditacion_bancos_de_semen.pdf</a>
<b>ASRM</b>	Estados Unidos	2013	Reproducción con Donante <a href="https://www.reproductivefacts.org/globalassets/rf/news-and-publications/bookletsfact-sheets/spanish-fact-sheets-and-info-booklets/reproduccion_con_donante-spanish.pdf">https://www.reproductivefacts.org/globalassets/rf/news-and-publications/bookletsfact-sheets/spanish-fact-sheets-and-info-booklets/reproduccion_con_donante-spanish.pdf</a>
<b>ESHRE</b>	Europa	2013	Total quality management (TQM) in an IVF Center <a href="https://www.eshre.eu/-/media/sitecore-files/Annual-meeting/London/London/PCC/Syllabus-PCC-12.pdf?la=en&amp;hash=4D4AD8EDC4AD1D7F80207275DE71ECBFDF77109A">https://www.eshre.eu/-/media/sitecore-files/Annual-meeting/London/London/PCC/Syllabus-PCC-12.pdf?la=en&amp;hash=4D4AD8EDC4AD1D7F80207275DE71ECBFDF77109A</a>
<b>ASRM</b>	Estados Unidos	2012	Recommendations for gamete and embryo donation: A committee opinion <a href="https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(12)02256-X/abstract">https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(12)02256-X/abstract</a>
<b>SEF</b>	España	2012	Manual de buenas prácticas clínicas en Reproducción Asistida

			<a href="https://www.sefertilidad.net/docs/noticias/manualBuenaPractica.pdf">https://www.sefertilidad.net/docs/noticias/manualBuenaPractica.pdf</a>
<b>AMMR</b>	México	2012	Consenso Nacional Mexicano de Reproducción Asistida <a href="https://ammr.org.mx/wp-content/uploads/2018/12/consenso.pdf">https://ammr.org.mx/wp-content/uploads/2018/12/consenso.pdf</a>
<b>CFAS</b>	Canadá	2012	Certification programme for Assisted Reproductive technology laboratory professionals in Canada <a href="https://cfas.ca/Library/ART_Lab/Certification_Programme_Amended.pdf">https://cfas.ca/Library/ART_Lab/Certification_Programme_Amended.pdf</a>
<b>ASEBIR</b>	España	2012	Recomendaciones para la aplicación de RD1301/2006 <a href="https://asebir.com/cuadernos-asebir/cuaderno-de-embriologia-clinica-criopreservacion-de-gametos-y-embriones-humanos-parte-ii-consultas-a-la-asesoria-juridica-de-asebir/">https://asebir.com/cuadernos-asebir/cuaderno-de-embriologia-clinica-criopreservacion-de-gametos-y-embriones-humanos-parte-ii-consultas-a-la-asesoria-juridica-de-asebir/</a>
<b>CFAS</b>	Canadá	2011	Current Good Tissue Practice (CGTP) and Additional Requirements for Manufacturers of Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products (HCT/Ps) <a href="https://www.aatb.org/sites/default/files/FDA%20Guidance%20for%20Industry%20cGTP%202011.pdf">https://www.aatb.org/sites/default/files/FDA%20Guidance%20for%20Industry%20cGTP%202011.pdf</a>
<b>SEF</b>	España	2011	Saber más sobre Fertilidad y Reproducción Asistida <a href="https://www.sefertilidad.net/docs/pacientes/spr_sef_fertilidad.pdf">https://www.sefertilidad.net/docs/pacientes/spr_sef_fertilidad.pdf</a>
<b>CFAS</b>	Canadá	2010	ETHICS AND ASSISTED PROCREATION: Guidelines for the Donation of Gametes and Embryos, Surrogacy and Preimplantation Genetic Diagnosis <a href="https://cfas.ca/Library/clinical_practice_guidelines/Ethics_Assisted_Procreation_Guidelines_QUEGOVT.pdf">https://cfas.ca/Library/clinical_practice_guidelines/Ethics_Assisted_Procreation_Guidelines_QUEGOVT.pdf</a>
<b>SEF</b>	España	2009	Guía para la evaluación, apoyo e intervención psicológica en Reproducción Asistida <a href="http://www.revistafertilidad.org/RecursosWEB/fertilidad/2009_guias_de_psicologia_2_parte.pdf">http://www.revistafertilidad.org/RecursosWEB/fertilidad/2009_guias_de_psicologia_2_parte.pdf</a>
<b>CFAS</b>	Canadá	2009	Canadian Fertility and Andrology Society Counselling Special Interest Group (CSIG) <a href="https://cfas.ca/Library/clinical_practice_guidelines/CSIG_Counselling_Practice_Guidelines_August_2009.pdf">https://cfas.ca/Library/clinical_practice_guidelines/CSIG_Counselling_Practice_Guidelines_August_2009.pdf</a>
<b>ASRM</b>	Estados Unidos	2008	Revised guidelines for human embryology and andrology laboratories <a href="https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(08)03723-0/abstract">https://www.fertstert.org/article/S0015-0282(08)03723-0/abstract</a>
<b>CFAS</b>	Canadá	2007	Competency profiles for Assisted Reproductive Technology laboratory professionals in Canada <a href="https://cfas.ca/Library/ART_Lab/Competency_Profiles_CFAS_Letterhead_-_PDF.pdf">https://cfas.ca/Library/ART_Lab/Competency_Profiles_CFAS_Letterhead_-_PDF.pdf</a>
<b>CFAS</b>	Canadá	2007	REVENTION OF CONTAMINATION AND CROSSCONTAMINATION AT RECOVERY: Practices & Culture Results <a href="https://www.aatb.org/sites/default/files/AATB%20Guidance%20Document%20No.%202%2C%20v2%20%285.29.07%29.pdf">https://www.aatb.org/sites/default/files/AATB%20Guidance%20Document%20No.%202%2C%20v2%20%285.29.07%29.pdf</a>
<b>Fecunditas</b>	Argentina	2006	Consentimientos Informado <a href="https://www.fecunditas.com.ar/oldsite/consentimientos_informados_esp.pdf">https://www.fecunditas.com.ar/oldsite/consentimientos_informados_esp.pdf</a>
<b>Health &amp; Consumer</b>	Europa	2006	Report on the regulation of Reproductive Cell Donation in the European Union

<b>Protection</b>			<a href="https://ec.europa.eu/health/ph_threats/human_substance/documents/tissues_frep_en.pdf">https://ec.europa.eu/health/ph_threats/human_substance/documents/tissues_frep_en.pdf</a>
<b>Red LARA</b>	Latinoamérica	2006	Manual de Procedimientos <a href="https://redlara.com/images/arq/livreto_esp_01_2007.pdf">https://redlara.com/images/arq/livreto_esp_01_2007.pdf</a>
<b>Red LARA</b>	Latinoamérica	2001	Formulario de educación y consentimientos e procedimientos de Reproducción Asistida <a href="https://redlara.com/images/arq/Consentimientos%20informados.PDF">https://redlara.com/images/arq/Consentimientos%20informados.PDF</a>
<b>Red LARA</b>	Latinoamérica	1998	Manual de Procedimientos <a href="https://redlara.com/images/arq/manualrede.pdf">https://redlara.com/images/arq/manualrede.pdf</a>

Tabla 1. Manuales y Guías revisadas para la presentación de este trabajo

Para poder regular las prácticas en Reproducción asistida se necesita de la parte legal, leyes que guíen el camino a seguir en cada país; sin embargo, no todos los países en donde se practican las TRA poseen leyes que las regulen, sin embargo, la mayoría de Centros subsanan esta falta guiándose de normas internacionales, mayormente Españolas; ya que es España uno de los países mejor regulados y en donde se realizan más casos de TRA en el mundo (SEF, 2011).

Actualmente en Latinoamérica, solo hay dos países con regulación legal sobre la donación de gametos, los cuales son Argentina y Uruguay (Cano F, 2018). Sin embargo, las TRA se practican en varios países latinoamericanos, tales como México, Brasil o Colombia (Vidal J, 2019).

2. Las Leyes y Normativas presentes en Latinoamérica para las TRA y la selección de donantes, así como la Ley española utilizada a nivel mundial como guía para los diversos centros de reproducción asistida en países que no cuentan con una normativa legal como lineamiento para el desarrollo de las TRA son las siguientes:

PAIS	NORMA	FECHA	TEMA
<b>España</b>	Real decreto-Ley N° 9/2014	04/07/2014	Establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos.
<b>Argentina</b>	Ley N° 26.862	25/06/2013	Acceso integral a los procedimientos y técnicas médico-asistenciales de Reproducción Asistida
<b>Uruguay</b>	Ley N° 19.167	29/11/2013	Regulación de las Técnicas de Reproducción Humana Asistida
<b>España</b>	Ley N° 14/2006	26/05/2006	Técnicas de Reproducción Humana Asistida
<b>Chile</b>	Ley N° 19.585	26/10/1998	Modifica el Código Civil y otros cuerpos legales en materia de filiación
<b>Perú</b>	Dictamen favorable N° 06/2020-2021 del 01/06/2020	Posible aprobación a ley	Posible Ley que garantiza el acceso a Técnicas de Reproducción Humana Asistida, la cual está a la espera de la aprobación a ley en el Congreso de la Republica para el año 2021.

<i>Perú</i>	Ley N° 26842	15/07/1997	Ley general de salud, Artículo 7°.- Toda persona tiene derecho a recurrir al tratamiento de su infertilidad, así como a procrear mediante el uso de técnicas de reproducción asistida, siempre que la condición de madre genética y de madre gestante recaiga sobre la misma persona. Para la aplicación de técnicas de reproducción asistida, se requiere del consentimiento previo y por escrito de los padres biológicos.
<i>España</i>	Real decreto N° 412/1996	01/03/1996	Establecen los protocolos obligatorios de estudio de los donantes y usuarios relacionados con las técnicas de reproducción humana asistida y se regula la creación y organización del Registro Nacional de Donantes de Gametos y Preembriones con fines de reproducción humana

Tabla 2. Normativas sobre Reproducción Asistida en Latinoamérica y España

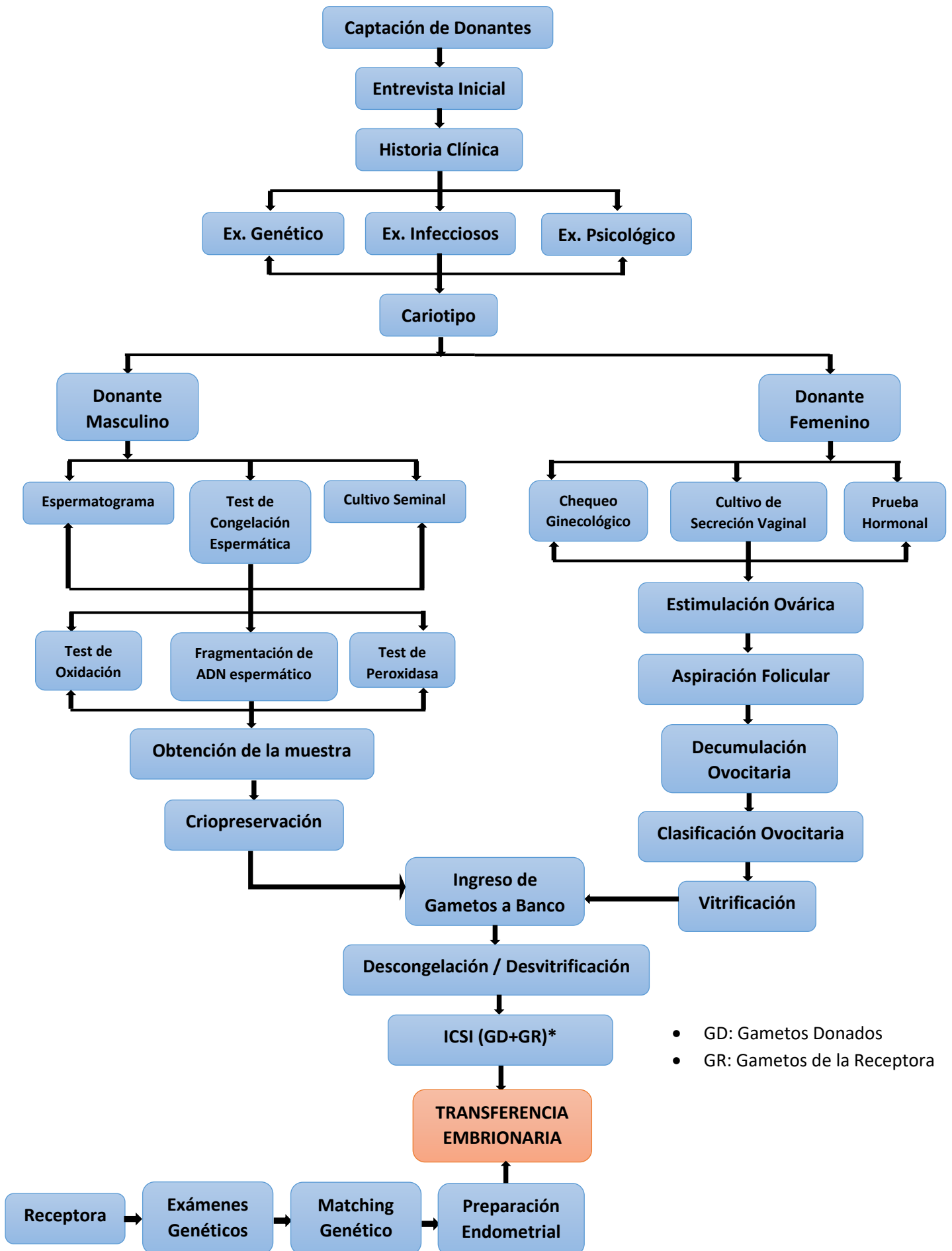
Finalmente utilizaré estudios realizados en diversos laboratorios y/o centros de reproducción que identifican cuales son los mejores parámetros a elegir según la población específica sobre las que se utilizaran estas TRA (IMC, peso, talla, entre otros), enfocándonos siempre en la obtención de una mejor calidad embrionaria al finalizar el ciclo.

#### **Variables:**

- **D:** Parámetros para la selección de donantes
- **D:** Calidad de las muestras
- **D:** Criterios para la criopreservación
- **D:** Criterios de sincronización D – R
- **I:** Criterios internacionales
- **I:** Pruebas complementarias
- **I:** Calidad de las muestras
- **I:** Criterios internacionales

## RESULTADOS

### FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE SELECCIÓN DE DONANTES



# I. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE DONANTES

## 1. POLITICAS DEL CENTRO

La legislación Peruana aún no cuenta con una ley o reforma que establezca criterios o protocolos regulatorios para las TRA en el Perú. Sin embargo hay tres proyectos de ley que intentan regular mejor las TRA en Perú, los cuales están con dictamen favorable en el Congreso de la Republica desde junio de este año, y esperando la aprobación de las autoridades pertinentes para el próximo año (2021).

En la actualidad hay una gran expansión de los centros de RA en países latinoamericanos que no cuentan con una normativa específica en la materia (Vidal J, 2018), sin embargo, en su mayoría, los centros toman como normas base a las regulaciones dadas por los organismos reguladores más reconocidos a nivel mundial, tales como ASMR, ASEBIR, ESHRE, Red LARA, entre otros; los cuales ponen sobre la mesa algunas bases regulatorias sobre las cuales trabajar para la regulación en la donación de gametos. Las principales regulaciones a seguir por los distintos centros de Reproducción Asistida son las siguientes:

1. La donación de gametos y embriones debe ser de carácter altruista, gratuito, formal y confidencial, concertado entre el donante y el centro.
2. La donación únicamente será revocable cuando el donante así lo requiera o necesite los gametos donados, siempre y cuando estos aun estén disponibles. Esto solo procederá si el donante asume los gastos generados por el centro para la obtención de dichos gametos.
3. La donación nunca deberá tener carácter lucrativo o comercial. La compensación económica resarcitoria que se otorga a los donantes únicamente reconoce las molestias físicas, los gastos de movilización y los días laborales perdidos.
4. El contrato deberá ser por escrito y firmado por ambas partes, tanto por el donante como por el centro autorizado.
5. La donación deberá ser anónima y deberá garantizarse la confidencialidad de los datos de los donantes por los bancos de gametos.
6. Los donantes deben ser mayores de 18 años, deben gozar de buen estado de salud física y mental, así como buena capacidad de obrar por sí mismos. Estos deberán cumplir con una serie de pruebas complementarias para corroborar que estos no tengan enfermedades o alteraciones genéticas transmisibles a la progenie.
7. El número máximo de hijos nacidos vivos de cada donante no debe ser superior de 6 (ASMR, ASEBIR, SEF).

### 1.1. Captación de donantes

La captación de donantes de gametos se realizara mediante publicidad por diferentes medios y redes sociales, utilizando mensajes que estimulen la donación siendo siempre respetuosos y enfocados en el mensaje final que se quiere dar; el de estimular la donación de gametos sexuales. Cualquier actividad publicitaria o promocional por parte del centro que incentive la donación deberá respetar de carácter altruista, no invitando a

participar bajo ninguna circunstancia alentando a la donación mediante el ofrecimiento de compensaciones o beneficios económicos (ASMR, ASEBIR).

Debido al carácter altruista de la donación de gametos, la publicidad realizada para captar donantes de estar centrada básicamente en eso, en ayudar a una pareja con infertilidad a poder lograr un embarazo y generar una familia.

La publicidad a emplear debe estar avocada tanto a captar donantes como posibles pacientes para el centro, siendo siempre nuestro principal objetivo el de ayudar a las parejas de cualquier índole sexual o mujeres solteras a formar una familia.

Una vez definido el tema publicitario, se debe buscar la mejor plataforma de información a menor costo para captar tanto donantes como pacientes; y siendo las redes sociales hoy en día una de las mayores fuentes de información a bajo costo, nuestra publicidad va a estar enfocada hacia ese espacio. Se utilizarían anuncios pagados en las redes sociales más influyentes hoy en días, siendo Instagram, Facebook YouTube y TikTok los más utilizados por nuestro público objetivo, tanto para donación de gametos como para procedimientos de alta complejidad.

## **1.2. Perfil de los donantes**

El éxito de las TRA con gametos donados depende en gran medida de la selección adecuada de los donantes, siendo cada vez más difícil el poder lograr una adecuada selección debido a caudas exógenas difíciles de predecir o evitar. Sin embargo, la Sociedad española de bancos de tejidos (AEBT) y la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), entre otros; han establecido ciertos criterios a tener en cuenta para el perfil de donantes. Para poder ser donante de gametos se deben cumplir ciertos requisitos previos, los cuales serán mencionados por puntos.

1. El primer requisito a cumplir es ser mayor de edad para poder firmar los consentimientos y contratos relativos a la donación. Según ley española, en la que están basados la mayoría de los manuales internacionales, los donantes de gametos deberán ser mayores de 18 años y no superar los 35 años de edad de ser mujeres y los 40 años de ser varones. Sin embargo, este requisito no pareciera estar basado en estudio que certifique la mejor edad fértil en ambos sexos. Hay diversas opiniones sobre la edad máxima en la que un donante puede aceptarse, aunque existe consenso en establecer un punto de corte para minimizar la posibilidad de anomalías genéticas relacionadas con la edad. Según SEF, siempre es mejor buscar donantes menores de 30 años debido a que se ha evidenciado que con donantes más jóvenes se observa siempre hay una mejoría en cuanto a los resultados, tanto en cantidad como en calidad. En el caso de los donantes masculinos, hay estudios que demuestran que el semen de los donantes mayores de 40 años (AATB, ASRM, BAS, CFAS) o de 45 años (Barrat C, 1998) no debe admitirse. Lo ideal es que los donantes masculinos tengan entre 20 - 25 años (SEF), pudiéndose aceptar donantes de hasta 28 años de edad, siempre y cuando no tengan resultados anómalos en las pruebas complementarias. El caso de las donantes femeninas es más complejo, las malformaciones ovocitarias no solo dependen de la edad o los malos hábitos, sino que hay varios factores relacionados que son difíciles de predecir con exámenes previos. Sin embargo, se sabe que la fertilidad natural de la mujer suele disminuir a partir de los 30 años, y que la mejor calidad ovocitaria se

obtienen en mujeres de entre 20 y 30 años (ASRM, SEF, ASEBIR). Por esta razón, los límites de edad que utilizaremos estarán basados en estos estudios, reclutando únicamente a los donantes que se encuentren dentro del límite de edad mencionado a continuación. Siendo este, para donantes femeninas, no menor de 20 años ni mayor de 28 años y donantes masculinos no menores de 20 años ni mayores de 30. Esto basándonos tanto en la experiencia obtenida en el centro, como en estudios mencionados previamente que demuestran la mejor edad fértil en ambos sexos.

2. Los donantes deben demostrar compromiso y responsabilidad tanto con las pruebas como con el tratamiento médico al que van a ser sometidos.
3. Los donantes deben conocer a sus padres biológicos y el historial de enfermedad familiar de ambos padres.
4. Los donantes deben contar con un buen estado de salud física y psicológica, no padecer de malformaciones ni infecciones, así como ausencia de un historial familiar o personal de enfermedades genéticas o cardiovasculares, ceguera, artritis severa, diabetes juvenil, alcoholismo, esquizofrenia, depresión, epilepsia, Alzheimer, entre otros. Así mismo, deben estar psicológicamente aptos para atravesar por el estrés que conlleva la donación de gametos, especialmente en las donantes femeninas, las cuales deben afrontar el estrés pre quirúrgico para lo que deben estar psicológicamente preparadas.
5. Se debe comprobar el grupo sanguíneo y factor Rh de los donantes, esta información es importante para la sincronización donante-receptora.
6. Se debe saber la talla y peso de los donantes para poder corroborar su índice de masa corporal (IMC). Los donantes deben presentar un peso sano y un IMC entre 18 y 25. De tener un IMC mayor a 25, la calidad de los gametos se verá comprometida (Martini A, 2018) (Novillo Estofán JM, 2016).
7. De preferencia, no siendo necesariamente indispensable, es recomendable que los donantes tengan prueba de su fertilidad, es decir descendencia. Sin embargo, este paso no es completamente necesaria, pero si preferible.
8. En el caso de que el donante tenga piercings o tatuajes, estos deben de tener una antigüedad mínima de 1 año para poder ser aceptados como donantes, previos exámenes infecciosos.
9. Se debe preguntar a los donantes si son fumadores y de serlo, con qué frecuencia fuman y cuantos cigarrillos consumen al día. Si la cantidad de cigarrillos es mayor a uno o dos diarios, en el caso de donantes masculinos, serán aplazados por 1 año, sin fumar, para posteriormente pasar por pruebas complementarias previas a la donación que acrediten que el uso de tabaco no ha generado cambios ni fragmentación del ADN espermático (Ramos-Reyes A, 2019). En el caso de las donantes femeninas, el tabaco genera un potencial daño en el ADN de los ovocitos, así como una disminución en la cantidad ovocitaria y hasta disminución de la fertilidad en mujeres expuestas al tabaco prenatalmente (Ramos-Reyes A, 2019). Los daños generados a los óvulos no se pueden revertir, por lo que de ser posible, se deberán seleccionar donantes no fumadoras, que fumen con moderación. Para los donantes masculinos, el daño espermático se da tanto en la espermatogénesis, generando un incremento en el daño de ADN espermático, como afectar la calidad seminal, disminuyendo la concentración, motilidad y hasta morfología espermática; e incluso disminuye la función espermática por aumento de ROS y leucocitopenia (Ramos-Reyes A, 2019)
10. El consumo de alcohol y drogas debe ser mínimo o nulo en un donante de gametos. De no ser este el caso, se debe evitar este tipo de donantes ya que se ha

comprobado que el consumo de alcohol, tabaco y/o drogas no solo afecta la fertilidad, sino también disminuye tasa la implantación embrionaria, que es lo que se quiere lograr con los gametos donados. El exceso de alcohol en donantes femeninas disminuye la FSH, lo que lo que suprime la foliculogénesis y por ende disminuye la ovulación, también puede generar folículos inmaduros (García-Hjarles MA, 2014). En el caso de los donantes masculinos, el consumo de alcohol se ha asociado a disminución de la morfología y concentración espermática, así como una disminución del volumen seminal, llegando incluso a hipospermia. Se ha reportado también un mayor porcentaje de oligozoospermia en bebedores severos (García-Hjarles MA, 2014).

11. Una vez comprobada la información previamente mencionada, se debe tomar nota de los rasgos fenotípicos de los donantes, los cuales deben ser la única descripción ofrecida a la receptora al momento de realizar la sincronización donante receptora. Entre los rasgos físicos a ser tomados en cuenta están el color y tipo de cabello, color de tez, color de ojos, etnia, talla, peso, entre otros detalles que se consideren importantes.

Sin embargo, también hay diferentes circunstancias que implicarían la inhabilitación o no aceptación de un donante de gametos; según American Association of Tissue Banks (AATB) y American Society for Reproductive Medicine (ASRM), estos incluyen:

- Haber mantenido relaciones homosexuales durante los últimos cinco años.
- Relaciones sexuales frecuentes con distintas parejas.
- Tener historia de abuso sexual o físico.
- Historia de estrés o angustia excesiva, depresión o algún problema psiquiátrico o psicológico presente.
- Tener evidencia de abuso de drogas en los últimos 5 años, tales como evidencia física de venopunción no relacionadas a tratamientos médicos. Ninguna sociedad recomienda la realización de pruebas bioquímicas para la medida de los niveles de estas drogas.
- Hemofilia u otra enfermedad de coagulación que necesite transfusiones.
- Haber ejercido la prostitución en los últimos 5 años.
- Haber tenido relaciones sexuales en los últimos 12 meses con alguna persona descrita en los apartados previos, o con alguien que sea sospechoso de tener Hepatitis o VIH.
- Haber tenido contacto con heridas, mucosas o sangre en los últimos 12 meses con portadores, o sospechosos de Hepatitis B, C y VIH.
- Tener contacto cercano (por ejemplo compartir baño o cocina) en el último año, con portadores de Hepatitis o VIH.
- Haber estado encarcelado por más de 3 días en el último año.
- Estar o haber tenido tratamiento en el último año de sífilis, gonorrea o clamidias.
- Piercing, tatuajes o acupuntura en el último año con procedimientos sin la debida esterilización.
- Tener historia familiar de encefalopatía espongiiforme o de cambios en la percepción, palabra o modo de andar.
- Los donantes que tengan fiebre y dolor de cabeza simultáneamente, o que sean diagnosticados de alguna infección, deberán ser aplazados durante al menos 28 días desde el inicio de los síntomas o del diagnóstico, o 14 días después de que los síntomas remitan.

- Los donantes sospechosos de padecer el Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS), que estén recibiendo tratamiento para SARS en los 28 días previos a la donación, que convivan con personas sospechosas o afectadas con SARS en los 14 días previos, o que hayan viajado o residido en un área afectada por SARS en los últimos 14 días.
- Trasplantados de órganos o tejidos, o que reciban tratamiento con extractos humanos.

Los donantes no admitidos deben ser debidamente informados del motivo de su exclusión. En caso de que la exclusión sea por problemas de salud, estos deberán ser informados y de ser posible asesorados sobre el tema, posteriormente siendo dirigidos a un los servicios médicos adecuados con un informe clínico emitido por el centro.

### **1.3. Compensación económica**

Según el Artículo 7 del Dictamen favorable N° 06/2020-2021\*, perteneciente a la comisión de salud y población Peruana; la donación de gametos, llámese ovocitos o espermatozoides, y embriones, deberá ser a título gratuito y de carácter formal, anónima y confidencial entre el donantes y el centro de reproducción autorizado.

\*El Dictamen pertenece a la Comisión de Salud y Población y ha sido presentado al Congreso de la Republica en junio de este año, donde actualmente se encuentra a la espera del debate y posible aprobación respectivos.

Según las comisiones internacionales, que son las que generan el lineamiento a seguir en las TRA en los países que no cuentan con una legislación en el tema; las cuales mencionan que si bien la donación de gametos debe ser de carácter altruista y voluntario, de manera consciente, sometido a reserva, formal y haciendo especial hincapié en el carácter no lucrativo entre el donante y el centro de reproducción autorizado (SEF, ESHRE, ASRM); se ha decretado que los(as) donantes deben recibir una compensación económica limitada, siendo esta estrictamente para cubrir sus gastos e inconvenientes derivados de la obtención, en relación a dietas, perdidas económicas, molestias ocasionadas, entre otras (Ley 14/2006, España).

Según distintos comités de ética internacional, se debería promover los programas de donación altruistas, ya que al instaurar una compensación económica ofreciendo una cantidad compensativa, podría derivarse en una actividad lucrativa y no altruista; para lo cual habría que establecer ciertas medidas de control y regulación, pensando en la bioética y revisando el valor de las compensaciones nacionales periódicamente para mantenerse dentro del margen ofrecido.

### **1.4. Perfil de la receptora**

Según SEF, la receptora de gametos debe cumplir con ciertos requisitos para poder recibir los gametos en donación, los cuales son:

- Debe ser una mujer mayor de edad, es decir mayor de 18 años, sin embargo, el límite superior de edad de la receptora es un tema controversial, ya que no se ha indicado en manual alguno una normativa sobre la edad límite superior. Sin embargo, se sabe que cuando la receptora tiene más de 45 años, los resultados son comparativamente menores (Lopez-Galvez JJ, 2014). Si bien existen estudios que demuestran que las tasas de éxito no necesariamente disminuyen debido a la edad de la receptora (Pantos K, 1993) (Abdalla HI, 1997), los

centros de reproducción también han llegado a un consenso sobre la edad máxima recomendada para las receptoras, la cual no debe ser mayor de 50 años de edad para evitar complicaciones asociadas al embarazo (ASRM, SEF, ESHRE).

- La receptora debe tener plena capacidad de obrar con independencia tanto de su estado civil como orientación sexual.
- De ser mayor de 40 años, debe estar informada de los riesgos que conlleva una maternidad en edad avanzada.
- Debe firmar un consentimiento informado de manera libre, consiente y expresa de su voluntad de realizar las TRA con gametos donados. En dicho consentimiento se debe recalcar y especificar los posibles riesgos que trae consigo la donación de gametos; tanto en el tratamiento, el embarazo y la posible descendencia. Especialmente si la receptora y la pareja sobrepasan los 40 años.
- Si la mujer estuviera casada, se necesitaría también el consentimiento de su conyugue.

### **1.5. Riesgos y complicaciones**

Los principales riesgos de la donación de gametos se encuentran en la donación de gametos femeninos, ya que es en las donantes en las que se utilizan hormonas y procedimientos mínimamente invasivos.

Si bien es cierto que no hay confirmados riesgos a largo plazo por la ovodonación, los principales riesgos a tener en cuenta sería la hiperestimulación ovárica (SHO), la punción ovárica debido a riesgos de infección o hemorragia peritoneal, o del uso de anestésicos debido a las reacciones alérgicas o el riesgo durante la aspiración (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2004).

Otro riesgo a tener en cuenta es el riesgo a consanguinidad, el cual queda minimizado con la limitación de seis hijos por cada donante, aunque la ASRM recomienda un límite de 25 hijos por cada donante para una población de 800.000 habitantes (Whittemore AS, 1992). Sin embargo, es preferible tomar como límite máximo 6 hijos por cada donante para evitar consanguinidad, así como efectos adversos debido a las hormonas.

### **1.6. Responsabilidades**

Debido a que la donación de gametos femeninos u óvulos son los que tienen un cierto riesgo de complicaciones dado que son las que van a tener que pasar por un proceso más invasivo, debe ser responsabilidad específica del Centro toda la actividad que esté relacionada con la donación de óvulos y especialmente la seguridad de las donantes, el consentimiento informado y el cumplimiento de los protocolos asistenciales y normativas legales e internacionales (SEF, ASEBIR).

De suceder algún imprevisto durante la estimulación o aspiración folicular de las donantes femeninas, la clínica debe correr con los gastos médicos y el tratamiento que esta necesite para su completa recuperación. Por esta razón lo ideal es evitar pacientes consideradas de alto riesgo.

Esta información debe ser informada a las donantes y estar incluido en el consentimiento informado firmado tanto por la donante como por la clínica (ASRM).

## **2. SELECCIÓN DE DONANTES**

### **2.1. Entrevista inicial**

El primer punto para la selección de donantes es la entrevista inicial, en esta se les informara a los donantes en que consiste la donación de gametos, que pruebas se van a requerir de su parte, que tiempo se demora el Centro en aceptar a un donante, en el caso de las donantes femeninas, se les da la información sobre el tratamiento hormonal, los posibles riesgos a los que se exponen durante el procedimientos y el tiempo que este tratamiento implica, entre otros; así como se resolverán las dudas o preguntas de estos sobre los procedimientos o pruebas a realizar previo a la donación. También se preguntara a los donantes por los puntos más importantes a descartar antes de realizar la historia clínica, tales como consumo de alcohol, tabaco o drogas, problemas tiroides, ITS, enfermedades familiares, entre otros.

Una vez aclarados los puntos, y especialmente brindada la información pertinente a los donantes, de no encontrar ningún problema por el cual no deban ser aceptados como donantes, se les hará entrega de un examen psicológico, el cual debe ser llenado previo a la toma de datos para la historia clínica y entregado al personal del centro para su corroboración.

### **2.2. Información sobre el procedimiento**

El centro debe informar a los donantes sobre todo el procedimiento a realizar, desde los tratamientos o pruebas a realizar hasta el uso que se le darán a los gametos donados y la importancia de mantener su compromiso con el centro.

La información brindada a los pacientes va a ser diferente para los donantes femeninos y masculinos, debido a que los procedimientos y tiempos de cada procedimiento son diferentes para ambos sexos.

#### **2.2.1. Donantes femeninos:**

En el caso de las donantes de óvulos, la información que se les debe dar debe ser más extensa, explicando desde los exámenes sanguíneos e infecciosos, posteriormente la importancia de un correcto descarte genético y especialmente la información sobre el tratamiento hormonal al que será sometida y la importancia de respetar los horarios predispuestos por el Centro; junto con los chequeos que se le realizaran periódicamente para conteo folicular. Finalmente explicarle sobre el procedimiento de aspiración folicular y todo lo relacionado con el procedimiento.

#### **2.2.2. Donantes masculinos:**

Se debe informar a los donantes masculinos las pruebas que se van a realizar, tanto sanguíneos y genéticos, como las pruebas a las muestras seminales que va a presentar; así como los tiempos en el que se va a realizar cada una de ellas, así como los criterios para aceptar o denegar una muestra. Se debe informar también de el por qué se las pruebas complementarias realizadas. Es importante mencionar a los donantes masculinos que al realizarse varias pruebas se van a requerir varias muestras únicamente

para estudios previos, y que una vez aprobados todos los ítems, la última muestra será la que se vitrificara para banco de semen.

### **2.3. Consentimientos informados y compromiso de colaboración**

Una vez informadas del proceso, y luego de ser respondidas todas las dudas que se hubieran planteado, las candidatas deben firmar el consentimiento informado, junto con el compromiso de colaboración para poder seguir con la anamnesis; posteriormente se les realizará una exploración física completa, análisis de sangre, estudio psicológico, entre otros.

El consentimiento informado para las donantes de óvulos debe tener la información sobre las hormonas a utilizar, cuantos días se deben colocar las mismas y los posibles efectos adversos que estas traen consigo

Se debe tener un consentimiento informado para cada procedimiento a realizarse en el centro, el cual deberá ser firmado antes de cada procedimiento o tratamiento. Cada consentimiento informado deberá ser leído a cabalidad por el paciente, el cual, de no entender algún ítem o tener alguna duda o consulta que surja de esa lectura podrá hacer la consulta a los profesionales de la salud presentes en ese momento.

Estos consentimientos deberán ser archivados junto con la Historia Clínica de cada paciente en el Centro. En caso que surja algún problema de salud durante el tratamiento y los pacientes ya no deseen someterse a el procedimiento diagnostico o terapéutico, o deseen discontinuar este proceso, se deberá dejar registro de por qué se interrumpió el tratamiento, así como una constancia firmada de la negativa en la historia clínica del paciente indicando el motivo de la negativa, el cual deberá ser acompañada con la firma del personal que realizó la atención.

Se debe tener también un consentimiento informado para la recepción de los gametos donados en el cual conste que en todo momento los receptores aceptan toda responsabilidad de los resultados del procedimiento, incluyendo la propiedad de los embriones resultantes.

### **2.4. Historia clínica**

La historia clínica es la base para la selección de los donantes, en ella se debe recabar toda la información necesaria e importante para el procedimiento, incluyendo cualquier dato relevante para la identificación y selección de factores de riesgo para la salud de terceros o para sí mismos. También se evaluara en concreto si los donantes o sus familiares cercanos poseen alguna enfermedad hereditaria que ponga en riesgo la vida de la progenie.

Los datos básicos que deben incluirse en la historia clínica según el SEF, 2012 serían los siguientes:

1. Datos Personales del donante, estos deben incluir mas no limitarse a identificación, nacionalidad, historia ocupacional, lugar de procedencia, entre otros.
2. Información fenotípica (Raza, talla, peso, IMC, color de piel, ojos y pelo; textura de pelo, entre otras.)

3. Grupo sanguíneo y Rh
4. Número de donaciones anteriores, esta información debe ser precisa, se debe saber tanto el número de donaciones anteriores como el lugar en donde se realizaron.
5. Historia médica del donante junto con la información de enfermedades preexistentes y actuales de haberlas. Incluir antecedentes psiquiátricos, antecedentes reproductivos (Hijos vivos, malformaciones, mortinatos o abortos).
6. Consumo de alcohol, tabaco, drogas, exposición a sustancias químicas y radiaciones, consumo de medicinas o vitaminas.
7. Historial familiar avocándonos al descarte de la existencia de las siguientes enfermedades en la familia:
  - a. Síndrome Down u otras cromosomopatías, espina bífida, anencefalias, hidrocefalias, mucoviscidosis, hemofilia, hemoglobinopatías, metabolopatías congénitas, mucopolisacaridosis, osteogénesis imperfecta y otras osteocondrodismplasias, neurofibromatosis, riñón poliquístico, ceguera congénita o progresiva desde el nacimiento, labio leporino, focomelias, distrofia muscular, estenosis pilórica congénita, atresia esofágica, atresia de ano, enfermedad cardíaca congénita, depresión maniaca, esquizofrenia, enfermedad mental familiar, suicidios, retraso mental o incapacidad severa de aprendizaje, desórdenes neurológicos, desórdenes convulsivos, diabetes, neoplasias, senilidad precoz, alteraciones de glándulas suprarrenales, infertilidad, déficit inmunitario, otras enfermedades en la familia.
8. Exploración física completa
  - a. Exámenes analíticos, tales como Grupo sanguíneo y Rh
  - b. VDRL o prueba para detectar el sífilis
  - c. Hepatitis B (Antígeno HBs/Anticuerpos anti HBC)
  - d. Hepatitis C (Anticuerpos anti VHC)
  - e. HIV 1 y 2: Anticuerpos Anti HIV-1,2
9. Se llevara a cabo pruebas genéticas a los donantes, en relación a la existencia de genes autosómicos recesivos dependiendo del conocimiento científico y de la etnia del donante.
10. Se podría necesitar test adicionales en algunas circunstancias, tales como anticuerpos anti HTLV I y II, malaria, toxoplasma, tripanosoma cruzi, dengue, CMV, VEB, RhD entre otros. Estas pruebas serían necesarias únicamente si el donante vive en algún área con elevada incidencia de enfermedad, o cuyas parejas sexuales vivan en estas áreas, hayan viajado o existe exposición o riesgo de contagio, o por criterio médico.

Hay que tener en cuenta que el test de Sífilis, Hepatitis B, C y VIH se repetirá en cada donación, y el Test de VIH tanto en el donante femenino como en el masculino se realizara tanto en la primera visita como uno días previos a la donación.

### **2.5. Entrevista psicológica**

Los donantes deben realizar un test psicológico revisado por un profesional en psicología y psiquiatría que permita detectar algún desorden o desequilibrio psicológico que pueda comprometer o poner en riesgo la salud mental de los donantes.

Posteriormente, los donantes pasaran por una entrevista psicológica, en la cual también se debe evitar toda enfermedad o desorden psiquiátrico que pueda ser transmitido a la progenie mediante algún componente genético.

La entrevista psicológica permite indagar las siguientes áreas de la vida de los donantes (SAMER, 2014) (Burns, L, 1999):

- Permite conocer las relaciones interpersonales de los donantes, tales como el estado civil, los matrimonios, separaciones o divorcios; el nivel educacional adquirido, las experiencias laborales, si tiene hijos, las redes sociales de apoyo disponibles, entre otros.
- Nos permite conocer su historia y contexto familiar, con quién vive actualmente, su familia de origen, genograma, mudanzas, nacimientos y muertes, lazos filiales, entre otros.
- Su historia reproductiva, la fertilidad, el número de embarazos, partos y abortos que ha tenido; así como su historia de anomalías genéticas o cromosómicas.
- Su sexualidad, si tiene pareja, el vínculo que tiene con esta, los métodos anticonceptivos que utiliza, la relación con el propio cuerpo, entre otras.
- Las posibles psicopatologías que tenga mediante una evaluación cognitiva, preguntando también por su historia psiquiátrica, uso de medicación psiquiátrica, diagnóstico.
- Si tienen historial legal, juicios o denuncias.
- Se realizaría también una psicoprofilaxis quirúrgica, la cual nos revelaría si la donante tiene algún miedo o dolencias relacionadas con el tratamiento médico, tales como anestesia, inyecciones, quirófano, dolor, extracción de sangre, ecografías, entre otros.

En el caso que durante la entrevista realizada se obtenga algún resultado alterado, se pasaría a descartar al donante, salvo que este acepte pasar por tratamiento psicológico y una vez solucionado el problema por el que esté pasando, y tras realizarse un nuevo test psicológico con un resultado favorable, este pueda volver a presentarse como donante para el centro. De contar con alguna alteración psicológica o psiquiátrica que se pueda transmitir a la progenie, el donante tendrá que ser descartado del proceso.

## **2.6. Exámenes de laboratorio e infecciosos**

Los exámenes de laboratorios básicos necesarios para los donantes son los siguientes:

- Grupo sanguíneo y factor Rh
- Hemoglobina
- Sífilis (VDRL)
- Hepatitis B (Antígeno HBs/ Anticuerpo anti HBC)
- Hepatitis C (Anticuerpos anti VHC)
- VIH 1 y 2 (Anticuerpos Anti VIH-1,2)

Sin embargo, para tener un estudio más detallado de los donantes, especialmente de las donantes femeninas, también es recomendable realizar los siguientes exámenes para descartar infecciones o donante baja respondedora.

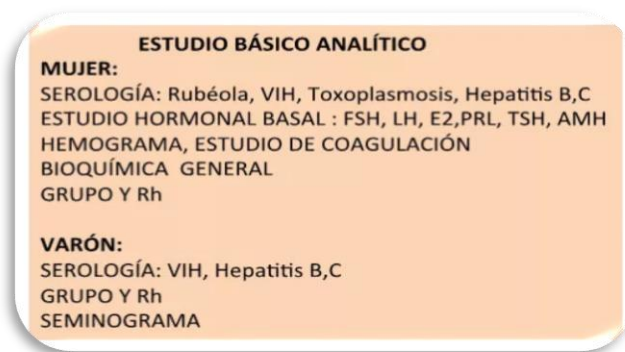


Figura 2. Estudio básico sanguíneo para donantes de gametos. Fuente: SEF

También se recomienda realizar exámenes serológicos tales como Clamidia y Gonorrea previa donación de gametos. Los test de Sífilis, Hepatitis B, Hepatitis C y VIH se deben repetir por cada procedimiento aceptado del mismo donante.

### 2.7. Screening genético

La prueba genética indispensable para un donante de gametos es el Cariotipo, en la cual se examinan el tamaño, la forma y el número de cromosomas, siendo estos los que contienen los genes; con esta prueba se descarta factores de riesgo como triploidías o aneuploidías que pueden conllevar a infertilidad o enfermedades autosómicas heredables.

El SEF plantea también otros aspectos a estudiar en un screening genético de donantes en su Manual de Cribado Genético de Donantes de Gametos del 2019, en el cual mencionan que se deberían estudiar los siguientes casos:

- Las enfermedades hereditarias recesivas o ligadas al cromosoma X, las cuales son prevalentes y graves
- Las enfermedades crónicas, severas y/o progresivas con afectación sensorial, motora o intelectual, que cuentan con un fenotipo claramente establecido.
- Variantes de significado biológico claro descritas como patogénicas o probablemente patogénicas.

Enfermedad	Gen	Enfermedad	Gen
Déficit de alfa-1 antitripsina	<i>SERPINA1</i>	Enfermedad de Wilson	<i>ATP7B</i>
Fibrosis quística	<i>CFTR</i>	Enfermedad de Stargardt	<i>ABCA4</i>
Síndrome de Omenn (inmunodeficiencia combinada grave)	<i>DCLRE1C</i>	Síndrome de insensibilidad androgénica	<i>AR</i>
Sordera neurosensorial no sindrómica	<i>GJB2</i>	Miotonía de Thomsen	<i>CLCN1</i>
Hemoglobinopatías y alfa talasemia	<i>HBA1</i>	Tirosinemia tipo 1	<i>FAH</i>
Alfa talasemia	<i>HBA2</i>	Enfermedad de Pompe	<i>GAA</i>
Beta talasemia y drepanocitosis	<i>HBB</i>	Albinismo oculocutáneo tipo 1	<i>TYR</i>
Hiperplasia adrenal congénita	<i>CYP21A2</i>	Enfermedad de Tay-Sachs	<i>HEXA</i>
Déficit de la Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	<i>G6PD</i>	Distrofia muscular de cinturas autosómica recesiva tipo 2A	<i>CAPN3</i>
Fenilcetonuria	<i>PAH</i>	Homocistinuria	<i>CBS</i>
Atrofia muscular espinal	<i>SMN1</i>	Epidermolisis bullosa distrofica	<i>COL7A1</i>
Paraparesia espástica	<i>SPG7</i>	Amaurosis congénita de Leber	<i>CRB1</i>
Albinismo oculocutáneo tipo II	<i>OCA2</i>	Síndrome del cromosoma X frágil	<i>FMR1</i>
Síndrome de Alport	<i>COL4A3</i>	Mucopolisacaridosis tipo IVa	<i>GALNS</i>
Síndrome de Alport	<i>COL4A4</i>	Enfermedad de Gaucher tipo 1	<i>GBA</i>
Síndrome de Pendred/Sordera	<i>SLC26A4</i>	Hipogonadismo hipogonadotrofo	<i>GNRHR</i>
Déficit de acil-coenzima A deshidrogenasa de cadena media	<i>ACADM</i>	Mucopolisacaridosis tipo IIIC (San Filippo)	<i>HGSNAT</i>
Síndrome de Smith-Lemli-Opitz	<i>DHCR7</i>	Síndrome de Usher 1b	<i>MYO7A</i>
Poliquistosis renal autosómica recesiva	<i>PKHD1</i>	Neuropatía auditiva/sordera	<i>OTOF</i>
Trastorno congénito de la glicosilación IA	<i>PMM2</i>	Enfermedad de Oguchi/Retinitis pigmentosa	<i>SAG</i>
Enfermedad de Niemann-Pick	<i>SMPD1</i>	Sordera no sindrómica autosómica recesiva	<i>TMPRSS3</i>
Intolerancia a la fructosa	<i>ALDOB</i>	Hipotiroidismo	<i>TSHR</i>
Fiebre mediterránea familiar	<i>MEFV</i>	Hemofilia A	<i>F8</i>
Retinitis pigmentosa autosómica recesiva/Síndrome Usher tipo 2	<i>USH2A</i>	Hemofilia B	<i>F9</i>
Déficit de acil-coenzima A deshidrogenasa de cadena larga	<i>ACADVL</i>		

Tabla 3. Tabla de enfermedades ligadas al cromosoma X. Fuente: WHO

## **II. PRUEBAS REQUERIDAS Y CRITERIOS PARA PRESERVACIÓN DE GAMETOS EN BANCO**

### **1. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS Y CRITERIOS DE ACEPTACIÓN**

Una vez los donantes pasen la primera entrevista con el centro, junto con los exámenes psicológicos y sanguíneos previamente mencionados, estos pasaran a las pruebas de descarte biológico. Si bien es cierto que en el caso de las donantes femeninas no se puede realizar ninguna prueba previa aspiración para poder corroborar que los ovocitos a aspirar sean de buena calidad, es responsabilidad del médico realizar todas las pruebas hormonales y ginecológicas que aseguren un óptimo resultado el día de la aspiración. Sin embargo, al no poder observarlos directamente antes de la aspiración junto con el no saber el estilo de vida que llevan las donantes, aún queda un porcentaje de error que es difícil de disminuir.

En el caso de los donantes masculinos si se pueden realizar diversas pruebas para evitar muestras de baja calidad o con alteraciones. Por esta razón, se deben realizar todas las pruebas pertinentes para poder obtener una muestra de la mejor calidad posible y así poder ofrecer a las receptoras gametos que logren una mejor tasa de implantación y embarazo.

#### **1.1. Seguridad**

Se debe tener en cuenta que se debe tratar toda muestra biológica obtenida de los donantes, ya sea semen, fluido folicular, sangre, entre otros que se vaya a manipular; como si estuviera contaminada. Para esto, el personal debe usar siempre guantes al momento de tocar las muestras y tomar todas las precauciones del caso.

En el laboratorio también se debe utilizar material desechable y/o descartable en todos los casos que esto sea posible. Utilizando a su vez un protocolo de desinfección de materiales e instrumentos reusables, casos de contaminación por derrame de muestras o cualquier otra contingencia.

Todo el personal debe contar con las medidas de protección adecuadas para cada función, entre ellas ropa adecuada, anteojos protectores, gorros, barbijos, guantes, mascarillas, botas protectoras, entre otros.

#### **1.2. Selección de donante masculino**

Solo los donantes de gametos masculinos que hayan sido aceptados durante la primera fase de la selección, entre 20 a 28 años, con buen estado físico o psicológico, que no padezcan ni tengan familiares con enfermedades o trastornos genéticos, que no padezcan de ETSs, entre otros; es decir los que cumplen con los requisitos requeridos en el perfil de donantes serán los aceptados para la fase de evaluación. Para ello se debe evaluar la muestra seminal del donante por duplicado, lo que implica que el donante haga varias visitas a la clínica previo a la donación de gametos para poder realizar todos los descartes necesarios previa congelación en banco.

Durante cada visita se realizarán distintas pruebas complementarias para poder definir la calidad de la muestra a congelar, el número de visitas y el cronograma de actividades a realizar estará detallado en el siguiente cuadro.

	<b>Primera visita</b>	<b>Segunda visita</b>	<b>Tercera visita</b>	<b>Cuarta visita</b>	
<b>Consulta informativa</b>	<b>Si</b>				<b>De querer donar nuevamente, se recomienda esperar un periodo mínimo de dos meses entre cada donación.</b>
<b>Consulta clínica con el médico y/o psicólogo</b>	<b>Si</b>	<b>Si</b> Revisión de resultados	<b>Si</b> Revisión de resultados	<b>Si</b> Revisión de resultados y admisión oficial de la muestra	
<b>Firma de Contrato</b>		<b>Si</b>			
<b>Muestras a estudiar</b>	Orina: - Uro cultivo - Examen de Clamidia y Gonorrea	Sangre: - Grupo sanguíneo y Rh - Infecciosos *Se necesita firmar consentimientos	Sangre: - Cariotipo - Exámenes genéticos	Semen:  - Obtención y criopreservación de la muestra	
	Semen: - Espermocultivo - Primer Espermatograma - Test de descongelación	Semen: - Segundo espermatograma - Pruebas complementarias - Test de descongelación	Semen: - Pruebas complementarias		
	<b>Día 1</b>	<b>Día 15</b>	<b>Día 25</b>	<b>Día 35</b>	<b>Día 95</b>

Tabla 4. Cronograma de exámenes que se realizan al donante en las distintas visitas al Centro. \*El porcentaje de muestras rechazadas por anomalías en el eyaculado es aproximadamente del 46%, siendo aceptadas únicamente el 22% de los donantes. (Gestar InVivo)

Lo primero que se debe comprobar aunque la muestra sea de buena calidad es que la muestra pueda soportar la congelación, dado que de no ser así esa muestra no cumpliría las condiciones necesarias para ser congelada en banco.

Las muestras criopreservadas en banco se puede usar tanto para TRA de alta como de baja complejidad, tanto en parejas heterosexuales, mujeres sin parejas, pareja de mujeres homosexuales, varones con azoospermia, criptoospermia, teratoospermia o factor masculino severo. También se puede utilizar en casos de in vitro fallidos, cuando el espermatozoa de la pareja cuenta con un alto índice de fragmentación o cuando la calidad seminal es buena pero los casos resultan con fallos repetitivos en la fecundación; pacientes con mala calidad embrionaria, varones con VHC, VHB o VIH, pacientes con enfermedades inmunitarias, entre otros.

### **1.2.1. Espermatograma**

La primera prueba a realizar en laboratorio es un Espermatograma, en la cual se va a observar las características tanto micro como macroscópicas de la muestra seminal, las cuales van a ser catalogadas utilizando los parámetros de calidad del Manual de la OMS 2010.

Para la recolección de la muestra, el paciente debe tener un periodo de abstinencia sexual (y de cualquier tipo) de 3 a 5 días como mínimo, no debe haber tenido gripe ni fiebre en los últimos días ni debe haber estado bajo tratamiento antibiótico (para un

correcto cultivo espermático). De preferencia de debe haber consumido ni alcohol ni cigarros en la última semana. La muestra se tomara en el laboratorio y se obtendrá mediante masturbación.

Parameter	Lower reference limit
Semen volume (ml)	1.5 (1.4–1.7)
Total sperm number (10 <sup>6</sup> per ejaculate)	39 (33–46)
Sperm concentration (10 <sup>6</sup> per ml)	15 (12–16)
Total motility (PR+NP, %)	40 (38–42)
Progressive motility (PR, %)	32 (31–34)
Vitality (live spermatozoa, %)	58 (55–63)
Sperm morphology (normal forms, %)	4 (3.0–4.0)
<i>Other consensus threshold values</i>	
pH	≥7.2
Peroxidase-positive leukocytes (10 <sup>6</sup> per ml)	<1.0
MAR test (motile spermatozoa with bound particles, %)	<50
Immunobead test (motile spermatozoa with bound beads, %)	<50
Seminal zinc (μmol/ejaculate)	≥2.4
Seminal fructose (μmol/ejaculate)	≥13
Seminal neutral glucosidase (mU/ejaculate)	≥20

Tabla 5. Límites de referencia inferior para las características seminales Fuente: Manual OMS, 2010

Una vez obtenida la muestra de semen, se debe dejar licuefactar por 30 min a 37°C. Si al cabo de este tiempo el semen no ha licuado, se puede inducir la licuefacción utilizando una jeringa de 5ml con una aguja N° 21, pasando el semen por esta una o más veces. Una vez obtenida la licuefacción, se valoraran los diferentes parámetros espermáticos según los parámetros de la OMS (2010).

Toda muestra de donante de semen debe ser evaluada por duplicado, para corroborar el resultado inicial y observar, de haberlas, las variaciones que tenga la muestra. De resultar en una muestra con normozoospermia, el siguiente paso a seguir sería un Test de congelación espermática, dado que aunque la muestra sea de buena calidad, si no sobrevive a la vitrificación y desvitrificación, la muestra no sería de utilidad para las donantes. Posterior a eso, se realizarían pruebas complementarias para corroborar la calidad de la muestra.

### 1.2.2. Test de congelación espermática

El Test de congelación se debe realizar dos veces, para poder determinar y corroborar que verdaderamente la muestra a congelar en banco resiste a la criopreservación con una calidad aceptable, la cual se comprueba al descongelar la muestra y observarla bajo microscopio antes y después de realizar una capacitación espermática.

El protocolo a utilizar para el Test de congelación espermática va a ser el mismo utilizado para la vitrificación y desvitrificación de espermatozoides, el cual se detalla en el punto 2.2 de Criopreservación de gametos.

### **1.2.3. Pruebas complementarias**

Las pruebas complementarias en una muestra seminal permiten identificar ciertas causas que podrían generar una alteración en los parámetros seminales, lo que nos permitiría tratarlo y minimizar su influencia en la calidad seminal o, de ser el caso, no aceptar al donante debido a que la calidad seminal no sería la indicada.

#### **1.2.3.1. Cultivo seminal**

El cultivo seminal se realiza para descartar la presencia de bacterias, las cuales pueden generar adhesión o aglutinación seminal, así como infecciones en el eyaculado u obstrucción en el tracto urogenital o infección.

La bacteriospermia o presencia de estas bacterias podría generar un aumento de leucocitos en el eyaculado o leucocitospermia, lo cual puede generar a su vez estrés oxidativo por aumento de citoquinas y ROS, lo que afectaría a los espermatozoides a nivel de motilidad espermática, viabilidad y morfología.; aumento de daño del ADN espermático, disminución de las reacciones acrosómicas, alteración de las estructuras moleculares del ADN espermático, entre otros. Siendo también una de las causas más frecuentes de infertilidad masculina. (Domes T, 2012; Nabi A, 2013; Zeyad A, 2018).

Esta prueba se debe realizar junto con el primer espermograma, para esta prueba se necesitan dos agares, el Agar MacConKey, en el que se desarrollaran las bacterias Gram- y el Agar Manitol Salado, en el que se desarrollaran las bacterias Gram+, especialmente los Staphylococcus. El resultado se observará luego de 48 horas de cultivadas las placas y de observarse el crecimiento de alguna cepa, se utilizaría el Agar Muller Hinton para realizar el antibiograma de las colonias encontradas. En esta se utilizará una colonia por placa, en la escala de McFarland, junto con las pastillas de antibiótico para conocer la acción de los mismos contra la cepa encontrada.

De encontrarse un espermocultivo positivo en los donantes, se deberá tratar primero la infección y una vez superada, y con los niveles de calidad espermáticos adecuados, el donante podrá seguir con las siguientes pruebas.

#### **1.2.3.2. Fragmentación espermática**

La fragmentación del ADN espermático es una de las pruebas complementarias más importantes, debido a que el daño muchas veces no es visible en un espermograma, por lo que no sería posible saber a ciencia cierta el grado real de fertilidad que presentan los pacientes. Se sabe que el 10-15% de pacientes normozoospermicos son infértiles debido a que tienen un índice elevado (Agarwal A, 2020)

El daño se puede deber a varios factores, ya sean biológicos, ambientales o de otra índole; los agentes causantes más conocidos son el tabaco, alcohol, drogas, obesidad, quimioterapias, mala alimentación, entre otros (Agarwal A, 2020).

Existen distintas técnicas de descartar la presencia de fragmentación espermática, siendo estas catalogadas en dos grupos, las técnicas que miden la susceptibilidad diferencial del ADN para ser desnaturalizado (SCSA, SCD y Ensayo cometa) y las que marcan la rotura de la cadena de ADN (Túnel).

Tabla 1. Técnicas que existen para estudiar la fragmentación del ADN espermático.		
Método	Instrumental	Detalles
TUNEL	Microscopio de fluorescencia, citometría de flujo	Se incorporan nucleótidos marcados de un fluorocromo en los extremos de las roturas existentes en el ADN, la reacción se logra con una transferasa terminal, con lo cual se produce una mayor señal en casos de fragmentación de ADN.
SCSA	Citometría de flujo	Se desnaturaliza la molécula de ADN mediante solución ácida, posteriormente se marca con naranja de acridina, la cual se intercala entre las dos cadenas de ADN y la cadena sencilla de ADN (desnaturalizado) que, a su vez, al ser excitado emite diferentes longitudes de onda: verde y rojo, respectivamente. El ADN fragmentado se visualiza en color rojo al ser más susceptible de desnaturalización.
SCD ( <i>sperm chromatin dispersion</i> ). Halosperm®	Microscopio de fluorescencia, campo claro	Se realiza un tratamiento ácido y desproteización. Se forman halos de dispersión de la cromatina según la formación de bucles de ADN. Si no generan halo, se considera que el ADN está fragmentado.
COMETA	Microscopio de fluorescencia electroforesis de ADN	Se incluyen espermatozoides en un microgel de azarosa y se someten a lisis, los núcleos desproteinizados se someten a electroforesis. El ADN fragmentado avanza por acción del campo eléctrico y da imagen de "cometa".

Tabla 6. Técnicas que existen para estudiar la fragmentación del ADN espermático. Fuente: WHO

La técnica a utilizar será la SCD o Test de Dispersión de la Cromatina, debido a que se puede realizar con un microscopio de campo claro, sin necesidad de comprar un citometro de flujo. Esta Técnica consiste en producir una descondensación diferencial de la cromatina mediante la ruptura de los puentes disulfuros de los espermatozoides utilizando una solución acida, seguido de una desproteización, utilizando una solución lisis.

Al observar la muestra bajo microscopio se observara un halo alrededor de los espermatozoides con ADN normal, sin embargo, si el halo es pequeño o no hay halo alrededor de los espermatozoides, estos tienen daño o fragmentación del ADN espermático.

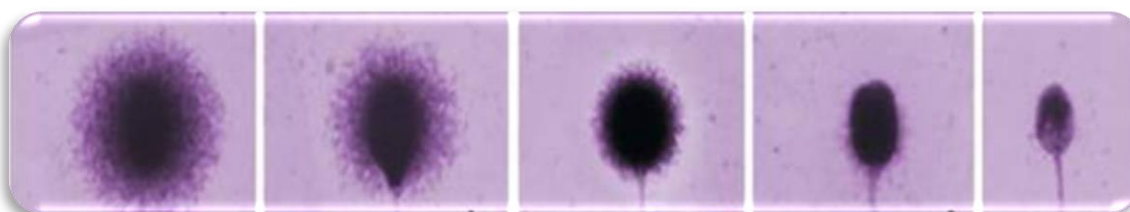


Figura 3. Test SCD de fragmentación espermática. Las dos primeras fotos son Espermatozoide con ADN normal, sin embargo a partir de la tercera foto podemos observar espermatozoide con el ADN fragmentado a distintos niveles, ya sea en cadena doble o simple. El tamaño del halo es importante para definir la integridad del ADN espermático. A más grande el halo, el daño en el ADN espermático es menor.

Se debe contar 200 espermatozoides y el resultado se presenta en porcentaje de fragmentación. El límite máximo de fragmentación de ADN espermático que se permitirá a los donantes será no mayor al 15%, siendo un valor aceptables hasta el 25% en pacientes que realizaran TRA con gametos propios (Góngora A, 2011).

### 1.2.3.3. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo en espermatozoides, puede ser definido como el daño que sufren los espermatozoides después de que son eyaculados; cuya presencia es debido a la generación de grandes cantidades de especies reactivas al oxígeno, conocidas como ROS y que se forman cuando el espermatozoide está en desventaja para regular su metabolismo de forma natural (Cordova-Izquierdo A, 2017).

Para realizar el Test de estrés espermático o MOST, el cual es una prueba que estima la resistencia de los espermatozoides a la lipoperoxidación; se debe incubar la muestra en baño maría, previamente capacitada, ya sea con gradientes o swim up; a 40°C por cuatro horas. Posteriormente se evaluara la movilidad final y el resultado se calcula como el cociente entre la velocidad final y la inicial.

El valor de corte para MOST se estableció en  $>0.40$ , los niveles bajos de MOST ( $<0.40$ ) reflejan un aumento en la Peroxidación lipídica que podría alterar la capacidad fecundante del donante (Calamera J, 1998). Los valores por debajo de 0.40 no serán aceptados a menos que el donante reciba tratamiento y se vuelva a presentar como donante pasados los 3 meses.



Figura 4. Test de Estrés oxidativo.

### 1.2.3.4. Test de Peroxidasa

El test de peroxidasa detecta la presencia de polimorfos nucleares en el eyaculado, el exceso de este tipo de leucocitos es denominado leucocitospermia; la cual, como se comentó previamente, puede generar desde un aumento de ROS, hasta daño espermático a nivel de motilidad, viabilidad y morfología.; aumento de daño del ADN espermático, disminución de las reacciones acrosómicas, alteración de la estructuras moleculares del ADN espermático, entre otros.

Hay que tener en cuenta que la leucocitospermia está presente en el 10 - 20% de la población general y es bastante común en hombres infértiles (OMS, 2010).

Los polimorfos nucleares peroxidasa positivo son los que más predominan en el eyaculado, para poder detectarlos hay que realizar el test de peroxidasa positiva. Este test consiste en la tinción de los leucocitos peroxidasa positivos utilizando la

ortotoluidina, los leucocitos peroxidasa reaccionan con el agua oxigenada, desprendiendo oxígeno que a su vez reacciona con la ortotoluidina, oxidándola, y haciendo que los leucocitos peroxidasa positivos se teñirán de naranja.

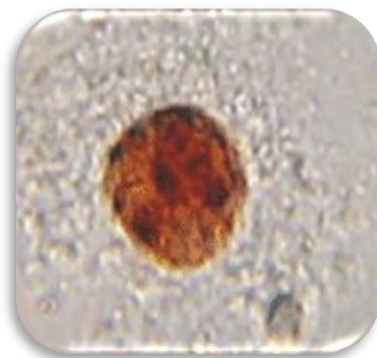


Figura 5. Test de Peroxidasa con ortotoluidina. El polimorfo nuclear de color naranja observado en la imagen es Peroxidasa positivo.

Para realizar este test se deben mezclar 4 soluciones, la ortotoluidina,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Posteriormente se le agrega 0.1 ml de semen a 0.9 ml de la solución final de trabajo, realizando una dilución 1:10. Se homogeniza por 10 segundos y se deja actuar por 20 o 30 min a temperatura ambiente.

Una vez transcurrido el tiempo, se homogeniza y se analiza en la cámara de Neubauer hasta contar 200 leucocitos peroxidasa positivos en cada cámara. Finalmente se utiliza la fórmula para obtener el número de células/ml. El valor máximo aceptado por la OMS, 2010 es de 1 millón de leucocitos por ml de semen.

#### **1.2.4. Obtención de espermatozoides**

Una vez que se han realizado todas las pruebas complementarias y se tiene la certeza de que la muestra espermática es de buena calidad, el siguiente paso a seguir es la recolección de la muestra para vitrificación de gametos en banco, para lo cual se le pedirá al donante que regrese al Centro con 3 días de abstinencia sexual o de cualquier tipo, para dejar la muestra que almacenaremos en el banco de semen. De no ser suficiente el volumen de una sola muestra espermática, el centro podrá citar al donante una segunda vez pasando los 3 días mínimos de abstinencia para dejar una segunda muestra seminal.

El donante debe ser previamente asesorado de las mejores condiciones para la recolección de esta muestra seminal, así como los cuidados de asepsia necesarios.

Una vez obtenida la muestra, esta se va a criopreservar y rotular con la correcta identificación de donante. Se debe llevar un registro del número de crio viales, la posición de la muestra en el criotank, los medios utilizados para la criopreservación, el personal responsable del procedimiento, entre otros.

#### **1.3. Selección de donante femenino**

Las donantes de gametos femeninos que han sido seleccionadas en la primera entrevista, cumpliendo con todos los requisitos planteados previamente, tales como tener entre 20 y 28 años de edad, tener un IMC dentro de lo normal, sin rosar el límite inferior mínimo,

manteniéndose entre 20 y 25; entre otros. Pasaran por un chequeo ginecológico previo, en el 2do o 3er día de la menstruación para comprobar que el número de folículos es aceptable para la aspiración. Siempre y cuando al realizarse el chequeo ginecológico y hormonal se compruebe que la paciente es apta para el procedimiento se procederá a realizar el tratamiento hormonal indicado previa aspiración folicular.

El primer paso para las donantes de gametos es realizarse los exámenes infecciosos, hormonales y el chequeo ginecológico completo, en el 2do o 3er día del periodo. Se debe tener un conteo folicular aceptable, niveles hormonales normales, y el resto de exámenes dentro de los niveles aceptados. De no ser el caso, las donantes no deberían ser admitidas en este proceso, dado que un menor número de folículos es indicativo de una baja en la reserva ovárica, lo cual podría acarrear una baja calidad ovocitaria o alteraciones en los ovocitos obtenidos vía aspiración folicular (ESHRE, 2020).

	<b>Primera visita</b>	<b>Segunda visita</b>	<b>Tercera visita</b>	<b>Cuarta visita</b>	
<b>Consulta informativa</b>	<b>Si</b>				<b>De querer donar nuevamente, se recomienda esperar un tiempo mínimo de 3 meses entre cada donación de óvulos. Esto ayuda a que los niveles hormonales iniciales sean los correctos al momento de la siguiente aspiración.</b>
<b>Consulta clínica con el médico y/o psicólogo</b>	<b>Si</b>	<b>Si</b> <b>Revisión de resultados</b>	<b>Si</b> <b>Revisión de resultados</b> <b>*Se realizara en el 2do o 3er día de menstruación</b>	<b>Si</b>	
<b>Firma de Contrato</b>		<b>Si</b>			
<b>Muestras a estudiar</b>	Sangre: - Grupo sanguíneo y Rh - Infecciosos *Se necesita firmar consentimientos	Chequeo ginecológico: - Eco TV en el <b>2do día de menstruación</b> - Conteo folicular <b>CSV:</b> - Examen de CSV y Clamidia.	Inicio del tratamiento hormonal, este tratamiento durara aproximadamente 11 días.	Se realiza la Aspiración Folicular para la obtención de los COCs	
	Exámenes Hormonales: - FSH,LH, HAM, Estradiol, prolactina	Sangre: - Cariotipo - Exámenes genéticos	Exámenes Preoperatorios		
<b>Día del Ciclo menstrual</b>	<b>Día 2 - 3</b>	<b>Día 2 - 3</b>	<b>Día 2 -3</b>	<b>Día 13 - 14</b>	<b>Día 133 - 134</b>

Tabla 7. Cronograma de visitas y chequeos realizados a las donantes de óvulos.

### 1.3.1. Chequeo ginecológico

Se realizara el chequeo ginecológico a las donantes en la segunda visita al centro, una vez obtenidos los resultados de los exámenes infecciosos y hormonales, ambos con resultados favorables.

Este chequeo consiste en una ecografía transvaginal, en la cual se debe observar la cantidad de folículos presentes en el 2do o 3er día del periodo; una ecografía de mamas para descartar quistes y un chequeo ginecológico completo. En esta consulta se

obtendrá el cultivo de secreción vaginal que será analizado para descartar infecciones y clamidia.

Cabe resaltar que durante el tratamiento hormonal se deben realizar chequeos ginecológicos periódicos para poder definir los días en los que se utilizaran antagonistas, se gatillará o aspirará a la paciente. Estos chequeos suelen ser al 5to o 6to día de tratamiento

### **1.3.2. Pruebas citológicas**

Se recomienda realizar las pruebas de secreción vaginal en la primera visita, para poder tener una idea general de si hay infecciones y si estas son tratables previo tratamiento hormonal. Los exámenes incluidos son el cultivo de secreción vaginal, en el que se realiza una tinción Gram para observar presencia de Cocos o Bacilos, Gram+ o Gram-, así como la presencia de Levaduras, Tricomoniasis, Gardnerellas, entre otras.

Las pruebas de Clamidia se realizan con otros reactivos pero de la misma muestra de secreción vaginal. En este caso, se realiza la tinción con Fucsia de Fenicada, Ácido Acético y Verde de Malaquita. De observarse la presencia de clamidia, se observarían puntos fucsias sobre las células teñidas de color verde.

### **1.3.3. Obtención de óvulos**

Una vez que se han realizado todos los exámenes previos, obteniendo resultados favorables, la donante debe asistir al centro en su 2do o 3er día de menstruación para comenzar con el tratamiento hormonal encargado de la inducción de la ovulación.

Para ello, se debe informar a la donante de la importancia de respetar los horarios de cada ampolla, y las restricciones que el tratamiento conlleva.

Lo primero que deben saber son las restricciones alimentarias, las cuales implican no consumir alcohol, tabaco o drogas, realizar ejercicios regularmente y llevar una dieta saludable y baja en grasas previo a la aspiración y durante el tratamiento hormonal.

#### **1.3.3.1. Inducción de la ovulación**

Para comenzar con la donación, la donante debe regresar al Centro en el 2do día de su periodo, en el caso de pacientes con ovario poliquístico se recomienda comenzar con la inducción en 3er día del periodo. Es aquí cuando se comienza con la Estimulación Ovárica Controlada (EOC) con antagonistas y FSH recombinante. Esta EOC debe estar siempre controlada con ecografía transvaginal

Los protocolos de EOC para TRA evita el complicado proceso de selección natural que suele ocurrir durante el desarrollo de los ovocitos en el ovario, así como la maduración de un solo ovocito para la ovulación; generando la maduración de muchos ovocitos, que a menudo no tienen la calidad ovocitaria adecuada (Cebal E, 2016).

El Primer paso a realizar para la EOC es una ecografía transvaginal, en la cual se realizara un conteo folicular preliminar. Los datos obtenidos en la ecografía serán escritos en la historia de la donante. Hay dos protocolos de estimulación ovárica controlada, el Ciclo largo dura aproximadamente 14 o 15 días, mientras que el Ciclo corto dura 10 días. Es recomendable realizar el Ciclo largo con las donantes de óvulos,

sin embargo depende mucho de cómo se vayan desarrollando los folículos durante el tratamiento. (ESHRE, 2020).

Posteriormente se pasara a la administración de las hormonas, este proceso se va controlando mediante ecografías. La siguiente ecografía se realizaría en el 5to día de EOC, en esta se debe medir el tamaño de los folículos, y según el tamaño de los mismo se decidirá si se sigue administrando únicamente FSH o se aplican antagonistas. De no observar al menos un folículo con 14 mm, la siguiente ecografía se realizaría en el 6to o 7mo día de EOC, en la cual, una vez comprobado que el tamaño de los folículos sea el correcto, se comenzara con la aplicación de los antagonistas.

Se realizará una ecografía ginecológica dos días después de la aplicación de los antagonistas para observar el tamaño de los folículos, de haber algún folículo con más de 17-18 mm se comenzará a gatillar con HCG para 36 horas después realizar la aspiración folicular. Todos los controles deben estar anotados en la historia clínica de la donante.

**Protocolo de Estimulación Ovárica Controlada**

<i>Día del mes</i>															
<i>Día del Ciclo</i>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>
<i>Antagonistas</i>										X	X	X	X	X	
<i>FSH</i>			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
<i>HCG</i>													X		
<i>Chequeo Ecográfico</i>		X				X	X		X	X		X	X		
<i>Aspiración Folicular</i>															<b>A</b>

Tabla 8. Cronograma del ciclo largo de Estimulación Ovárica Controlada para Aspiración Folicular.

**Protocolo de Estimulación Ovárica Controlada**

<i>Día del mes</i>										
<i>Día del Ciclo</i>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<i>Antagonistas</i>							X	X	X	
<i>FSH</i>			X	X	X	X	X	X	X	
<i>HCG</i>								X		
<i>Chequeo Ecográfico</i>		X			X	X		X		
<i>Aspiración Folicular</i>										<b>A</b>

Tabla 9. Cronograma del ciclo corto de Estimulación Ovárica Controlada para Aspiración Folicular.

**1.3.3.2. Aspiración folicular**

La aspiración folicular es el método por el cual se realiza la recolección del Complejo-Cúmulo-Corona-Ovocito o COCs, la cual se realizara por vía vaginal, a través de punción folicular con guía ecográfica.

Esta deberá ser realizada en una sala para cirugías menores o quirúrgica junto con anestesia general o epidural. Para entrar en sala, la donante debe haberse realizado los exámenes preoperatorios pertinentes.

Previo al procedimiento se debe revisar la historia clínica de la paciente para saber la cantidad de folículos que se van a aspirar y en que ovario se encuentran.

En todo el procedimiento se utilizara una guía ecográfica tanto para localizar los folículos a aspirar como para evitar dañar tejidos o arterias circundantes.

Se debe tener en cuenta el tipo de equipo a utilizar en la aspiración, a que presión está funcionando el aspirador, si la aguja es de un lumen o de dos, siendo que la de dos lúmenes te permite lavar y volver a aspirar; entre otros.

Una vez finalizada la aspiración, el anestesiólogo debe llenar la información de la hoja de anestésias, así como los signos vitales de la donante al finalizar el procedimiento. Posteriormente el doctor o la obstetra deberán anotar como estará dejando la paciente el consultorio y se le hará firmar un consentimiento que indique que se retira de sala en buenas condiciones.



Figura 6. Sala de Aspiración Folicular y Aspirador marca GenX.

#### **1.3.3.2.1. Condiciones para la aspiración folicular**

Antes de iniciar la aspiración folicular, el personal del laboratorio donde se recibirán los COCs debe revisar que todos los equipos tengan una función y temperatura óptima para el procedimiento. Se debe verificar que los tubos de aspiración estén a 37°C y que la platina térmica del microscopio este a 40°C. También se debe verificar que el microscopio esté funcionando correctamente y que se cuenta con todos los materiales que se van a utilizar durante el procedimiento.

En la sala de aspiración se debe revisar la presión a la que se van a aspirar los folículos, siendo la recomendada para el aspirador GenX, que es el que se utiliza en el Centro, la de 300 psi como máximo. También se debe revisar el tipo de aguja de aspiración a utilizar, siendo preferible para este procedimiento las agujas de dos lúmenes, la cual permite lavar varias veces el folículo de no encontrar el COCs en el primer intento.

Hay que tener en cuenta que se debe tener una cantidad de personal adecuado para este procedimiento, siendo necesarios, un médico especialista en Fertilidad, que será el responsable de la aspiración, un anestesiólogo encargado de administrar la anestesia y revisar los signos vitales de la paciente; dos obstetras, una que estará apoyando al médico en todo momento durante la aspiración y una rotante que se encargará del traslado de los tubos de aspiración de la sala de aspiración al laboratorio para ser analizados; y, dependiendo de la cantidad de ovocitos a aspirar uno a dos biólogos. De

aspirarse más de 15 ovocitos de una donante, será necesario emplear dos biólogos para el procedimiento (Alikani M, 2014).

#### **1.3.3.2.2. Medio de cultivo**

Se van a utilizar dos medios diferentes durante este procedimiento, el medio de aspiración folicular, en donde se recolectaran los COCs durante la aspiración folicular, y el medio de colecta, en el cual se realizara la limpieza de los COCs previo procedimiento o vitrificación.

Se debe tener en cuenta el control de calidad de todo medio utilizado durante los procedimientos, incluyendo la temperatura, pH, fecha de apertura, entre otros.

##### **1.3.3.2.2.1. Medio para la aspiración folicular**

Se selecciona un medio o solución reguladora que contenga un buffer como Hepes o MOPS, este debe estar suplementado con antibiótico (Penicilina-G:100 u/ml, Estreptomicina-Sulfato: 50 mg/ml) y Heparina (30 ul/ml). La solución debe tener un pH de 7.4 y una osmolaridad de 280 +/- 5 mOsmol. Esta placa se preparará con 2 ml de medio de cultivo en el compartimento central, los cuales se cubren de aceite mineral, un día antes de iniciar el procedimiento se recomienda dejar preparadas las placas. El número de placas se van a preparar de acuerdo al número de folículos que se espera aspirar en cada paciente. Estas se dejaran airear en la incubadora a 37°C, CO2 al 6% y O2 al 5%. También se debe dejar un tubo con medio buffer Hepes en la incubadora a 37°C.

##### **1.3.3.2.2.2. Medio para la colecta de ovocitos**

Se utiliza el mismo medio de aspiración folicular suplementado con 10% de proteína humana. Esta solución se preparará un día antes de iniciar el procedimiento en tubos BD cónicos de poliestireno de 15 ml. Se dejara airear en la incubadora a 37°C, CO2 al 6% y O2 al 5%.

##### **1.3.3.2.3. Recepción de ovocitos durante la aspiración folicular**

Para este procedimiento, se debe preparar todo lo que se va a utilizar el mismo día de la aspiración folicular. Se debe preparar todo lo que se va a utilizar en la cámara de flujo, temperando a 40°C el lugar donde se va a colocar la placa Petri con los ovocitos aspirados y a 37°C el lugar en donde se colocaran los tubos de aspiración y placas a utilizar previa aspiración. Se esperará a que el doctore comience con la aspiración folicular para iniciar la evaluación del líquido folicular bajo el microscopio. Los puntos a seguir para este procedimiento serán los siguientes:

1. Al recibir el tubo con el líquido folicular, depositar el contenido en una placa Petri estéril de 60x15 mm.
2. Se debe revisar bajo la lupa la presencia de uno o más complejos cúmulo-corona-ovocito (CCO).
3. Al ubicar un CCO, este se transferirá con ayuda de una pipeta Pasteur a una cápsula de doble pocillo y se lavara 2 o 3 veces en el compartimento marginal.
4. Se transferirá el CCO lavado al compartimento central de la placa Petri de colección que contiene medio buffer Hepes, y el cual debe estar cubierto de

aceite mineral, y se debe repetir los procedimientos 2,3 y 4 hasta culminar con la aspiración de todos los folículos. Posteriormente se transfieren los ovocitos a una placa Petri con medio de cultivo para mantenerlo en reposo hasta un máximo de 4 horas para evaluar la madurez y su procedimiento.

5. Finalmente se evaluará la madurez de los CCO con aumento mayor de la lupa o con aumento 20x del Microscopio invertido y se clasificará de acuerdo a la morfología del cúmulo.

Una vez realizada la aspiración folicular, los ovocitos deben ser pelados para identificar la calidad y posteriormente ser vitrificados en banco. De ser utilizado para una receptora sincrónica, dependerá de la muestra masculina si se pelan para ICSI o se utilizan para FIV.

#### 1.3.3.2.4. Indicadores de calidad

La clasificación de ovocitos se puede llevar a cabo desde el momento de la aspiración folicular, ya que se puede identificar el tipo de COCs que se tiene en placa solo con observarlo. La primera clasificación ovocitaria, se divide en dos grados.

- Grado 1: Corresponde a los ovocitos que presentan una Corona expandida y laxa, en general son ovocitos maduros en estado MII.
- Grado 0: Corresponde a ovocitos que presentan un Cúmulo compactado, generalmente se da en ovocitos inmaduros MI o vesículas germinales o VG.

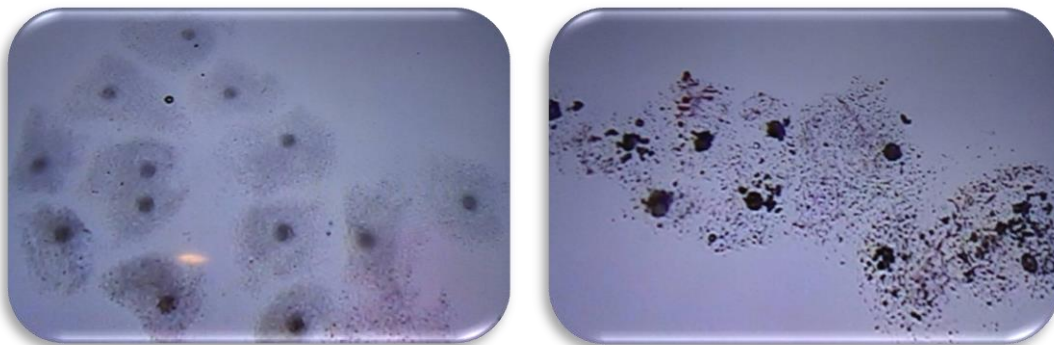


Figura 7. Clasificación COCs sin pelar. En la primera Foto se observan Grado 1. En la segunda foto se observan Grado 0. La segunda foto se suele ver mayormente en pacientes con Endometriosis.

Una vez obtenidos los COCs en placa, se procederá a decumular para vitrificación en banco de óvulos. Cabe resaltar que de ser donante en fresco se debe saber el tipo de procedimiento a realizar antes de decumular los ovocitos. De realizar una FIV en fresco no sería necesario decumularlos.

Una vez decumulados los ovocitos, se procederá a medir la calidad de maduración ovocitaria, la cual será definida por la presencia o ausencia del corpúsculo polar o el núcleo.

Los óvulos que se vitrificaran serán únicamente los MII, los cuales son ovocitos maduros que presentan corpúsculo polar. Los MI, que no presentan cuerpo polar, y las

VG, que presenta núcleo intracitoplasmático característico de profase I; serán descartados.

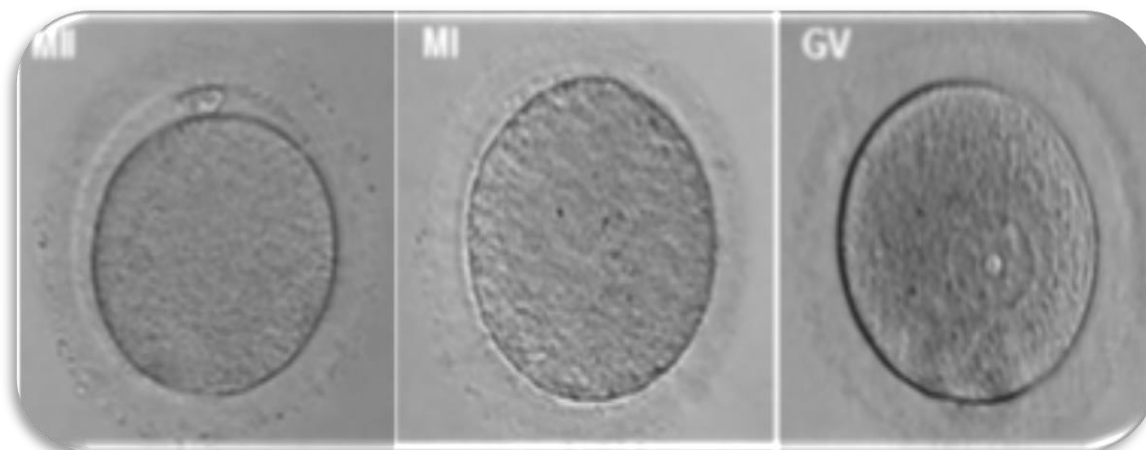


Figura 8. Clasificación de Maduración Ovocitaria. MII es un ovocito maduro con presencia de Corpúsculo polar. MI es un ovocito inmaduro sin corpúsculo polar. VG es un ovocito en fase III avanzada el cual todavía es diploide.

Una vez separados los ovocitos inmaduros, se comienza con la valoración morfológica de los ovocitos, la cual se realizara observando la apariencia de la zona pelúcida, el espacio perivitelino, el corpúsculo polar, la forma del ovocito y su citoplasma (ESHRE, 2020).

Dentro de los parámetros a evaluar, tenemos las alteraciones morfológicas citoplasmáticas y las alteraciones morfológicas extracitoplasmáticas, las cuales se dan fuera del citoplasma del ovocito.

<b>Alteraciones morfológicas Citoplasmáticas</b>	<b>Alteraciones morfológicas Extracitoplasmáticas</b>
Agrupación de orgánulos/granulosidad localizada en el centro del ovocito	Restos celulares en el Espacio Perivitelino
Agregación del Retículo endoplasmático liso (REL)	Anomalía de la Zona Pelúcida
Vacuolas	Espacio Perivitelino aumentado
IncurSIONES Citoplasmáticas	Alteraciones del primero Corpúsculo Polar (Fragmentación y tamaño)

Tabla 10. Alteraciones morfológicas en los ovocitos.

La Granulosidad centra se observa como una masa individual oscura sobre el ovocito. Hay que tener en cuenta de que a mayor granulosidad central, menor será la calidad del ovocito. Esta granulosidad central disminuye la tasa de implantación ovocitaria y aumenta la tasa de abortos (Cerviren AK, 2014).

Si el ovocito va para ICSI, se debe de tener cuidado de no tocar la granulosidad con la aguja (Yi, 2019).



Figura 8. Granulosidad Central

El REL o Agregaciones del Retículo Endoplasmático Liso, está formado por los gránulos citoplasmáticos que han sido desplazados por las vesículas del REL. Es una anomalía severa que en ocasiones tienen dimensiones semejantes a un pronúcleo.

Si se va a hacer ICSI a estos óvulos y al momento de inyectar se toca el REL, es muy probable que ese ovocito no fecunde, por lo que se recomienda que al momento de inyectar, esto se realice lo más alejado posible del REL (Saito, 2019).

El REL está relacionado a desarrollo anormal de embriones, baja formación de blastocistos, embarazos no evolutivos, entre otros (Setti A, 2016).



Figura 9. Agregaciones del Retículo Endoplasmático Liso o REL

Las Vacuolas son inclusiones citoplasmáticas rodeadas de membrana y rellenas de un fluido idéntico al del espacio Perivitelino. Estas varían tanto en tamaño como en número (Fancsovits, P, 2011).

Las vacuolas pequeñas, que miden de 5 – 14  $\mu\text{m}$  de diámetro, no representan mayor problema en los ovocitos, sin embargo, las vacuolas mayores de 14  $\mu\text{m}$  de diámetro si generan tasas bajas de blastocistos (Deene V, 2016).

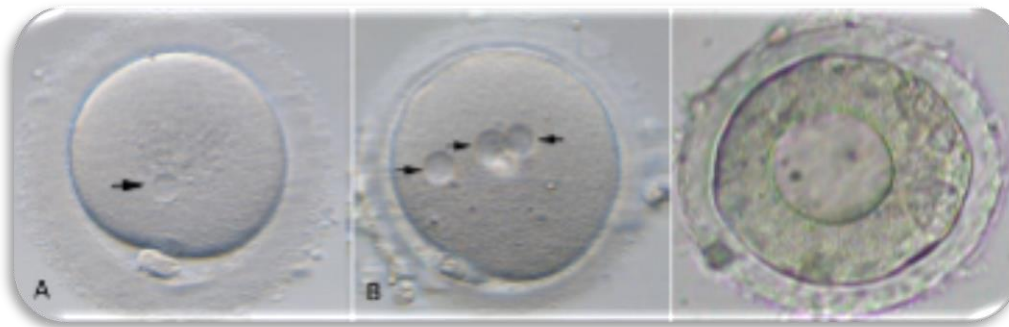


Figura 10. Vacuolas en la superficie del ovocito.

Las inclusiones citoplasmáticas son pequeñas áreas de necrosis, de las cuales aún no está claro si afectan a la fecundación, implantación o calidad embrionaria (Balaban, 1998); sin embargo, algunos estudios si consideran que afecta negativamente a la fecundación y al desarrollo embrionario (Otsuki, 2007; Rienzi 2008). Estos pueden ser de dos tipos, Cuerpos Picnóticos y Cuerpos Necróticos.

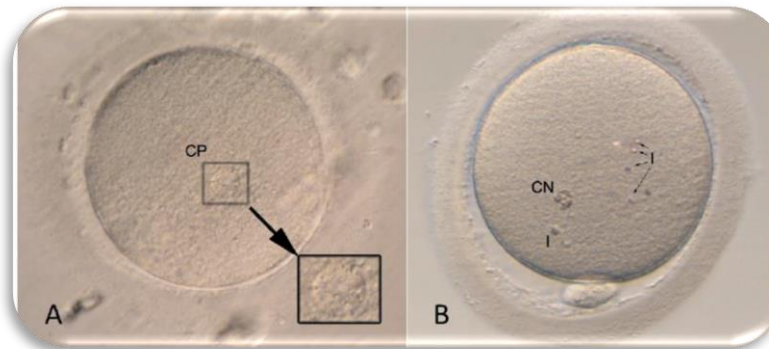


Figura 11. Inclusiones citoplasmáticas. Se observa en la primera imagen un cuerpo picnótico y en la segunda imagen un cuerpo necrótico.

Los restos celulares en el Espacio Perivitelino están relacionados con un deterioro de la zona pelúcida interna, esto podría afectar la capacidad de fecundación del ovocito. También está relacionado con una menor tasa de implantación (Balaban, B, 2006).

Suelen estar relacionados con signos de exceso de administración de gonadotropinas empleados en los ciclos de estimulación ovárica (Balaban, B, 2006).

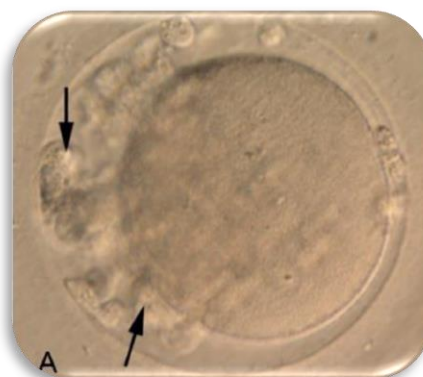


Figura 12. Restos Celulares en el Espacio Perivitelino

Las anomalías de la zona pelúcida está asociado a una baja tasa de implantación, ya que evita que se de el Hatching o adelgazamiento natural de la zona pelúcida al momento de la implantación. Sin embargo, esto se podría revertir con un pequeño corte en la zona pelúcida con el láser de biopsia endometrial para ayudarlos a salir de ella (Sauerbrun-Cutler M, 2015).

Hay diferentes defectos de la zona pelúcida, en su mayoría son tabicadas, pero la mayoría de las malformaciones no logra generar un embrión de buena calidad (Cebal E, 2016).

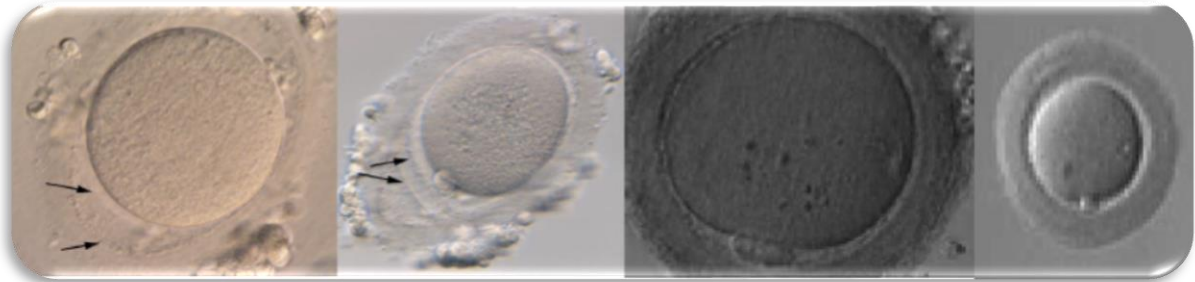


Figura 13. Anomalías en la zona pelúcida

El espacio perivitelino aumentado es un dimorfismo que se puede observar perfectamente bajo microscopio, esto genera que el ovocito quede flotando en el interior de la zona pelúcida. Suele estar asociado a la sobre maduración del ovocito y a bajas tasas de fecundación, sin embargo, no parece afectar a la calidad embrionaria (Hassa, H, 2014).



Figura 14. Espacio Perivitelino aumentado

Las alteraciones del primer Corpúsculo Polar puede ser de dos tipos, por fragmentación del corpúsculo polar, la cual puede estar relacionado con el tiempo transcurrido entre la denudación del ovocito y la realización del ICSI. Los ovocitos que tengan un corpúsculo polar grande, o anomalía de tamaño no deberían ser inyectados, ya que se corre el riesgo de que puedan ser ovocitos aneuploides.

Cabe resaltar que hay muchas controversias sobre si el tamaño irregular o la fragmentación del primer corpúsculo polar estén relacionados o no con la subsecuente calidad embrionaria, desarrollo a blastocistos, tasas de implantación o aneuploidías (Rose BI, 2013; Ciotti PM, 2004).

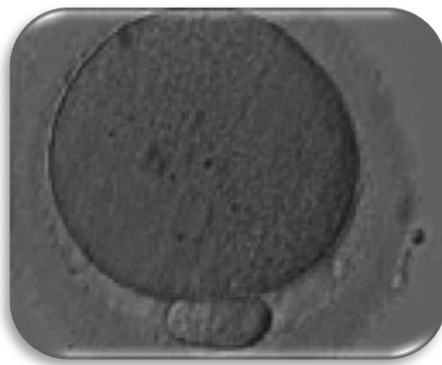


Figura 15. Alteraciones del Primer Corpúsculo Polar

Los ovocitos óptimos suelen estar presentes en un 32% de los COCs aspirados. Las características que deben tener estos ovocitos son:

- Corpúsculo polar intacto
- Espacio Perivitelino pequeño
- Citoplasma claro y moderadamente granuloso
- Zona pelúcida homogénea y translúcida



Figura 16. Ovocito Óptimo

Una vez definidas las alteraciones o la falta de ellas en los ovocitos aspirados, estas deben ser anotadas en la historia de la paciente, en donde se realizara una descripción por menorista de los detalles observados en cada ovocito.

Solo se congelaran Ovocitos maduros MII que no cuenten con grandes alteraciones que puedan perjudicar el resultado de las TRA a los que serán sometidos. Los ovocitos obtenidos vía aspiración folicular que ya fueron pelados se guardaran en la incubadora de gases hasta el momento de su vitrificación.

## 2. CRIOPRESERVACIÓN DE GAMETOS

Una vez obtenidos los gametos de los donantes, el siguiente paso será el congelarlos o vitrificarlos para su preservación en los bancos hasta ser utilizados.

Toda muestra debe estar identificada con el nombre o código del donante. También se debe guardar un registro del procedimiento en la historia, posición en donde se guardó la muestra en el criotank, el número de óvulos o crioviales que se guardaron, la

calidad de los mismos al momento de ser congelados, el procedimiento y los medios utilizados; y finalmente el nombre del profesional que realizó la criopreservación.

Las técnicas de criopreservación son dos, vitrificación y desvitrificación, las cuales se emplean para congelar y descongelar los gametos respectivamente. Estas tienen un protocolo distinto para ambos gametos, lo cual se detallará a continuación

## 2.1. Vitrificación

La vitrificación es la criopreservación ultra rápida de gametos (o embriones) utilizando altas concentraciones de sustancias crioprotectoras que ayudan a prevenir la formación de cristales de hielo durante la congelación de estos en nitrógeno líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$ .

Los crioprotectores son sustancias hidrosolubles que están constituidas por nutrientes que aportan energía a las células. Ayudan a evitar el daño celular durante la congelación de los gametos a  $-96^{\circ}\text{C}$ .

### 2.1.1. Ovocitos

Para realizar la vitrificación de Ovocitos se utilizara:

1. Solución de Equilibramiento (ES): 1 vial de 1.0 ml
2. Solución de Vitrificación (VS): 2 viales de 1.0 ml
3. Dispositivo (Aguja de vitrificación )
4. Placas de Vitrificación con 3 pocillos c/u o placa Petri.
5. Lupa estereoscópica (Apagando la platina térmica)
6. Cronómetro
7. Pinzas
8. Micro pipeta para 300 ul.

Para el procedimiento de vitrificación se realizara lo siguiente:

1. Colocar los viales ES y VS a temperatura ambiente ( $25\sim 27^{\circ}\text{C}$ ). Estos deben ser temperados por lo menos 30 min antes de comenzar el procedimiento.
2. Escribir la información necesaria en el mango del dispositivo a utilizar, y preparar la placa de vitrificación.
3. Preparar el nitrógeno para utilizar.
4. Sacar de la incubadora la placa que contiene los ovocitos
5. Llenar los pocillos de la Placa de vitrificación con 300 ul de ES y 300 ul de VS, respectivamente

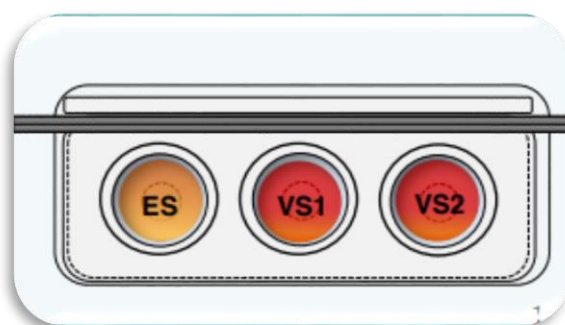


Figura 17. Preparación de cada pocillo con los medios de Vitrificación

6. Colocar la tapa de la Placa de vitrificación inmediatamente.
7. Aspirar el ovocito con la pipeta Pasteur con poco medio.
8. Colocar el ovocito con poca cantidad de medio en la superficie del ES.
9. Ponga en marcha el cronómetro. El ovocito irá lentamente hacia el fondo del pocillo, encogiéndose mientras se hunde, conforme pasa el tiempo se podrá observar que aumenta el espacio perivitelino.
10. Colocar la tapa y esperar a que se recupere, este volverá a su forma original. Cuando el ovocito recupera completamente su volumen finaliza el equilibramiento. El tiempo de equilibrio va a depender de la recuperación del material biológico a sus características normales.
11. Aspirar el ovocito con poco medio ES con la pipeta.
12. Colocar el ovocito en la mitad de la profundidad del VS1.
13. Expulsar el medio ES remanente dentro de la pipeta y aspirar medio VS1 fresco del borde externo del pocillo.
14. El ovocito flotará inmediatamente hacia la superficie del VS1.
15. Aspirar el ovocito colocándolo en la punta de la pipeta.
16. Depositarlo en el fondo del pocillo.
17. El ovocito flotará suavemente hasta la mitad de la profundidad del pocillo y se detendrá.
18. Expulsar el medio VS1 remanente de la pipeta y aspirar el medio nuevo VS2.
19. Aspirar el ovocito colocándolo en la punta de la pipeta.
20. Colocar el ovocito en la mitad de la profundidad del VS2
21. Expulsar el medio VS1 remanente dentro de la pipeta y aspirar el medio VS2 fresco del borde externo del pocillo.
22. Mezclar la solución VS2 alrededor del ovocito para lograr un buen intercambio de medio.
23. Tomar el ovocito colocándolo en la punta de la pipeta. Colocar el ovocito cerca de la punta del dispositivo de congelación a utilizar con mínimo volumen de VS2. (Se recomienda colocar entre 1 y 2 ovocitos como máximo por dispositivo).
24. Inmediatamente sumerja el dispositivo en nitrógeno líquido. Coloque la cubierta del dispositivo dentro del nitrógeno líquido.
25. Guardar el dispositivo en el criotanco correctamente rotulado tanto en el tubo como en el dispositivo.

Una vez realizada la vitrificación se deberá realizar el registro de los datos del donante, la fecha, la ubicación del tubo dentro del criotanco y el biólogo que realizo el procedimiento. Esta información deberá ser registrada tanto en la historia clínica del donante como en el registro interno del laboratorio.

### **2.1.2. Espermatozoides**

Para realizar la criopreservación de Espermatozoides se utilizara:

1. Crioprotector (Sperm Freezing)
2. Criovial
3. Micropipetas
4. Jeringa de 5ml con aguja de 21

5. Reloj
6. Microscopio

Para la criopreservación de semen, primero hay que esperar que ocurra la licuefacción de la muestra, la cual debe demorar entre 20 - 30 min después de colectada la muestra. Posteriormente se realizara un análisis de semen para poder tomar registro de los valores de la muestra previa congelación.

Para el procedimiento de criopreservación se realizara lo siguiente:

1. Una vez licuefactada la muestra, se pasara por una Jeringa de 5ml un par de veces para disminuir la Viscosidad de la muestra.
2. Medir el volumen de la muestra con la misma jeringa para utilizar el mismo volumen de crioprotector
3. Agregar el crioprotector gota a gota e ir mezclando poco a poco mientras se agrega evitar generar ROS por estrés oxidativo.
4. Una vez mezclada la muestra con el crioprotector se divide el volumen final en crioviales, los cuales no deben ser llenados completamente, se debe llenar un volumen máximo de 2 ml por criovial.
5. Llenar un deposito hasta la mitad con Nitrógeno líquido
6. Se debe dejar enfriar los crioviales por 30 min en los vapores de Nitrógeno líquido, sin tocar la superficie.
7. Una vez pasados los 30 min se procede a introducir el criovial al criotank donde serán conservados en Nitrógeno líquido.

Toda muestra criopreservada debe ser registrada en la historia del paciente y en el registro interno del laboratorio, anotando los datos del donante, la fecha, la ubicación del tubo dentro del criotank y el biólogo que realizo el procedimiento. La muestra criopreservada también debe estar correctamente rotulada.

## **2.2. Desvitrificación**

La desvitrificación, es la técnica mediante la cual los gametos o embriones criopreservados regresan a su estado original, sin embargo la tasa de supervivencia a esta técnica rodea el 80 – 85% debido al estrés al que se ha sometido a estos gametos en ambas técnicas (Cuneo-pareto, 2010).

### **2.2.1. Ovocitos**

Para realizar la desvitrificación de ovocitos se utilizara:

1. Solución de Warming (TS): 1 vial de 1.8 ml.
2. Solución de Dilución (DS): 1 vial de 0.5 ml.
3. Solución de Lavado (WS): 1 vial de 1 ml.
4. Una placa de descongelamiento con 4 pocillos
5. Lupa estereoscópica (Apagando la platina térmica)
6. Cronómetro
7. Micro pipeta para 300 ul.

Para el procedimiento de desvitrificación se realizara lo siguiente:

1. Poner la Placa de descongelamiento y el vial TS (tapado) en la incubadora a 37°C horas antes del procedimiento.
2. Poner el vial de DS y WS a temperatura ambiente (25~27°C) al menos 30 min antes de comenzar el procedimiento.
3. Preparar el nitrógeno líquido.
4. Sacar el contenedor del dispositivo del paciente y colóquelo en el nitrógeno líquido preparado para el procedimiento. Ponga el dispositivo dentro del recipiente con nitrógeno (en todo momento los dispositivos deben estar sumergidos dentro del nitrógeno).
5. Sacar la Placa de descongelamiento de la incubadora y llenar el segundo pocillo con 300 ul de DS.
6. Sacar el TS de la incubadora y volcar el contenido en el pocillo rectangular de TS (1.8 ml).
7. Rápidamente (en 1 segundo) colocar la lámina del dispositivo en el pocillo de TS e iniciar el cronómetro. Deberá estar en TS por 1 min.
8. El ovocito se separará del dispositivo por si solo y estará libre en el medio.
9. Aspirar el ovocito y 3 mm de TS dentro de la pipeta.
10. Expulsar suavemente el contenido de la pipeta en el fondo y centrar del DS, de manera que se forme una pequeña capa de TS en el fondo del pocillo de DS. Esperar 3 min.
11. Mientras esperamos, llenar con 300 ul de Solución de Lavado los pocillos WS1 y WS2.
12. Aspirar el ovocito y 3 mm de DS dentro de la pipeta.
13. Expulsar suavemente el contenido de la pipeta en el fondo y centro del WS1, de manera que se forme una pequeña capa de DS en el fondo del pocillo de WS1. En este punto se debe observar bien la morfología del ovocito y recordarla. Apagar la luz y esperar 5 min.
14. Pasados los cinco minutos se debe evaluar la sobrevida del ovocito comparando la morfología con la misma de hace cinco minutos.
15. Se debe esperar 5 minutos en total.
16. Aspirar el ovocito con mínimo volumen de WS1.
17. Colocar el ovocito en la superficie pocillo WS2.
18. Cuando el ovocito se hunda al fondo del pocillo, se debe aspirar nuevamente y colocar en la superficie para que sea lavado en este medio, 2 veces en total.
19. Finalmente lleve el ovocito al medio de cultivo para la recuperación final.

Los ovocitos serán utilizados para ICSI una vez finalizada la vitrificación.

### **2.2.2. Espermatozoides**

Para realizar la descongelación de semen se utilizara:

1. Agua a temperatura ambiente
2. Incubadora
3. Gradientes de 95%, 70% y 50% para tres gradientes, o bien de 40% y 80% para dos gradientes.
4. Medio de Cultivo suplementado con Suero al 10%, en este caso, Global Total.
5. Tubos de centrífuga estériles de 15 ml BD.

6. Pipetas Volumétricas estériles de 1 y 5 ml.
7. Centrifuga
8. Microscopio
9. Pentoxifilina
10. Medio Wash o Hepes

Para el procedimiento de descongelación se realizara lo siguiente:

1. Se debe extraer del criotankue el número de crioviales a desvitrificar, esto depende de la cantidad de óvulos a inyectar.
2. Se sumergirá el criovial en agua a temperatura ambiente por 10 min.
3. Se introducirá el criovial en la incubadora por 10 min.
4. Posteriormente se capacita la muestra utilizando gradientes de densidad.
  - a. Se debe depositar en un tubo falcom 1 ml de la solución de gradiente de mayor concentración, y sobre esta colocar cuidadosamente 1 ml de la o las de menor concentración, de modo que las diferentes gradientes se vean separadas por un menisco de interfase. Si nuestra muestra tiene deficiencia de motilidad, vitalidad o concentración; utilizar únicamente 0.5 ml de cada gradiente.
  - b. Se debe depositar suavemente sobre la gradiente de menor concentración 1 ml (hasta 1.5 ml) de la muestra de semen.
  - c. Se debe centrifugar a 3000 – 5000 RPM por 15 a 20 min.
  - d. Se debe aspirar el pellet formado y parte de la gradiente de mayor concentración para resuspenderlos en 3 ml de MC.
  - e. Centrifugar a 3000 RPM por 7 min.
5. Para el lavado seminal se añade 2ml de medio de cultivo, en este caso GT.
6. Homogenizar y centrifugar a 2500 RPM por 10 min
7. Eliminar el sobrenadante dejando aproximadamente 100 - 150 ul de medio.
8. Introducir el tubo en la incubadora a 37°C por 10 min.

Terminados los 10 minutos la muestra estará lista para utilizar. Se recomienda realizar la selección de espermatozoides utilizando un mini Swim Up de la muestra capacitada, utilizando los espermatozoides que nadan hacia la superficie. Esto permite recolectar los espermatozoides mejor capacitados.

Si la muestra descongelada post capacitación espermática no tiene motilidad, se puede utilizar Pentoxifilina diluida (30mg de Pentoxifilina en 1ml de PBS, utilizando 20 ul de esta solución en 280 ul de Medio Wash o Hepes). Se utiliza 100 ul de la dilución y se homogeniza con la muestra en una concentración de 1:1. Se lleva a la incubadora por 10 min a 37°C y se analiza para escoger los espermatozoides que demuestren signos de motilidad para poder ser utilizados en ICSI.

### **2.3. Control y trazabilidad**

Todo procedimiento realizado en el laboratorio debe ser registrado, tanto en la historia de los pacientes o donantes, como en el registro interno del laboratorio. Cada vez que una muestra es utilizada, esto deberá ser escrito en la historia del donante, junto con la cantidad de ovocitos o crioviales aun disponibles en banco después de algún procedimiento.

Cada procedimiento registrado debe tener anotada la fecha en la que se realizó, para quien se utilizó la muestra, el procedimiento que se realizó, quien fue el responsable de dicho procedimiento, entre otros datos importantes.

El registro interno llevado en el laboratorio de todos los procedimientos realizados deberá tener los siguientes datos:

Ovocitos:

- Número de procedimiento
- Fecha
- Nombre de la Paciente
- Edad
- Modelo Cryotop
- Color del Cryotop
- Condición de la paciente (Donante o Paciente)
- Número de ovocitos
- Ubicación
- Tanque
- Médico que realizo el procedimiento
- Biólogo que realizo la Vitricación
- Medio de congelación
- Número de Ovocitos Descongelados
- Fecha de Descongelación
- Supervivencia
- Número de Ovocitos Restantes
- Biólogo que realizó la Desvitrificación
- Medio de Desvitrificación
- Receptora

Semen:

- Número de procedimiento
- Fecha
- Nombre del paciente
- Edad
- Nombre de la Pareja
- Médico que realizo la atención
- Volumen Inicial
- Concentración x Millón x ml
- Motilidad inicial
- Método de criopreservación
- Número de Crioiales o pajillas
- Ubicación
- Tanque
- Fecha de descongelación
- Procedimiento

- Crioviales utilizados
- Crioviales restantes

### 3. CONTROLES DE LABORATORIO PARA EL MANEJO DE LOS GAMETOS

Los controles de calidad más rigurosos son los que se realizaran en el laboratorio de embriología, dado que este laboratorio cuenta con un mayor protocolo de seguridad e inocuidad debido al tipo de muestras que manejan, teniendo especial cuidado con el filtrado de partículas, la calidad del aire, la temperatura, la luz, entre otros (Elder K et al, 2011).

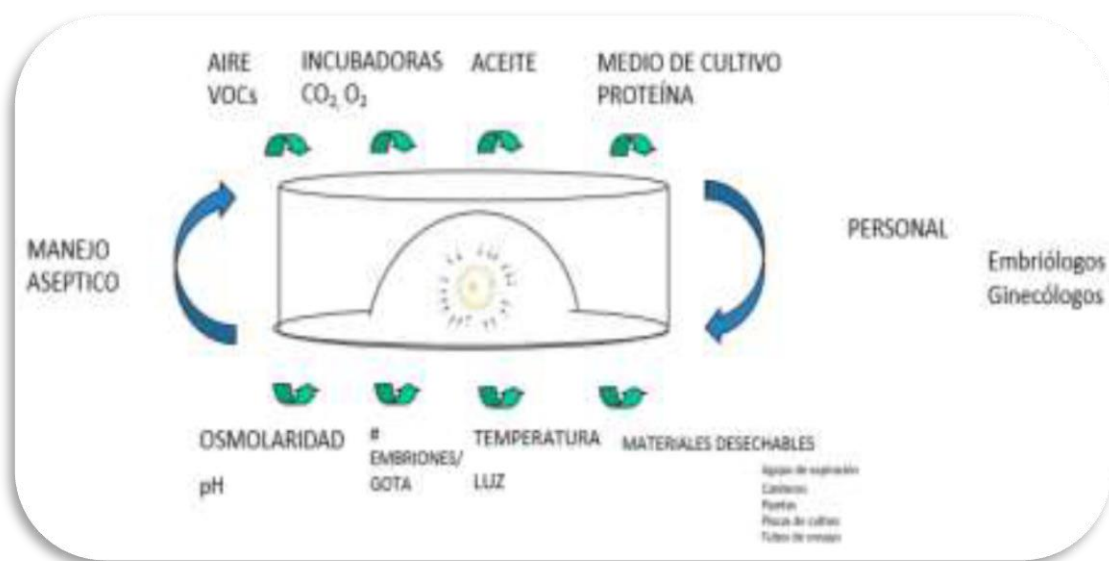


Figura 18. Factores que afectan los cultivos en placa para las TRA Fuente: Elder K et al, 2011

#### 3.1. Normas internacionales de salas limpias

Los laboratorios de embriología deben cumplir minuciosamente con las normas ISO establecidas para este rubro, entre las cuales tenemos a la ISO 17025 y la ISO 9001. Dentro de la norma ISO 9001 existe una normativa UNE 179007, la cual es específica en sistemas de control de calidad para laboratorios de Reproducción Asistida, centrándose en las unidades asistenciales de los laboratorios de andrología, embriología y criopreservación (Mantilla A, 2015).

Dicha normativa complementa aspectos concretos de laboratorios de Reproducción Asistida destacando los siguientes aspectos:

- Requisitos de formación y experiencia que debe tener el responsable de un laboratorio.
- Equipos e instalaciones que debe tener un centro de reproducción asistida, así como los parámetros que deben calcularse.

- Incrementa la gestión, control y trazabilidad de todas las actividades del laboratorio.
- Determina los principales indicadores que deben calcularse, la fórmula de cálculo y los resultados esperados.

De regirnos bajo esta normativa, nos permitirá establecer los recursos mínimos, tanto humanos como estructurales y ambientales de trabajo para la gestión a realizar. Nos permitiría mejorar los procesos de seguimiento y medición de los procedimientos, estableciendo ciertos indicadores que favorecen la comparación con otros laboratorios de Reproducción Humana Asistida que también implementen esta norma (D. Mortimer, 2018).

Por otro lado, el comité de la ISO ha implementado una nueva norma internacional de salas limpias, norma en la cual se establecen los criterios que debe regir en estas sin hacer referencia a un campo en particular (Moia, 2016). A esta norma se le conoce como el ISO 14644-1 la cual define la clasificación de calidad del aire. Es indispensable mantener cierta calidad del aire en un laboratorio de reproducción asistida, manteniéndolo libre de partículas y de especies orgánicas volátiles. Las condiciones de bioseguridad y protocolos establecidos deben ser cumplidos con la finalidad de alcanzar mejores tasas de éxito.

El personal que trabaja en estas salas deberá mantener también altos estándares de limpieza e higiene personal, no deben entrar jamás al laboratorio de embriología en circunstancias que representen un peligro de introducir contaminantes microbiológicos (por ejemplo con un resfriado o una herida abierta) (Moia, 2016; De los Santos, 2013).

### **3.2. Calidad del Aire**

El aire que circula en un laboratorio de Reproducción Asistida debe estar siempre libre de partículas y de especies orgánicas volátiles, por lo cual el acceso al laboratorio de embriología debe estar limitado y seguir un estricto protocolo de ingreso, en el cual el personal que ingresa al laboratorio debe mantener altos estándares de limpieza e higiene (D. Mortimer, 2018).

Idealmente, el aire que circula dentro del laboratorio de embriología debe ser condicionado a 18- 22°C a 35-55% de humedad con un mínimo de recambio de 15 veces por hora. Este deberá ser filtrado a través de un filtro de carbón activado, el cual elimina sustancias orgánicas de alto peso molecular. Los filtros de permanganato de potasio también son ideales para oxidar sustancias de bajo peso molecular, por lo que se recomienda que sean siempre utilizados en combinación con carbón activado. Se recomienda utilizar filtros de HEPA para la remoción de partículas menores a 0,3 micras (Elder, K, 2015).

Se recomienda que también que todo trabajo que se lleve a cabo en RA se realice en la cabina de flujo laminar (De los Santos, 2013) para asegurar la seguridad de los gametos y embriones aunque los niveles de aire externos no sean los mejores (Elder K, 2015)

### **3.3. Normas de trabajo en el laboratorio**

Antes de ingresar al laboratorio, se debe realizar un lavado de manos, con el objetivo de limpiar la piel de manos y antebrazos de gérmenes, grasa y otra materia orgánica; previo a algún procedimiento y/o manipulación de material estéril. Esto nos permite eliminar parte de la flora microbiana transitoria y, a su vez disminuir la flora microbiana normal de la piel. Con el propósito de prevenir la diseminación de ciertos microorganismos desde la mano portadora, hacia las zonas estériles del laboratorio, evitando la contaminación cruzada durante la manipulación del material biológico durante las TRA. Por otro lado, el uso de los guantes es muy importante debido a que:

- Proteger al personal de la transmisión de la contaminación cruzada, así como de patógenos contenidos en los líquidos orgánicos o tejidos a manipular.
- Refuerza la barrera de control frente a la contaminación por vía mano-portadora.

Finalmente, el uso de la mascarilla es indispensable, ya que nos ayuda a evitar la transmisión de microorganismos que se propagan a través del aire y, especialmente la salida de microorganismos que se encuentren en la boca o vías respiratorias del personal que puedan contaminar los medios o el área de trabajo. Los cubre zapatos y el gorro quirúrgico evitan la propagación de los microorganismos y bacterias hacia el laboratorio, manteniendo un área inocua para evitar contaminación cruzada.

En el caso de la Indumentaria a utilizar, esta debe estar esterilizada. En el caso de los utensilios de metal, estos deben ser esterilizados bajo calor, a 100°C por 1 hora. Los insumos plásticos o gazas, deben estar sellados, manteniendo la esterilidad de los mismos para los procedimientos.

Para la limpieza del personal previo al ingreso al laboratorio de Embriología antes de cada procedimiento se utilizara:

1. Solución de clorhexidina al 4% u otra que carezca de aditivos perfumados.
2. Papel toalla o compresas estériles.
3. Guantes de látex, estériles y descartables.
4. Mascarilla desechable.
5. Gorro quirúrgico descartable
6. Botas de trabajo descartables

Antes de realizar algún procedimiento de RA, el personal encargado de dicho procedimiento deberá vestirse de acuerdo a las normas establecidas para el área en el que se va a trabajar.

Antes de ingresar al área restringida donde se realizara el lavado de manos, se debe colocar la mascarilla cubriendo nariz y boca. Apretar a la altura de la nariz para ajustarla al rostro, asegurando una correcta protección. Posteriormente colocarse el gorro quirúrgico cubriendo todo el cabello y las orejas. Finalmente, colocarse los cubre zapatos para poder ingresar al área restringida, donde se realizara el lavado de manos para pasar al laboratorio.

Previo al lavado quirúrgico de manos, se debe abrir el paquete de guantes (o un ayudante puede entregarle los guantes).

Lavarse las manos y antebrazos con agua y Clorhexidina al 4%, se debe frotar hasta obtener bastante espuma, y realizar el lavado de manos para sala quirúrgica, poniendo

especial énfasis en los espacios interdigitales, palmas y especialmente uñas. Este lavado de manos debe prolongarse por al menos un minuto. Posteriormente, Enjuagar con agua de caño, desde las manos hacia los codos. Al cerrar la llave del agua no se debe tocar la perilla, lo recomendable es utilizar los codos o un papel toalla estéril, así como secarse primero las manos y luego los antebrazos con toallas individuales estériles.

Luego se debe colocar los guantes estériles, tomando ambos guantes por la cara interna, o la que estará en contacto directo con la piel y colocarlos sin hacer contacto con la parte externa.

Consideraciones Generales:

- a) El personal deben usar las uñas cortas, limpias y sin esmalte.
- b) No se deben usar joyas dentro del laboratorio.
- c) Las mangas deben estar siempre sobre el codo.
- d) La mascarilla no debe tocarse, ni descolocarse o sacarse mientras se esté dentro del laboratorio de embriología.
- e) El uso incorrecto de la mascarilla aumenta las probabilidades de transmisión de microorganismos.
- f) El uso de guantes no reemplaza el lavado de manos.
- g) Si los guantes una vez puestos contienen polvos talco, estos deben ser enjuagados con agua y suero fisiológico, luego se debe proceder a secarlos con una gaza o compresa estéril.

### **3.4. Rutina diaria dentro del laboratorio: Control de mantenimiento de equipos**

Para optimizar los resultados en el laboratorio, se debe realizar las comprobaciones previo a cada procedimiento, por esta razón es indispensable realizar las siguientes actividades de rutina diaria:

- Se debe revisar las historias clínicas y del laboratorio para identificar procedimientos previos, de los casos que se planean realizar, para definir la conducta a seguir, así como los demás datos a necesitar durante el procedimiento.
- Revisar y registrar todo lote y fecha de caducidad de todos los materiales, reactivos y medios de cultivo empleados durante los procedimientos.
- Verificar la identidad y los datos completos de los pacientes antes de toda aspiración folicular, de la colecta del semen, de la inseminación y de la transferencia de embriones. En todas las etapas se debe de contar con un testigo cuyo nombre debe registrarse en la ficha de procedimientos.
- Identificar cada elemento a utilizar en un procedimiento (Frascos de colecta, tubos y placas, entre otros) relacionado con el procedimiento a seguir.

- Chequear y registrar la temperatura ambiental y % de humedad dentro del laboratorio antes de cada procedimiento.
- Chequear y registrar los niveles de CO<sub>2</sub>, Temperaturas, % de humedad de las incubadoras, externa e internamente.
- Chequear y registrar las temperaturas de las platinas termorreguladoras y de la refrigeradora.
- Chequear y registrar dos veces por semana el nivel de nitrógeno líquido de los tanques de almacenamiento, así como del tanque de respaldo para emergencias.
- Se debe registrar la limpieza del laboratorio, de las mesas de trabajo y la cámara de flujo laminar.

### **3.5. Limpieza del laboratorio**

El aseo del laboratorio debe ser constante, especialmente antes de algún procedimiento. El objetivo de ello es disminuir al máximo la carga de contaminante (virus, bacterias, hongos, partículas en suspensión, fuentes orgánicas, entre otros) del ambiente en el laboratorio. Razón por la cual este debe ser efectuado antes, durante y después de cada procedimiento.

Al no poder utilizar cualquier desinfectante, debido a las partículas volátiles que estos desprenden, se puede preparar una solución desinfectante de cloro al 0.5% (0.5ml de cloro por cada 995ml de agua). Las soluciones comerciales de limpieza que se pueden utilizar en un laboratorio de Reproducción Asistida son la Solución 7X (para limpieza de superficies pre y post procedimiento) o la Solución de remoción de residuos orgánicos Detergem (se utiliza posterior al procedimiento si ha habido derramamiento de fluidos orgánicos).

#### **1. Antes de un procedimiento de RA**

Previo a algún procedimiento a realizar, se debe efectuarse un aseo completo del laboratorio de embriología, el cual consiste en una limpieza a fondo tanto de pisos, paredes y techo del laboratorio, esto lo realiza un personal de limpieza calificado para dicha función. Esta limpieza se puede realizar con la solución de cloro al 5%. De contar con ciclos seguidos de FIV o ICSI, se debe tener un día a la semana específico para realizar dicha limpieza.

Para la limpieza de superficies utilizadas en los procedimientos, se mojará un paño limpio con solución 7X y se aplicará esta por todas las superficies utilizadas en los procedimientos para remover contaminantes y/o materia orgánica. De no contar con la solución 7X, se puede mojar un paño con solución de cloro al 0.5 % y utilizarlo para desinfectar todas las superficies. Ventilar el laboratorio hasta que se sequen las superficies. Este procedimiento lo puede realizar el biólogo encargado o personal calificado.

#### **2. Durante un procedimiento de RA**

Para la limpieza de material orgánico u otro material dentro de la cámara de flujo no se debe utilizar bajo ninguna circunstancia ninguna solución detergente, cloro o desinfectantes durante los procedimientos de fecundación in vitro ya que estos pueden ser altamente nocivos para los gametos y embriones. De necesitar limpiar la superficie,

utilizar Agua Oxigenada o Agua Destilada para limpiar la superficie hasta terminar el procedimiento.

### **3. Después de un procedimiento de RA**

Una vez finalizado el procedimiento completo, ya sea ciclo FIV o ICSI, se debe repetir el aseo completo del laboratorio. De tener ciclos seguidos durante la semana, se debe escoger un horario de limpieza para que el personal se encargue de la limpieza de las áreas comunes como pisos y paredes, siendo la limpieza de las superficies utilizadas de la completa responsabilidad de los biólogos.

#### **3.6. Control de la incubadora**

Se debe anotar los controles y mantenimientos en las fichas de control respectivos, los cuales deben ser checados y registrados todos los días, en especial antes de cada procedimiento a realizar.

Control de Temperatura, Nitrógeno y CO<sub>2</sub>:

- Se debe colocar dentro de la incubadora un termómetro de alcohol certificado para tener una medición interna para corroborar con la del panel de la incubadora.
- Diariamente, antes de abrir la puerta interna de la incubadora se debe registrar la lectura de la temperatura del panel digital y la temperatura del termómetro de alcohol al interior.
- Si se observan diferencias, proceder a calibrar la temperatura de la incubadora tomando como referencia la temperatura del termómetro interior.
- Diariamente, antes de abrir la incubadora, se debe registrar la lectura de la concentración de CO<sub>2</sub> y Nitrógeno en el panel digital del equipo y la concentración registrada con un analizador de gases.
- De observarse diferencias, proceder a calibrar la incubadora tomando como referencia la concentración registrada con el analizador de gases.
- Anotar la humedad relativa del hidrómetro.

#### **3.7. Control de los equipos**

Para mantener los parámetros de calidad e inocuidad dentro del laboratorio de embriología, los equipos deben pasar por un control de calidad y mantenimiento preventivo, el cual se debe revisar periódicamente, y en algunos casos diariamente. Estos equipos también deberán tener un mantenimiento preventivo, mediante el cual se verificara que el funcionamiento de cada equipo sea el correcto. El tiempo de mantenimiento dependerá de lo requerimientos de cada equipo.

En el siguiente cuadro se exponen los equipos más importantes dentro de un laboratorio de embriología, los controles de calidad a los que deben ser sometidos, la frecuencia con la que se deben revisar y cada cuanto realizar el mantenimiento preventivo.

<b>Equipo</b>	<b>Parámetros de Control de Calidad</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Mantenimiento Preventivo</b>
<i>Incubadoras</i>	T, CO2, Humedad, pH metro	Diaria	Anual
<i>Cabina de Flujo Laminar</i>	N° de partículas Cultivos	Trimestral	Bianual
<i>Platinas de calentamiento</i>	T°	Diaria	-
<i>Microscopio</i>	Calidad de Imagen	Diaria	Anual
<i>Tanque de Nitrógeno</i>	Niveles de presión y concentración	Diaria	-
<i>Tanque de CO2</i>	Niveles de presión y concentración	Diaria	-
<i>Criotanques</i>	Nivel de N2	Diaria	-
<i>Sistema de Aire Acondicionado</i>	T° ambiental	Diaria	Limpieza de Filtros Anual
<i>pH metro</i>	Precisión	Cada uso	Anual
<i>Monitor de CO2</i>	Precisión	Cada uso	Fyrite debe cambiarse luego de 300 mediciones
<i>Filtro de Partículas</i>	-	Anual	Anual
<i>Presiones de gases</i>	Precisión	Diario	Anual
<i>Micropipetas</i>	Precisión	Cada uso	Anual
<i>Aspirador</i>	Presión	Cada uso	Anual

Tabla 11. Mantenimiento de los equipos dentro de un laboratorio de Reproducción asistida

### 3.8. Control de los criotankes

Los criotankes son los encargados de criopreservar los gametos que se utilizaran en los procedimientos de reproducción asistida. Estos almacenan ovocitos, semen y embriones, los cuales, según recomendación de los diferentes entes reguladores, deben ser almacenados en tanques diferentes para evitar contaminación cruzada.

Los niveles de nitrógeno dentro de estos deben ser controlados diariamente, o dejando uno o dos días de por medio si se realizan pocos procedimientos, para asegurar un volumen de nitrógeno adecuado y una correcta criopreservación de las muestras (Roque, 2015).

Los tanques deben ser fáciles de maniobrar, por lo que se recomienda colocarles ruedas para su fácil manipulación. Así mismo, la manipulación del nitrógeno líquido debe hacerse con protección siempre para evitar quemaduras.

También se recomienda siempre contar con un criotank de traslado de muestras para poder realizar el traslado de muestras, embriones u óvulos entre centros de fertilidad sin que estas corran riesgo alguno (Roque, 2015).

### 3.9. Mantenimiento del laboratorio de Embriología

El personal o biólogos que trabajan en el laboratorio de embriología deben encargarse del registro de mantenimiento de los equipos que se utilizan en el laboratorio.

<i>N</i>	Área	Procedimiento y Materiales	Frecuencia	Operario
<i>1</i>	<b>Incubadora</b>	Se debe desensamblar la incubadora, retirando las Rejas. Se deben lavar con agua corriente y solución 7X Cleaning Solution, y enjuagar con agua destilada. Secar con gasas estériles. Si es necesario lavar las paredes internas de la incubadora con alcohol 70% y dejar que se volatilice por lo menos 24 horas.	Este procedimiento se debe realizar mensualmente si el uso es frecuente sino previo cada ciclo de procedimientos.	Embriólogo de apoyo
<i>2</i>	<b>Cámara de Flujo Laminar</b>	La limpieza se realiza con agua destilada y gasa estéril. Si hay derrame de fluidos durante la aspiración folicular remplazar el agua destilada por agua oxigenada.	Debe realizarse antes y después de realizar cualquier procedimiento.	Embriólogo que realiza o finaliza un procedimiento.
<i>3</i>	<b>Mesa de Trabajo</b>	La limpieza se realiza con agua destilada y gasa estéril. Si hay derrame de fluidos durante la aspiración folicular remplazar el agua destilada por agua oxigenada.	Solución desinfectante de cloro al 0.5 % (5 ml de cloro por cada 995 ml de agua) o una solución comercial como 7X Cleaning Solution.	Embriólogo que realiza o finaliza un procedimiento.
<i>4</i>	<b>Pisos</b>	La limpieza es diaria y debe realizarse antes y después de cada procedimiento.	Solución desinfectante de cloro al 0.5 % (5 ml de cloro por cada 995 ml de agua) o una solución comercial como 7X Cleaning Solution.	Personal de limpieza capacitado.
<i>5</i>	<b>Equipos Ópticos y Accesorios</b>	Debe realizarse limpieza diaria antes de cada uso, en caso de mantenimiento este debe realizarse cada seis meses.	Los equipos con papel filtro si es necesario hacer uso de alcohol isopropílico siempre y cuando no se lleve a cabo un procedimiento dentro de las 24 horas, o se tenga cultivando embriones.	Embriólogo y persona autorizada

Tabla 12. Tabla de Mantenimiento del Laboratorio para el Personal

### **III. MANEJO DE GAMETOS DONADOS EN BANCO**

#### **1. SINCRONIZACIÓN DONANTE - RECEPTORA**

Según leyes internacionales, una donante de óvulos deber ser una mujer sana que comprenda una edad entre 18 y 35 años de edad (SEF, 2016; ASRM 2013, 2012). Sin embargo, diversos estudios aseguran que las donantes de óvulos no deben tener más de 30 años (ASRM, SEF, CFAS)

Por otro lado, no hay un límite normativo o legal en cuanto a la edad máxima que deberían tener las receptoras de gametos donados, sin embargo, se recomienda que estas no pasen los 50 años de edad (ESHRE, 2020). No obstante, esto queda a criterio y ética de cada centro de reproducción, dado que hay estudios que demuestran que la edad de la receptora, cuando se realiza transferencia de embriones generados por ovodonación, no afecta significativamente ni a la tasa de implantación ni a la tasa de éxito reproductivo (Lutjen PJ. Et al, 1984) (Barratt CLR., 1993) (SEF, 2010).

El primer match o sincronización que se debe hacer entre una donante y receptora es con base en la similitud fenotípica e inmunológica, siempre teniendo en cuenta las pruebas genética para evitar enfermedades recesivas (Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine, 2008). Es recomendable que, previo TRA, el perfil genético de la donante se contraste con el perfil de la pareja de la receptora, para evitar enfermedades recesivas dado que serán los gametos de ambos los que generaran los futuros embriones.

##### **1.1. Matching genético**

El matching genético o test de compatibilidad genética es el estudio de las incompatibilidades genéticas de una pareja, en este caso entre donante y receptores, que ayuda a saber si las parejas son portadoras, y en caso de serlo, si existe el riesgo de transmisión a la progenie; de alguna enfermedad recesiva o ligada al cromosoma X.

El primer descarte a realizar entre una donante y una receptora deberá ser este descarte genético para evitar que la progenie pueda heredar enfermedades recesivas o ligadas al cromosoma X. Por esta razón, se debe realizar exámenes de portadores o Carrier Map a la donante junto con la pareja de la receptora para descartarlas. Sin embargo, cabe resaltar que siempre hay un margen de error al momento de realizar este descarte en el cual también se debe valorar un posible error humano (Sackett L, 2001).

##### **1.2. Perfil de la receptora**

La receptora de óvulos donados podría ser toda aquella mujer que desee tener un hijo y no ha podido tenerlo con sus propios gametos. Toda receptora debe pasar por un chequeo ginecológico completo y por todas las revisiones que necesita cualquier mujer que pasa por TRA, tales como exámenes hormonales, serológicos, ginecológicos completos, cultivos de secreción vaginal, entre otros.

Cabe resaltar que receptora debe pasar por exámenes ginecológicos completos que acrediten que no tienen algún problema ginecológico que limite o no permita la implantación del embrión a transferir.

De no reunir los requisitos clínicos adecuados para una correcta transferencia embrionaria, lo ideal sería postergar la transferencia embrionaria o buscar la mejor alternativa para las pacientes.

## **2. TIPOS DE DONACIÓN**

### **2.1. Donación de óvulos**

La donación de ovocitos puede darse de diferentes formas, mediante la utilización de gametos congelados en banco, los cuales cuentan con todos los estudios pertinentes y exhaustivos según políticas del Centro, donante en fresco de tener la posibilidad de utilizar este tipo de donantes, dado a un mejor matching fenotípico y genético con una donante próxima a aspiración folicular o utilizando el modo ROPA, el cual es el método utilizado por parejas de mujeres homosexuales que quieren procrear.

#### **2.1.1. Donación sincrónica**

Consiste en sincronizar el ciclo de la receptora con el de la donante mediante tratamiento hormonal de estrógenos y progesterona para que al momento de la aspiración y TRA, los embriones obtenidos mediante donante de óvulos puedan ser transferidos en fresco a la receptora, la cual debe tener el endometrio receptivo para el día de la transferencia. Se ha demostrado que no existe diferencia alguna para comenzar la preparación endometrial cualquier día del ciclo

#### **2.1.2. Donación asincrónica**

En este caso se puede programar la aspiración de la donante independientemente de tu ciclo menstrual. Estos óvulos se fecundarán mediante TRA y serán vitrificados hasta el momento en el que la receptora decida utilizarlos o esta tenga el endometrio preparado para la transferencia embrionaria. En este caso, una vez que la receptora tiene la menstruación debe iniciar con el tratamiento hormonal hasta tener el endometrio preparado.

#### **2.1.3. Modo ROPA**

Este tratamiento usualmente es elegido por muchas parejas de mujeres homosexuales. Consiste en la recepción de ovocitos de su pareja, por lo que, al utilizar esta técnica una de ellas actúa como donante de óvulos para su pareja, la cual será la madre gestante. La ventaja de este tratamiento es que ambas madres pueden estar involucradas en la gestación, siendo ambas madres biológicas del futuro bebé.

### **2.2. Donante compartida**

El número de ovocitos que se le otorgará a cada receptora es un tema manejado enteramente por el Centro. Sin embargo, depende mucho de las probabilidades que las receptoras tengan para embarazarse y de la edad de las mismas. Se debe tener en cuenta siempre el conseguir el mejor resultado posible para las receptoras, con las menores

complicaciones posibles y tratando de mantener los bajos costos administrativos. Los factores a tomar en cuenta que priman para esta decisión son el número de ovocitos obtenidos por la donante y la cantidad de blastocistos que necesita o desea conseguir la receptora.

El Centro debe definir el número de ovocitos a utilizar en cada receptora, basándose en la historia clínica de las mismas y en la decisión de la pareja de tener o no un back up de embriones en banco para futuros intentos de no funcionar con la primera transferencia.

### **2.3. Donante de esperma**

#### **2.3.1. En fresco**

Esta técnica usualmente se utiliza por receptoras que conocen a su donador de esperma. Para realizar este procedimiento es necesario que ambos pacientes firmen consentimientos detallados sobre el procedimiento a realizar, especialmente el donante de esperma, el cual debe firmar un consentimiento en el cual se deje en claro de que él renuncia voluntariamente a los derechos de paternidad sobre los niños nacidos mediante TRA utilizando la muestra dejada en el Centro. Para este tipo de donación, es responsabilidad de la receptora la realización del screening genético, sin embargo el Centro debe hacer hincapié de la importancia de dichos exámenes.

#### **2.3.2. Banco de semen**

Las muestras de banco de semen son usualmente utilizadas por mujeres sin pareja que desean ser madre y aún no han encontrado a la persona ideal para hacerlo, por parejas que tienen índice de factor masculino severo, con muestras espermáticas con Oligoastenoteratozoospermia o en pacientes Azoospermicos, Criptozoospermicos o Aspermicos.

El número de crioviales a utilizar dependerá de la cantidad de ovocitos a inyectar (ICSI) y de la calidad espermática previa a la vitrificación de la muestra. Es importante destacar la posibilidad de reservar muestras de esperma del mismo donante por si en el futuro se desea tener más bebés y que estos sean consanguíneos.

### **2.4. Donante de embriones**

Las parejas que mediante TRA lograron el embarazo deseado y ya no desean concebir otro embarazo, sin embargo aún cuentan con embriones vitrificados en banco por los cuales están pagando semestralmente por la vitrificación, tienen la opción de donarlos al banco de embriones del Centro de fertilidad en donde se realizaron los tratamientos o a proyectos de investigación que los necesiten.

### **2.5. Donante no anónimo**

En esta técnica, la donante y la receptora se conocen, por lo que es indispensable el correcto manejo de consentimientos y contratos, resaltando el acto de la donante a ceder sus óvulos a la receptora renunciando a ellos para pasar a ser de la propiedad de la receptora. Esta técnica suele ser utilizada entre familiares o amigas cercanas.

### 3. PREPARACIÓN ENDOMETRIAL

La preparación endometrial tiene un papel importante en las TRA con donación de gametos, especialmente con ovodonación. Consiste en la administración de hormonas, tales como estrógenos y progesterona, para poder facilitar la implantación embrionaria y finalmente el embarazo.

La preparación endometrial se debe llevar a cabo utilizando un protocolo de sustitución hormonal con dosis elevadas de estrógenos hasta el momento de la transferencia embrionaria. Previo a ello, la paciente debe estar tomando pastillas anticonceptivos por al menos un ciclo.

El tratamiento endometrial debe ser seguido con ecografías desde los primeros días de tratamiento hasta lograr un grosor endometrial de 8 mm. El esquema habitualmente utilizado para la preparación endometrial de receptoras incluye dosis progresivas de estrógenos (estradiol 2 mg el día 1-8; estradiol 4 mg el día 9-12; estradiol 6 mg el día 13 en adelante); este tratamiento es ideal debido a que genera un periodo de ventana implantación endometrial de aproximadamente 30 días, permitiendo sincronizar una adecuada transferencia embrionaria (endometrio  $\geq 6.5$  mm). El uso de la progesterona está condicionado al tamaño del endometrio, comenzando el tratamiento con esta cuando el endometrio mide 6mm (Younis, 1996) (ASRM, 2014).

**Preparación Endometrial para Receptoras de Ovocitos Donados**

<i>Día del mes</i>	1-21	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	....
<i>Tamaño del endometrio (mm)</i>										6 mm					8 mm
<i>Estrógenos</i>		X	X	X	X	X	X	X	X	XX	XX	XX	XX	XXX	XXX
<i>Progesterona</i>	X									X	X	X	X	X	X
<i>Chequeo Ecográfico</i>															
<i>Transferencia Embrionaria</i>															X
<i>Aspiración folicular de la Donante</i>	X														

Tabla 13. Preparación endometrial para receptoras de gametos donados con embrión congelado.

**Preparación Endometrial para Receptoras de Ovocitos Donados**

<i>Día del mes</i>	1-21	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	....
<i>Tamaño del endometrio (mm)</i>										6 mm					8 mm
<i>Estrógenos</i>		X	X	X	X	X	X	X	X	XX	XX	XX	XX	XXX	XXX
<i>Progesterona</i>	X									X	X	X	X	X	X
<i>Chequeo Ecográfico</i>															
<i>Transferencia Embrionaria</i>															X
<i>Aspiración folicular de la Donante</i>										X					

Tabla 14. Preparación endometrial para receptoras de gametos donados con transferencia en fresco.

#### **4. ASESORIA DE FERTILIDAD**

Esta asesoría debe ser dado por un personal calificado, ya sea el médico, un biólogo o un psicólogo el encargado de brinda la información acertada sobre las tasas de embarazo a esperar por cada ciclo. En esta se debe recalcar en todo momento que, debido a la edad de la receptora, probablemente se necesitarían más intentos de transferencia embrionaria para lograr una correcta implantación. Esto debido a que una buena receptora es aquella que tiene un buen endometrio, el cual debe ser trilaminar, de no ser así, el embrión a transferir no tiene un buen pronóstico de implantación.

Los datos a tener en cuenta para mencionar a las receptoras son:

- Tasas de embarazo utilizando gametos donados
- A partir de cuantos óvulos se puede obtener un embrión viable
- Cuál es la tasa de embarazo que tiene una pareja mayor de 35 años.
- Importancia de la biopsia embrionaria para la descartar aneuploidías, dimorfismos, mosaicos, triploidías, monosomías, entre otros.

Cabe señalar que es muy importante el que la receptora tenga acompañamiento psicológico durante todo el procedimiento, especialmente para minimizar los problemas de ansiedad o depresión asociados a los ciclos fallidos recurrentes en receptoras con uno o más problemas asociados a infertilidad que hayan optado por realizar TRA con uno o ambos gametos donados (Díaz Pérez MA, 2015). Si bien es cierto que el acompañamiento psicológico durante los ciclos de RA no es un requerimiento esencial para muchos centros, se ha demostrado que los centros que cuentan con este servicio para las receptoras logran mantener a raya la ansiedad, logrando mejores tasas de implantación e incluso una mayor continuidad en los tratamientos que los centros que no cuentan con ellos (Viñas Burgos SA, 2017).

#### **5. TRANSFERENCIA EMBRIONARIA**

La transferencia embrionaria se realiza cuando la preparación endometrial se ha completado satisfactoriamente, esta puede realizarse al útero o a las trompas. Para el día de la transferencia se debe indicar a la paciente que debe venir al centro sin hacer uso de ningún perfume o aromatizador y sin maquillaje (Red LARA).

Para realizar la transferencia se utilizara:

1. Placas Petri.
2. Medio de cultivo de transferencia.
3. Pipetas volumétricas estériles de 5 ml.
4. Pipetas Pasteur estériles, las cuales se deben estirar en la llama de un mechero y deben tener un diámetro de punta de aproximadamente  $\pm 200$  mm.
5. Jeringas de 1 ml.
6. Catéter de transferencia.
7. Para transferencia a las trompas (TET): catéter de transferencia laparoscópica

Antes de realizar el procedimiento de transferencia embrionaria se realizara lo siguiente:

1. Se debe preparar con al menos 1 hora de anticipación la placa de cultivo que contiene un pocillo con medio de cultivo de transferencia.

2. Revisar el registro interno del laboratorio para saber la posición en banco del embrión o embriones a transferir
3. Realizar la desvitrificación del embrión o los embriones a transferir utilizando el protocolo mencionado previamente para desvitrificación de óvulos.
4. De ser transferencia en fresco, mover los embriones seleccionados y clasificados, según el criterio utilizado y dependiendo del día a ser transferidos, desde la placa de crecimiento a la de transferencia, lavando los embriones en el compartimento marginal y luego transferirlos al compartimento central.
5. La placa de transferencia debe estar guardada en la incubadora hasta el momento de la transferencia embrionaria.

Para el procedimiento de transferencia embrionaria se realiza lo siguiente:

1. Se debe colocar una jeringa de 1 ml en el catéter de transferencia.
2. Se ubicara la punta del catéter en el compartimento central de la cápsula de transferencia para aspirar  $\pm 10$  ul de medio de cultivo.
3. Una vez aspirado el MC, levantar la punta del catéter para aspirar algo de aire.
4. Hundir nuevamente la punta del catéter en el medio y aspirar un poco de medio para posteriormente aspirar los embriones en no más de 0.5 ml de MC.
5. Levantar nuevamente la punta del catéter y aspirar un poco de aire. Finalmente aspirara  $\pm 10$  ul de MC.

Con este método, los embriones quedarán en una especie de "sándwich" de medios de cultivo, los cuales lo protegerán y asegurarán su correcta transferencia al útero o a las trompas.



Figura 19. Catéter de transferencia con los embriones para ser colocados en la cavidad uterina Método del Sándwich

Al finalizar la transferencia, esta debe ser clasificada por el Biólogo encargado del proceso. Se debe tener un registro de la transferencia de embriones para saber si la transferencia fue:

1. Fácil: Se clasifica como una transferencia fácil cuando no ha habido dificultad al introducir el catéter de transferencia por el cuello uterino. También es importante que al momento de extraer el catéter del cuello uterino, este no deba de tener sangre.
2. Difícil: Se considera una transferencia difícil si ha habido dificultad o demora al momento de introducir el catéter en el cuello uterino, si ha habido la necesidad de cambiar de catéter o si al momento de retirar el catéter del cuello uterino este cuenta con sangre en la punta. Especialmente si ha quedado algún embrión retenido en el catéter y se requiere de una nueva transferencia.

## DISCUSIÓN

El desarrollo de las TRA en cualquier país debe ir de la mano con normativas y leyes específicas a cada país, las cuales ayuden a mantener un lineamiento específico y ciertos estándares a cumplir para obtener los mejores resultados posibles. Los centros de reproducción asistida de los países más avanzados cuentan con normas y leyes específicas que les seguir un lineamiento y control específicos, sin embargo, en el caso de Latinoamérica, la mayoría de países aún no cuentan con estas, lo que hace difícil una correcta empleabilidad de las TRA en algunos de los centros de reproducción asistida. Al no contar con normas específicas que encaminen estas técnicas, estos centros utilizan como guía las distintas normativas internacionales disponibles para uso público, sin embargo al no estar obligados a cumplir con todos los controles, normativas o lineamientos planteadas en dichos manuales y guías, algunos centros solo cumple con un número limitado de estos lineamientos, en su mayoría no restrictivos, para poder realizar las TRA. Esto genera problemas de trazabilidad, disminución de los controles de calidad en los procedimientos, bajas tasas de éxito reproductivo, entre otros; debido a la falta de controles específicos entre los distintos centros de reproducción de un mismo país.

Las TRA se practican ampliamente en la mayoría de países de Latinoamérica, tales como Argentina, México, Brasil y Colombia, sin embargo, en muchos casos el desarrollo de la regulación jurídica específica para cada país es escasa o casi inexistente (Vidal J, 2019). Siendo Argentina y Uruguay los únicos países de latino américa que tiene leyes específicas para TRA y donación de gametos, ambas leyes aprobadas en el año 2013 (Cano F, 2018). Por otro lado, Costa Rica es el único país en el mundo en el que está prohibida la práctica de las TRA, específicamente la fertilización *in vitro*, basando esta decisión en que estas prácticas son violatorias al derecho a la vida humana, debido a que a través de las TRA son desechados o utilizados para estudios científicos numerosos embriones humanos (Suárez A, 2015).

En el Perú, no hay una ley o regulación clara sobre los casos de reproducción asistida, siendo la única ley que menciona vagamente la reproducción asistida la Ley N°26842, la cual no es precisamente una Ley específica para reproducción asistida, sino una ley de salud pública en la que mencionan un único artículo sobre reproducción asistida. Este artículo es el artículo N° 7, el cual menciona que "...Toda persona tiene derecho a recurrir al tratamiento de su infertilidad, así como a procrear mediante el uso de técnicas de reproducción asistida, siempre que la condición de madre genética y de madre gestante recaiga sobre la misma persona. Para la aplicación de técnicas de reproducción asistida, se requiere del consentimiento previo y por escrito de los padres biológicos...". Esta ley tiene una vigencia de más de 20 Años, por lo que se consideraría que estaría bastante desactualizada para la coyuntura actual. Sin embargo, en el 2018 se presentaron 3 proyectos de ley (PL N° 3313/2018, PL N° 3404/2018 y PL N° 3542/2018), los cuales pasaron por revisión del Congreso y resultaron en un Dictamen favorable (N° 06-2020-2021/CSP-CR con fecha de 21 de mayo de 2020) esperando por su aprobación a ley para el año 2021. Esto ayudaría a una mejor regulación para las TRA en el Perú, así como a una mayor inclusión de estas técnicas en diferentes niveles socioeconómicos de nuestro país.

La Red LARA o Red Latinoamericana de Reproducción asistida, es el ente regulador latinoamericano encargada de acreditar centros de reproducción a nivel de Latinoamérica. Los centros de reproducción asistida latinoamericanos que están acreditados por esta son los únicos que, de cierta forma, cumplen con un control de calidad más riguroso dentro de sus instalaciones y especialmente al utilizar las TRA, siendo estos centros los únicos en Latinoamérica que cumplen en gran medida con las normativas internacionales que certifican una trazabilidad y estandarización en los resultados obtenidos, por lo que la Red LARA obtienen de estos centros anualmente los datos obtenidos por los mismos para generar sus registros anuales y poder realizar investigaciones a gran escala. Permitiendo comparar resultados entre los diferentes centros que la conforman, dado la estandarización en los procesos y controles realizados en los mismos. En el Perú, a la fecha, solo 11 centros de reproducción están acreditados por la Red LARA, lo que les da a estos centros un mayor reconocimiento, no solo a nivel nacional, sino también internacional, ayudando a generar mayores investigaciones que tenga un control de calidad y trazabilidad que aseguran la correcta recolección de datos y un resultado obtenido bajo regulaciones estandarizadas.

País	Centro
Peru	CEFERGIN
Peru	CEFRA - Centro de Fertilidad y Reproducción Asistida
Peru	CFGS - Centro de Fertilidad y Ginecología del Sur
Peru	Clínica Miraflores - Ginecología y Fertilidad
Peru	CLINIFER
Peru	Grupo PRANOR del Instituto de Ginecología y Reproducción
Peru	Inmater - Clínica de Fertilidad y Reproducción Asistida
Peru	Instituto de Medicina Reproductiva Clínica Ricardo Palma
Peru	NACER - Centro de Reproducción Humana de Lima
Peru	Pranor San Isidro - Clínica Concebir

Tabla 15. Centros de Reproducción Asistida Peruanos Acreditados por la Red LARA

Por otro lado, el uso de donantes de gametos y embriones es cada vez más frecuente en las TRA, dado que la tasa de embarazo con estos es mayor que con gametos propios cuando se pasa los 35 años de edad, aumentando las probabilidades de embarazar en aproximadamente un 20% a cualquier edad y disminuyendo monosomías, trisomías, aneuploidías, deleciones y mosaicismo en los embriones a generar; por lo que es necesario realizar ciertos controles para poder garantizar que estos gametos sean de la mejor calidad posible. Según el Registro Nacional de actividad del SEF 2018, la tasa de embarazo entre las mujeres que utilizan gametos propios vs las que utilizan gametos donados es significativamente diferente. Si se comparan las tasas de embarazo de mujeres mayores de 35 años a más que utilizan sus propios gametos, las cuales tienen una tasa de éxito de entre 32 -19 %; vs las mujeres mayores de 35 años que utilizan gametos donados para las TRA, las cuales tienen una tasa de éxito de entre 46 - 40% se puede observar que es significativamente mayor la tasa de embarazos con gametos donados, los cuales suelen mantener casi la misma tasa de éxito pese a la edad de la receptora. Hay estudios que prueban que la edad de la receptora no juega un rol

importante en la disminución de la tasa de éxito (ASRM, SEF, ESHRE), sin embargo, se ha llegado a un consenso sobre la edad máxima que se puede admitir a una receptora, siendo esta de 50 años; esto debido a las complicaciones que podría acarrear un embarazo a partir de cierta edad, mas no por disminución de la tasa de éxito reproductivo.

## **I. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE DONANTES**

Es importante tomar en cuenta diversos factores para la aceptación de donantes en el programa de gametos, entre ellos el IMC, el estilo de vida de los donantes, la edad, la prueba psicológica, entre otros. Sin embargo, la edad de los donantes es uno de los requisitos más importantes a tomar en cuenta, especialmente si los donantes pasan los 30 años de edad, ya que esta suele influir mucho en el número de ovocitos obtenidos en la aspiración folicular, si hablamos de una donante femenina; así como en el número de embriones formados al finalizar un ciclo, en el caso de ambos gameto. Por esta razón, es indispensable realizar una correcta selección donantes, haciendo hincapié en la edad de los mismos pese a que según normas internacionales, los donantes pueden ser mujeres de entre 18 y 35 años de edad y varones de entre 18 y 40 años (SEF, ESHRE,ASRM); sin embargo, distintos estudios y la practica misma demuestran que es preferible limitar la edad de los donantes a un máximo de 30 años para obtener mejores resultados en los ciclos de TRA en los que se utilizan gametos donados (ASEBIR, SAMER, IVI).

Hay que tener en cuenta también la edad de la receptora, la cual, según consenso internacional, no debería de pasar de los 50 años de edad para evitar complicaciones al llevar el embarazo y priorizar el bienestar físico y psicológico de la paciente en todo momento.

Dentro de estas receptoras tendremos a dos grandes grupos, las mujeres sin función ovárica y las mujeres con función ovárica. Dentro de las receptoras sin función ovárica tenemos a las pacientes menopaúsicas, pacientes con fallo ovárico primario y fallo ovárico precoz o prematuro. Dentro de las receptoras con función ovárica tenemos a las pacientes portadoras de enfermedades genéticas, pacientes con varios ciclos de fallos repetitivos de FIV o ICSI, pacientes con abortos espontáneos repetitivos o pacientes de edad elevada.

Los gametos masculinos en su mayoría son solicitados por mujeres solteras que desean ser madres y no han encontrado a la persona correcta para lograrlo o parejas de mujeres homosexuales que buscan procrear para formar una familia. Este tipo de muestra puede ser utilizada tanto en Técnicas de baja como alta complejidad dependiendo del caso.

Por otro lado, los gametos femeninos solían ser utilizados en su mayoría por fallo ovárico precoz (FOP), sin embargo, con el pasar de los años se ha ido ampliando el abanico de las beneficiadas con esta técnica, siendo aplicada también en pacientes baja respondedoras, mujeres con abortos repetitivos, mujeres con edad avanzada, entre otros. Recientemente la ovodonación ha sido mejor aceptada por las pacientes que, tras haberse sometido a varios ciclos de FIV sin éxito, ven en ella una última oportunidad para lograr un embarazo.

Cada caso es distinto del anterior, por lo que cada uno debe ser tratado de forma independiente y acorde a lo que cada paciente necesita para lograr el embarazo deseado.

Hay que tener en cuenta que parte del perfil de la receptora es la entrevista psicológica, la cual nos dará una idea de cómo esta puede afrontar el embarazo y la posible espera, para así poder apoyarla tanto física como psicológicamente. La receptora no debe tener problemas psicológicos ni psiquiátricos al momento de comenzar un ciclo, de contar con ellos hay que tratar correctamente estos problemas antes de iniciar cualquier tratamiento.

En el caso de la entrevista inicial que se debe realizar a todo donante de Gametos, es de suma importancia, ya que esta debe ser el primer punto de descarte para los donantes, al ser durante esta entrevista en donde se indaga un poco sobre la vida personal del posible donante de gametos. Si bien es cierto, en la mayoría de Centros esta entrevista es realizada por enfermeras u obstetras encargadas de la recepción de pacientes para el Centro de Fertilidad, la AMMR recomienda que sean los biólogos o embriólogos encargados de las TRA los encargados de realizar esta entrevista personalizada, para evitar posibles sesgos de información y disminuir los posibles errores de interpretación de información entre los profesionales de la salud (AMMR, 2014). Los donantes que pasen satisfactoriamente los parámetros de selección previamente mencionados, deberán realizarse un examen físico, genético y psicológico (SEF, 2016).

Hay diferentes tipos de Test psicológicos a tomar en cuenta para los donantes, Si bien el Grupo de Psicología de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF)(50) propone la toma del Test de Personalidad Neo Revisado de Costa y McCrae, en cualquiera de sus dos versiones (Neo PI-R o Neo FFI) e Inventario Multiaxial Clínico de Millon-II (MCMI-II) (Fernández-Ballesteros, 2005; Levenson, 2006; Millon 2001/2006; Vallejo, 2005) y la ASRM (Sociedad Americana de Medicina Reproductiva) propone el Test MMPI (Inventario Multifásico de Personalidad de Minnesota), lo ideal sería utilizar una herramienta de evaluación acorde a la población local, la cual debe ser escogida por el especialista en psicología y/o psiquiatría que lleve la entrevista.

También se debe realizar un Test y un seguimiento psicológico a las receptoras de gametos donados, especialmente a aquellas que acudan por óvulos donados, tanto si son mujeres solteras, pareja de mujeres homosexuales o parejas heterosexuales. Esto ayudara a las receptoras a afrontar todo el proceso, especialmente teniendo en cuenta que aunque la tasa de éxito de la ovodonación son más altas, llegando hasta al 60 o 70% de éxito en pacientes de entre 35 y 40 años (Hilario R, 2007), la probabilidad de éxito de toda técnica de reproducción humana, ya sea asistida o natural, siempre es menor conforme mayor es la edad de la mujer; por lo que los porcentajes de éxito de la ovodonación en personas mayores de 40 años es cada vez menor (Hilario R, 2007). Sin embargo, también hay estudios que comprueban que las tasas de éxito de la ovodonación no disminuyen con la edad de las pacientes (ASRM, 2014) (Pantos K, 1997) (Abdalla HI, 1997). Cabe mencionar que hay un consenso entre centros de reproducción para permitir receptoras de máximo 50 años de edad, debido a las posibles complicaciones que un embarazo podrían ocasionar (ASRM, SEF, ESHRE).

Por esta razón, es recomendable que toda receptora de gametos donados sea acompañada de tratamiento psicológico de apoyo durante todo el procedimiento, para ayudarla a afrontar dicho procedimiento.

En el caso de los exámenes infecciosos, lo que se intenta es evitar muestras contaminadas con ETSs, tanto para evitar la contaminación cruzada, la transmisión las receptoras o al personal que manipula las muestras, evitar disminuciones de tasa de embarazo o implantación en las receptoras, entre otros.

La gonorrea y clamidia deben evitarse en los donantes debido a que estas generan infecciones genitales a veces resistentes a los antibióticos, y con el tiempo pueden causar infertilidad. No debe ser aceptado ningún donante con estas ETS hasta después de que se compruebe el correcto tratamiento y remisión de la enfermedad.

En el caso del Virus de la Hepatitis C o VHC, el riesgo de transmisión de la infección al realizar las TRA deriva principalmente de la presencia de este en el semen (Liou TC, 1992; McKee TA, 1996; Duffaut M, 1997). Se ha demostrado la eficacia de las técnicas de fraccionamiento seminal utilizadas habitualmente en reproducción asistida para reducir o eliminar la carga viral presente en el semen, y con ella, el riesgo de infección a los profesionales de la salud (SEF).

Se ha demostrado también la posibilidad de contagio en profesionales de la salud que estén expuestos a restos hematológicos, productos orgánicos o material quirúrgico sin esterilizar, entre otros (Howard RJ, 1997). Por esta razón, se deben tratar todas las muestras procesadas como si estuvieran contaminadas desde el principio, utilizando las recomendaciones destinadas a evitar la transmisión de alguna infección (MMWR, 1998; Schvarcz, 1995).

Se ha evidenciado que es factible la transmisión de este virus en el curso de un procedimiento de fecundación in vitro (Lesourd F, 2000). La probabilidad de contaminarse durante una aspiración folicular puede aminorarse al disponer de los controles e instalaciones adecuadas para los procedimientos a realizar. Sin embargo, la proximidad física con fuentes de contaminación es un factor de riesgo reconocido (Natov SN, 1996; Pereira BJ, 1997).

La contaminación a causa de la manipulación de gametos y embriones en el laboratorio de RA si ha sido demostrada en el caso del virus de la hepatitis B o VHB, especialmente al utilizar técnicas que adicionan suero materno a los medios de cultivo (Quint WG, 1994), como por ejemplo al realizar la capacitación seminal para inseminación artificial. El virus se podría transmitir por contacto percutáneo o a través de las mucosas por fluidos orgánicos contaminados, tanto por vía sexual como parenteral. La presencia de VHB en fluidos orgánicos es una gran fuente de contaminación al manipular dichos residuos orgánicos, generando incluso contaminación cruzada sobre los pacientes durante algunas TRA, tales como la aspiración folicular o la transferencia embrionaria (Pawlotsky JM, 1997).

La transmisión de infecciones al realizar TRA ha sido demostrada en el curso de estos tratamientos (Berry WR, 1987; Mascola L, 1986). Existen evidencias de la transmisión de infecciones durante la aplicación de técnicas de fecundación in vitro y criopreservación de gametos y embriones, cuyo riesgo se vincula al procesamiento seminal y de otros materiales biológicos (Steyaert SR, 2000).

Otro de los riesgos presentes es la posibilidad de transmisión accidental ya sea durante el procesamiento de gametos y embriones en el laboratorio, a los gametos o embriones

de otros pacientes no infectados que compartan criotankes con las muestras infectadas o incluso al personal encargado de los mismos.

Si bien es cierto que no hay antecedentes conocidos de transmisión de VIH durante la aplicación de tratamientos de reproducción asistida (Bell DM., 1997), es necesario resaltar la necesidad de desarrollar toda actividad o tratamiento que implique el manejo de productos biológicos potencialmente infectados en condiciones de seguridad biológica y con todas las precauciones del caso.

No se ha encontrado evidencias de contaminación cruzada con VIH en procedimientos de laboratorio de reproducción asistida, especialmente con las medidas de precaución utilizadas; sin embargo, en muchos programas de reproducción asistida y algunas normativas oficiales se ha establecido ciertas limitaciones a pacientes con VIH, en base a los casos ya conocidos de contaminación cruzada por virus de Hepatitis B y C y teniendo en cuenta las posibles consecuencias de una posible contaminación por VIH (SEF, ASEBIR).

Las pruebas genéticas realizadas a los donantes de gametos son indispensables, en ellas se debe descartar que los donantes no padezcan de enfermedades genéticas o hereditarias importantes que puedan poner en riesgo el embarazo o la vida del futuro bebé. Cada Centro de fertilidad deberá decidir qué enfermedades incluir en estos estudios de screening genético ampliado de portadores, teniendo en cuenta las enfermedades hereditarias graves más frecuentes en dicha población.

Junto con el Cariotipo, Los estudios genéticos aplicados a los donantes y receptores de gametos son de suma importancia, ya que tienen como principal objetivo el disminuir el riesgo de enfermedades hereditarias graves en la descendencia. Este riesgo surge debido a que todos somos portadores de variaciones en las secuencias de ADN, algunas de ellas pueden ser patogénicas, no afectando quizá al portador pero sí a la descendencia debido a la herencia autosómica recesiva o ligada al cromosoma X (SEF, 2019).

La información genética de los donantes, la cual se obtiene mediante un screening genético ampliado de portadores, será notificada a los donantes, siempre que estos no renuncien a dichos resultados antes de realizarse el estudio. Esta información podrá ser ofrecida por los profesionales del Centro cuando el paciente o donante así lo requiera (SAMER, 2013).

Si bien el riesgo de que ambos miembros de una pareja receptora sean portadores de una variante patogénica situada en el mismo gen es mínima, aún existe la posibilidad de que eso suceda, especialmente si se va a utilizar gametos donados para TRA (SEF, 2019). Por esta razón, los pacientes deberán ser informados de los riesgos y las estrategias o pruebas genéticas para mitigarlos, siendo ellos los que tomaran la decisión de realizarse o no las pruebas pertinentes. Sin embargo, es importante destacar que el riesgo a enfermedades hereditarias no es superior por utilizar gametos de un donante.

Si bien se sabe que hoy en día no es posible evitar completamente la transmisión de enfermedades hereditarias graves a la descendencia generados por el uso de gametos donados. Sin embargo, debido al screening genético básico, al matching genético y al control del número de nacidos vivos por donante, este riesgo se está reduciendo significativamente.

## **II. PRUEBAS REQUERIDAS Y CRITERIOS DE PRESERVACIÓN DE GAMETOS EN BANCO**

Es indispensable realizar descartes para la admisión de gametos para un programa de donación, si bien es cierto que en el caso de los óvulos, es imposible saber la calidad que poseen hasta el momento de la aspiración folicular; en el caso de los gametos masculinos, al ser de fácil obtención, son más fáciles de examinar. En caso de encontrarse con deficiencias, en la mayoría de casos también son fáciles de subsanar.

Por esta razón son indispensables realizar las pruebas complementarias en las muestras seminales previa preservación en banco, porque gracias a ellas se puede identificar el o los problemas específicos en cada una, y determinar cuáles de estos pueden subsanarse con tratamientos o cuales de plano serian eliminados del programa de donación de gametos debido en su mayoría a la acumulación de dos o más resultados desfavorables.

Si bien hay estudios que mencionan que al utilizar muestras espermáticas con Fragmentación de ADN fuera de lo aceptable o elevados para TRA, los resultados obtenidos serian de baja calidad, asociando este tipo de muestras a una disminución de las tasas de fertilización o implantación luego de realizada una FIV o ICSI, así como a una deficiencia en la calidad embrionaria, bloqueo embrionario y abortos (Agarwall A, 2020, Fernández, J., 2005). También hay estudios que no encuentran una asociación entre el índice de fragmentación del ADN elevado y menores tasas de fertilización, blastulación embrionaria o euploidia. (Gutierrez-Vela O, 2020). Sin embargo, cabe resaltar que debido a que estas muestras serán utilizadas para donación de gametos y criopreservadas en banco, se intentara conseguir siempre las mejores, muestras por lo que de obtener alguna muestra con Fragmentación de ADN elevado, esta será descartada del programa o se recomendará al donante algún suplemento para contrarrestar esto, y dicho donante no podrá donar semen hasta que la fragmentación se encuentre dentro de los valores normales.

En el caso del estrés oxidativo, este se genera a consecuencia de un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno o ROS y los mecanismos de defensa antioxidante que posee la célula. Estos reducen la movilidad espermática, vitalidad, potencial de fecundación y genera daño al ADN espermático, infertilidad, entre otros; debido a la gran cantidad de ácidos grasos insaturados que contiene en su membrana celular, los espermatozoides son altamente susceptibles a ROS. Sin embargo, pequeñas cantidades de ROS son necesarias para mantener la función normal de los espermatozoides sin afectar el sistema antioxidante del mismo (Cordova-Izquierdo A, 2017). Hay que tener en cuenta que la cantidad de ROS en la muestra aumenta exponencialmente con el tiempo en el que la muestra está a la intemperie, por lo que hay que tener cierto cuidado a la hora de medir el estrés oxidativo con el tiempo en que nos demoramos en leerlo. Cualquier examen o prueba complementaria que se realice en una muestra de semen debe ser realizada dentro de la primera hora de obtenida la muestra, de no ser así, el índice de oxidación aumenta y con ello aumenta el ROS, lo cual podría darnos una falsa lectura al momento de realizar este descarte.

La prueba de peroxidasa es importante para descartar la presencia de polimorfos nucleares en el eyaculado, los cuales suelen estar relacionados también con el aumento de ROS en la muestra (Iommiello VM et al., 2015). La presencia de Polimorfos nucleares también puede estar relacionado con ETS's o infecciones bacterianas o víricas, por esta razón de tener una muestra con peroxidasa positiva, este debe de ir de la mano con el cultivo de semen y orina para poder descartar la presencia de bacterias ya sea por infección urinaria o una ETS (Moubasher A et al., 2018). Cabe resaltar que de tener un donante con peroxidasa positivo, el proceso de donación queda pausado hasta que se erradique dicha infección y la prueba de peroxidasa salga negativa.

Es recomendable también el realizar una doble verificación de las muestras al realizar estas pruebas complementarias, siendo esto algo muy importantes a tener en cuenta. Al realizar la doble verificación se evita catalogar erróneamente alguna muestra, evitando muestras alteradas que pasen como normales. La doble verificación es un control de calidad indispensable en la mayoría de exámenes y pruebas previo a cualquier procedimiento, no únicamente en las pruebas complementarias, sino en los distintos exámenes a tomar a los donantes durante el ciclo de donación. Se debería también realizar una doble verificación de los exámenes infecciosos a los donantes, uno en las primeras visitas al centro y el segundo, días previos a la obtención de la muestra a vitrificar, para así tener la certeza de que la muestra a conservar está completamente libre de ETS (ASRM, 2013).

En el caso del factor femenino, al ser más difícil el predecir la calidad de los gametos obtenidos vía aspiración folicular, la única regulación previa que se puede realizar para asegurar una buena calidad en los gametos a obtener sería mediante los requisitos a cumplir de la donante, entre los más importantes se contaría a la edad límite, el IMC, los niveles hormonales y los exámenes genéticos.

Por otro lado, también se podría mejorar o aumentar el número de folículos a aspirar o COCs a obtener mediante el uso de una correcta estimulación ovárica. Hay diferentes metodologías a utilizar para la estimulación ovárica, sin embargo, todas utilizan el mismo lineamiento. Primero el FSH, luego las antagonistas y finalmente el HCG. Lo que varía entre cada centro son las marcas de hormonas a utilizar o el tipo de antagonista a elegir. La concentración hormonal entre pacientes y donantes también debe ser distinta, se recomienda la individualización de estos tratamientos, esto debido a la variación de edades que hay entre una donante, una paciente y una receptora; así como a los resultados de las pruebas hormonales obtenidas para cada paciente o donante. La edad de la donante juega un rol muy importante, debido a que al ser más jóvenes, estas tienen una respuesta hormonal normal, lo que se puede manejar con una estimulación ovárica suave y hasta flexible, en comparación con las pacientes de más de 35 años, las cuales necesitan de una mayor concentración hormonal para la estimulación ovárica. Una correcta estimulación ovárica genera un mayor número de ovocitos y una mejor calidad en los mismos. Al obtener un mayor número de ovocitos, aumentan las probabilidades de obtener una mayor tasa de embriones al final de los ciclos de FIV o ICSI a realizar.

Al realizar las TRA hay que tener en cuenta que no siempre se van a poder pelar lo COCs para poder saber la calidad de los mismos. Si la técnica que utilizaremos será un

FIV convencional, los COCs obtenidos mediante aspiración folicular no podrán ser denudados, por lo que no se sabrá el porcentaje de ovocitos maduros hasta dentro de las 24 horas posteriores de haberse realizado el FIV. De revisar la placa de FIV pasado este tiempo y encontrar ovocitos maduros que no han sido fecundados, hay que tener en cuenta de que se puede realizar un ICSI de emergencia una vez denudados estos. Se debe separar los ovocitos a los que se les realizó el ICSI de emergencia para la revisión en separado de ambas placas.

En el caso de realizar un ICSI, se debe denudar los COCs antes de realizar la fecundación, por lo que se podrá tener una idea de la cantidad de ovocitos maduros con MII, y los inmaduros con MI o VG. Debido a la denudación de los ovocitos, también se podrá hacer una descripción de la calidad observada en los mismos, y según lo que se observe poder tomar una decisión sobre si utilizar todos los ovocitos denudados o si descartaremos los ovocito con alteraciones demasiasdas marcadas para generar un embrión viable.

Si bien aproximadamente solo un 70% de los ovocitos obtenidos serán ovocitos maduros MII, también se encuentra algún MI y VG en placa. Solo se deben descartar los VG, ya que para realizar la ICSI hay que esperar aproximadamente 2 horas entre la denudación del ovocito y la inseminación, por lo que durante este tiempo alguno de los ovocito MI puede llegar a madurar en la placa. Debido a esto hay que tener un especial cuidado al momento de realizar el ICSI, revisando los ovocitos MI para observar si han madurado o no. De haberlo hecho estos podrán ser utilizados para el ICSI, de no haber madurado serán descartados junto con las VG.

Los controles de calidad durante todo el proceso son indispensables, estos deben ser tomados en cuenta durante los procedimientos para asegurar una correcta estandarización y trazabilidad en los resultados obtenidos de las TRA realizadas en el Centro. Desde la parte administrativa hasta el personal especializado en las diferentes áreas debe cumplir con los parámetros y estándares que la clínica considere necesarios para estandarizar resultados. Dichos controles deben ser regulados periódicamente para asegurar la correcta funcionalidad de los mismos.

En el caso del laboratorio, este debe cumplir con controles de calidad más rigurosos, siendo en estos en donde se van a manipular a los gametos utilizados para las TRA. Estos laboratorios deben cumplir con normativas internacionales como la ISO 17025 o la ISO 9001 para asegurar la inocuidad en el área de trabajo, los protocolos a cumplir por el personal capacitado, los cuales están regulados por las distintas asociaciones internacionales de reproducción asistida; los controles necesarios a realizar en las distintas maquinas a utilizar, de T°, pH, [ ], entre otros; así como los controles de calidad a los medios y/o materiales necesarios para cada procedimiento. Si bien es cierto que cada laboratorio utiliza medios de diferentes marcas y composiciones, cada marca cuenta con un control de calidad específico, así como el tiempo de vida útil de cada medio a utilizar. Los mejores resultados se obtienen al cumplir con todos los controles y tiempos indicados en dichos medios. Cabe resaltar que se deben medir también en los medios a utilizar la osmolaridad, pH, temperatura, entre otros. Cada parámetro debe mantenerse en el rango ya especificado para cada Centro o laboratorio, dependiendo del ambiente, la altura, la presión atmosférica, la temperatura, entre otros factores

ambientales en los que se encuentre dicho laboratorio. Estas medidas pueden variar entre laboratorios, dependiendo de los msnm en el que se encuentre cada laboratorio.

Hay que tener en cuenta que los métodos de vitrificación y criopreservación de gametos varían dependiendo de cada Centro y de los diferentes medios a utilizar para cada procedimiento. Cada medio a utilizar tiene una metodología y controles de calidad diferentes, por lo que dependerá de los medios que utilizemos el realizar un correcto control de calidad y un correcto manejo de gametos durante las TRA. Cabe resaltar que, al realizar la vitrificación de ovocitos o la criopreservación de espermatozoides, hay un porcentaje de pérdida o disminución de la calidad visible en los gametos al finalizar este proceso debido al estrés al que estos son sometidos al ingresar al nitrógeno líquido (-196°C). Sin embargo, algunos estudios demuestran que las tasas de embarazo con embriones frescos o criopreservados son similares (Domingues TS, et al 2017), especialmente hoy en día que se utilizan los crioprotectores y que debido a los estudios y a las mejores en el campo de la reproducción asistida, cada día son mejores. Por esta razón, las TRA con donantes de gametos son una opción más que viable para parejas que debido a distintos problemas fisiológicos, no consiguen formar o llevarlo a término un embarazo.

### **III. MANEJO DE GAMETOS DONADOS EN BANCO**

Se debe tener en cuenta que hoy en día, la donación de gametos suele ser utilizada por pacientes con baja respuesta ovárica, insuficiencia ovárica, pérdida del embarazo recurrente por alteraciones genéticas, mala respuesta a la fecundación inVitro, entre otros factores predominantes. Sin embargo, también se ha abierto la posibilidad de ser utilizada por mujeres solteras que desean ser madres, pareja de mujeres homosexuales que desean ser madres, entre otros. Si bien es cierto, en el Perú, la falta de marco legal dificulta la correcta regulación en las TRA, esto también deja dicho vacío legal para que cada centro de reproducción decida qué casos puede o no aceptar y que acciones legales tomara para evitar problemas en un futuro tanto para el centro como para los pacientes.

Si bien es cierto que las parejas al momento de estar planeando un embarazo se encuentran aparentemente sanos, es posible, y resulta habitual, que uno o ambos sean portadores de alguna condición genética transmisible a la progenie y no sean conscientes del riesgo que esto pueda generar a la misma, especialmente si tanto ellos como los donantes son portadores de un mismo alelo recesivo, como por ejemplo la fibrosis quística (Edward et al, 2015).

Por esta razón, en el momento en que una receptora encuentra a un o una donante, con las características fenotípicas similares a las suyas o a la de su pareja, esta deberá realizar una prueba de Matching genético, la cual debe ser contrastada con la prueba previamente realizada a la donante. Al realizarse esta prueba estaría disminuyendo considerablemente la posibilidad de transmitir enfermedades autosómicas recesivas a la descendencia. Cabe mencionar que ningún examen genético es 100% excluyente, por lo que la posibilidad de transmitir una enfermedad recesiva a la progenie se reduce considerablemente con un examen genético, esta posibilidad no desaparece.

Cabe mencionar que es la clínica, junto con los receptores, los que eligen el estudio genético o Carrier map a utilizar en los pacientes y donantes, ya sea el screening básico

o completo. Por lo que únicamente se conocerá el resultado a las enfermedades incluidas en el screening elegido, teniendo en cuenta que se desconocerá si el donante es portador de alguna variante patogénica no incluida en estos screenings genéticos. Los receptores también deben estar informados sobre este margen de error, entendiendo que los donantes pueden ser portadores de algunas patologías en genes no estudiados (SEF, 2019).

Para poder realizar la TRA necesaria para la obtención de embriones con los gametos donados, ya sea FIV, ICSI o una inseminación artificial, se debe preparar el endometrio de la receptora para que esta pueda recibir al futuro embrión. Hay diversos tipos de tratamiento endometrial para receptoras, cada uno avalado por diferentes estudios, sin embargo no hay evidencia de que uno sea mejor que otro.

Se han reportado excelentes tasas de embarazo con el régimen natural de estimulación endometrial, el cual trata de asemejar lo máximo posible el ciclo menstrual normal (Check 1993, Remohi, 1997). Sin embargo, hay estudios que también demuestran que el tratamiento endometrial mediante la administración de estrógenos en cualquier día del ciclo no genera mayores inconvenientes, ya que la flexibilidad de la preparación hormonal endometrial en la receptora permite la sincronización en paralelo adecuada y óptimos resultados reproductivos, así como permitiéndonos realizar la transferencia embrionaria en fresco en Día 5 o Día 3 de ser necesario (ASRM, 2014).

Para realizar las TRA con ovocitos donados, es recomendable utilizar un promedio de entre 8 y 10 ovocitos por receptora dependiendo tanto de la disponibilidad de ovocitos de cada donante como de las probabilidades de embarazo que tengan las receptoras. Cabe resaltar que también hay que tener en cuenta el número de embriones a congelar post transferencia embrionaria e implantación de ovocitos, dado que de resultar en un embarazo exitoso en la primera o segunda transferencia, los embriones no utilizados por la pareja generan pérdida de espacio disponible en los criotanks y un futuro problema tanto para la clínica como para los pacientes debido tanto al pago que debe realizar la pareja para mantener dichos embriones en banco como, en el caso de que la pareja ya no desee más hijos, al no poder desechar esos embriones, esta pareja deberá elegir entre donarlos al centro de reproducción o donarlos a la ciencia; lo cual suele ser una decisión difícil, que muchas veces se evita y el centro de fertilidad debe cargar con dichas muestras debido a que ellos tampoco pueden destruir material biológico ni utilizarlo sin el debido permiso de los pacientes.

Un tema importante a explicar a la receptora previo al procedimiento es que el hecho de que tener 10 ovocitos para TRA, ya sean propios o donados, no implica que vaya a tener 10 embriones para transferir al llegar al final del ciclo, esto tampoco implica que los embriones que lleguen al final del ciclo sean todos viables y de buena calidad. Por lo que es indispensable explicar esto a la pareja paso por paso.

Comenzando por la evaluación en día 1, explicándole que durante esta evaluación se evaluará cuantos óvulos han fecundado y cuantos no. Posteriormente se debe explicar que no todos los embriones van a desarrollar con el pasar de los días, algunos embriones van a evolucionar de manera idónea, sin embargo, algunos otros van a detenerse o dejaran de dividirse. Normalmente se detienen los embriones que tienen algún defecto genético o no son viables.



Figura 20. Formación de embriones de D0 a D5 y Cuadro explicativo para receptoras de gametos sobre las posibilidades reales de embriones viables por cada aspiración folicular.

Se debe tener en cuenta que la fecundación In Vitro nunca va a superar a la reproducción natural, y que de forma natural una mujer ovula solo 1 ovulo por mes, por lo que si una mujer tenía 10 folículos al inicio de la menstruación y se quedó con uno solo, probablemente los 9 folículos restantes presentaban ovocitos con alguna anomalía genética presente, seleccionando el cuerpo humano únicamente al mejor óvulo, al más viable. Este es el único ovulado, siendo este el único que podría generar un embarazo.

En las técnicas de reproducción asistida, mediante Estimulación Ovárica Controlada (EOC) evitamos que el cuerpo humano descarte los ovocitos extras que generamos mensualmente, normalmente un gran número de ellos cuentan con algún defecto genético y no suelen ser viables para generar un embarazo. Sin embargo, el porcentaje de éxito siempre es mayor que de forma natural.

En el caso de haber alguna falla o complicación obstétrica en las receptoras posterior a la transferencia embrionaria, estas suelen estar asociadas en su mayoría a la edad de la receptora junto con los problemas endometriales que esto pueda acarrear, esta información debe ser también compartida con la receptora de embriones.

## CONCLUSIONES

Por lo expuesto, considero que es indispensable un lineamiento dentro de un Centro de Reproducción asistida que permita poder descartar donantes potencialmente no aptos y hasta considerados de riesgo previo a iniciar algún ciclo con gametos donados; utilizando los lineamientos y normativas internacionales, así como pruebas de descarte indispensables para corroborar la calidad de los gametos a ser utilizados en las TRA. Con esto también se podría lograr un mejor manejo de los distintos gametos dentro del Centro de Reproducción.

La selección de donantes debe seguir un orden lógico, iniciando con una entrevista inicial, la cual debe ser indispensable para definir el estado psicosocial de la donante, siguiendo con la historia clínica, donde se anotan los rasgos fenotípicos de la posible donante y los exámenes de sangre e infecciosos indispensables para ser admitida en el programa de donación. Posteriormente se debe realizar los exámenes genéticos, de Cariotipo y Carrier Map para evitar enfermedades recesivas. De pasar todos los exámenes en este orden, los donantes proseguirán a pasar los exámenes correspondientes para evaluación de los gametos. En el caso de los hombres un espermatograma con cultivo seminal y en el caso de las mujeres un examen ginecológico y cultivo de secreción vaginal.

Es de suma importancia realizar las evaluaciones psicológicas no solamente a los donantes para poder descartar enfermedades psicológicas que puedan pasar a la progenie o que puedan generar algún inconveniente tanto con el donante como durante el tratamiento para la obtención de los gametos. El acompañamiento psicológico de las receptoras durante este proceso también ayuda a mejorar los resultados obtenidos, disminuyendo el estrés de la espera y ayudando a sobrellevar todo el tiempo que puede llegar a demorar el obtener un embarazo saludable.

Hay que tener en cuenta que el factor masculino juega un rol importante durante los procedimientos de RA, ya que la tasa de éxito de estas técnicas depende en un 50% de la calidad de los gametos masculinos y 50% de los gametos femeninos. Por esta razón y al ser los gametos masculinos los únicos que pueden mejorarse previo a los procedimientos de RA a realizar, se debería llevar un mejor control en estos, siendo indispensable la realización de pruebas complementarias que certifiquen la normalidad en la muestra. Estas pruebas complementarias también deberían utilizarse de rutina para los pacientes que requieran utilizar TRA de alta y baja complejidad para asegurar la calidad de las muestras a utilizar y evitar utilizar muestras con alta fragmentación espermática o con alto índice de ROS, los cuales son perjudiciales al momento de utilizar la muestra en FIV o ICSI.

En la ovodonación es imposible conocer la calidad de los ovocitos previa aspiración folicular, sin embargo las tasas de éxito reproductivo al utilizar óvulos donados suelen ser mayores que al utilizar óvulos propios en pacientes mayores de 35 años, teniendo una tasa de éxito mayor del 50-60%, siendo uno de los procedimientos de Reproducción Asistida con mayor éxito de embarazo. Y, al estar este éxito reproductivo fundamentalmente ligado con la calidad de los ovocitos y los futuros embriones, así como con la correcta preparación endometrial y transferencia embrionaria en las

receptoras; se debe llevar un correcto control de calidad durante todo este proceso para así poder obtener los mejores resultados en cada ciclo a iniciar.

Los controles de calidad y la limpieza dentro del laboratorio, antes durante y después de los procedimientos son de suma importancia al iniciar cualquier ciclo de RA, se debe llevar un control riguroso de los mismo y anotar cuando estos han sido realizados y cuando se deberán realizar de nuevo para mantener una correcta comunicación y trazabilidad entre los que trabajan dentro del laboratorio. Cabe resaltar que es importante la correcta medición de los distintos parámetros necesarios es cada medio y equipo a utilizar para cada ciclo. Entre las mediciones más importantes a tener en cuenta están la temperatura, el pH y la osmolaridad en los medios; así como la temperatura a la que deben estar las placas y las superficies donde reposaran los gametos durante los procedimientos.

Para la preservación de los gametos en banco, estos deben de cumplir con todos los controles de calidad y las pruebas realizadas en el laboratorio, de no cumplir con ello, no se podrá preservar la muestra o los ovocitos en banco dado que ocuparían un espacio vital e indispensable en el criotank, en el caso de los espermatozoides deben cumplir con los parámetros de la OMS 2010, y en el caso de los ovocitos, se preservaran únicamente ovocitos maduros MII y salvo ciertas excepciones MI para pasar por una futura observación y/o descarte dos horas después de su desvitrificación. De no haber madurado a MII, estos serán descartados. Los ovocitos que cuenten con alteraciones morfológicas severas serán descartados dado que se consideran ovocitos inviables.

Una correcta sincronización Donante-Receptora no consiste únicamente es realizar un Matching Fenotípico, sino también el realizar un correcto Matching Genético, es cual si bien es cierto va a depender de cada Centro de Reproducción, se recomienda realizar el mapeo genético extendido para descartar un mayor número de enfermedades recesivas y poder disminuir el porcentaje de error al realizar el matching entre ambos mapeos genéticos (Donante vs Receptor(a)).

Se debe tener presente la importancia del mapeo genético tanto antes de realizar un ciclo para evitar enfermedades recesivas, como al momento de realizar una transferencia embrionaria, dado que no todos los embriones obtenidos mediante TRA serán viables para formar un embarazo a término. Al realizar un PGT-A se transferirían únicamente los embriones sanos que tiene una mayor posibilidad de formar un embarazo sano y a término.

## **RECOMENDACIONES**

En mis años de experiencia en este campo, he logrado observar un ligero aumento en las tasas de embriones por ciclo al tener un mayor cuidado en los controles de calidad dentro del laboratorio antes, durante y después de cada procedimiento, en el mantenimiento, control o temperatura de cada equipo, en el pH, temperatura u osmolaridad de los medios, en el tipo de placas a utilizar para los procedimientos, en el tiempo útil de cada medio, entre otros. Esto es indispensable para asegurar la trazabilidad y estandarización de los resultados; así como para mejorar las tasas de

éxito. Sin embargo considero que llevando a cabo un mayor control de calidad no solo dentro del laboratorio, sino también desde el momento de la selección de donantes se podría lograr un aumento significativo en las tasas de éxito reproductivo en los ciclos de pacientes mayores de 40 años que opten por utilizar gametos donados para aumentar sus posibilidades de embarazo.

Considero también que es indispensable el realizar una correcta clasificación de gametos y un correcto manejo de los mismos durante las TRA, lo cual solo podría realizarse por personal experto y capacitado en el tema, podría lograr evitar los sesgos al realizar FIV o ICSI en ovocitos que tengan una calidad por debajo de lo aceptable y que debido a las anomalías presentes en el mismo se sepa de antemano que no llegaría a formar un embrión. De utilizarse todos los ovocitos en placa realizando una clasificación previa, se puede tener una idea más certera de cuantos embriones esperar al finalizar el ciclo. La correcta sincronización Donante - Receptora logra disminuir potenciales riesgos de enfermedades recesivas y asegurar cierta semejanza entre la receptora y la progenie, por lo que también es de suma importancia. Los exámenes genéticos deben estar siempre incluidos en cada ciclo a comenzar para evitar problemas genéticos en la progenie.

Al realizar los lineamientos de selección expuestos en este trabajo en el Centro de Reproducción Asistida se podría lograr un aumento en las tasas de óvulos obtenidos en cada aspiración folicular realizada a una donante, aumentaría la calidad de las muestras seminales criopreservadas y la tasa de recuperación por muestra descongelada. Finalmente, mejoraría también las tasas de implantación y éxito reproductivo por ciclo en las pacientes receptoras de gametos donados que opten por este procedimiento.

Finalmente considero que, es importante contar siempre con un personal capacitado y con amplio conocimiento de los procedimientos o tratamientos a realizar, el cual se mantenga en capacitación y aprendizaje constante para estar siempre a la vanguardia de los nuevos conocimientos, técnicas o implementaciones que se estén realizando en el ámbito de la Reproducción asistida y poder implementarlo en el Centro laboral de ser posible. Es importante también que el Centro incentive a su personal a realizar estas capacitaciones constantes apoyándolos en las inscripciones a congresos o cursos que se consideren importantes para el crecimiento profesional del personal y del mismo centro, ya que todo lo aprendido se podrá utilizar principalmente para mejora para el centro de trabajo. Especialmente si con ello se logran mejorar las tasas de éxito reproductivo o uno los procesos dentro de las TRA. Sería de poca utilidad el utilizar un control de calidad riguroso al momento de la selección de donantes o durante las TRA si, al momento de realizar las distintas pruebas técnicas o procedimientos, el personal encargado no está capacitado o familiarizado con las mismas o no cuente con los conocimientos necesarios para realizarlas. La inversión más importante de cualquier empresa debería ser el capacitar constantemente a su personal, ya que gracias a ello se podrán realizar mejoras en los procedimientos, necesarios para que el Centro siga creciendo.

## BIBLIOGRAFIA

1. Zegers-Hochschild F, Adamson G, De Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E, Van der Poel S. Versión revisada y preparada por el Comité Internacional de Monitoreo de la Tecnología de Reproducción Asistida y la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2010. [Recuperado el 5 de Agosto 2011. Disponible en: [http://www.who.int/reproductivehealth/publications/infertility/art\\_terminology\\_es.pdf](http://www.who.int/reproductivehealth/publications/infertility/art_terminology_es.pdf) ].
2. Harper JC, Kennett D, Reisel D. The end of donor anonymity: how genetic testing is likely to drive anonymous gamete donation out of business. *Hum Reprod.* 2016; 31:1135-1140.
3. Nahata L, Stanley N, Quinn G. Gamete donation: current practices, public opinion, and unanswered questions. *Fertility Steril.* 2017;107:1298-1299
4. Valencia I, Chérrez N, Mata F. Inseminación Artificial terapéutica homóloga con semen congelado. En: *Memorias II Congreso Latinoamericano de Esterilidad y Fertilidad (FLASEF)*. Bogotá 1987:163-171
5. Barratt CLR. Donor recruitment, selection and screening. In: *Donor Insemination*. Ed: Barratt CLR, Coole ID. Cambridge University Press, Cambridge 1993;2:3-11
6. Lutjen PJ, Trounson A, Leeton JF et al. The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovary failure. *Nature* 1984; 307:174.
7. Registro de la Sociedad Española de Fertilidad, 2010
8. Kemelmajer-De-Carlucci AR. Origen biológico, derecho a conocer. En: Romeo-Casabona CM, director. *Enciclopedia de bioderecho y bioética*. España: Cátedra Interuniversitaria/Fundación BBVA/Diputación foral de Bizkaia/Universidad de Deusto/Universidad del País Vasco; 2018.
9. Álvarez Días, JA, *Historia contemporánea: Las Técnicas de Reproducción Asistida*, *Ginecol Obstet Mex*, 2007; 75:293-302
10. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after implantation of a human embryo. *Lancet.* 1978; 2(8085):366.
11. Costoya AA, Schmitt YJM, Rey GM, Dujoune CS, Sánchez UMI, Godan MA y col. Embarazo obtenido por fertilización “in vitro” y transferencia embrionaria. *Re v Chil Obstet Ginecol.*1984; 49(3):206-16.
12. Red Latino Americana de Reproducción Asistida. Registro Latinoamericano de Reproducción Asistida. Santiago de Chile: Red LARA; 2008. Disponibles en: <http://www.redlara.com>
13. Zeger s-Hochschild F. Attitudes towards reproduction in Latin America. *Teachings from the use of modern reproductive technologies.* *Hum Reprod Update.* 1999; 5(1):21-5.
14. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine and the Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology. 2006 Guidelines for gamete and embryo donation. *Fertil Steril.* 2006; 86(Suppl 5): S38-S50.
15. ESHRE Task Force on Ethics and Law. III. Gamete and embryo donation. *Hum Reprod.*2002; 17(5):1407-8.
16. Heape W. Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster mother. *Proc R Soc* 1891; 48:457.

17. Chang MC. Fertilization of rabbit ova in vitro. *Nature* 1959; 184:406.
18. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after implantation of a human embryo. *Lancet* 1978; 2(8085):366.
19. Oyarzún EE, Manssur YA. Fertilización asistida: reflexiones frente a una nueva legislación. *Rev Med Chile* 1997; 125:222-7.
20. Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet* 1986; 1(8486):884-6.
21. Buster JE, Bustillo M, Thorneycroft I, Simon JA, Boyers SP, et al. Nonsurgical transfer of in vivo fertilised donated ova to five infertile women: report of two pregnancies. *Lancet* 1983; 2(8343):223-4.
22. Esparza-Pérez RV, Regulación de la donación de gametos y embriones en las técnicas de reproducción humana asistida: ¿anónima o abierta?. *Gac Med Mex* 2019;155 3 14
23. Zegers-Hochschild F, Schwarze JE, Galdames V, Registro Latinoamericano de Reproducción Asistida, Red LARA, Chile 2008
24. Blaquier J, Borges J, Coco R, Crosby J. et al. Programa de acreditación de centros de Fertilidad de la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida. En: Urbina, MT., Lerner, J. Eds. *Fertilidad y Reproducción Asistida*. Editorial Médica Panamericana. Caracas. Venezuela. 2008:15-54.
25. Elder K, Dale B., 2011. *In vitro fertilization*. 3erd. Edition. Cambridge, University Press. UK. Pp.108-138.
26. Santalla A. et al, Donación de ovocitos, *Clin Invest Gin Obst*. 2008;35(4):131-7
27. Lobo Garcia S. Relación entre la incorporación de las técnicas de selección espermática con columnas de anexina (MACS) en muestra seminal y los resultados en los tratamientos de reproducción asistida. Tesis doctoral. Madrid: Universidad Autonoma de Madrid; 2017.
28. Elder K, Dale B., 2011. *In vitro fertilization*. 3erd. Edition. Cambridge, University Press. UK. Pp.108-138.
29. de los Santos MJ, de los Santos JM, Gámez P, Romero, JL. Control de Calidad en el laboratorio: ambiente del laboratorio, equipos y material fungible. Capítulo 13. En: Remohi JA, Cobo A, Prados N, Romero JL, Pellicer A. *Manual práctico de esterilidad y reproducción humana*. Laboratorio de Reproducción Asistida. 4ª. Edición. Editorial Médica Panamericana. 2013: 96-106.
30. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology, and Practice Committee of the Society of Reproductive Biology and Technology American Society for Reproductive Medicine; Society for Assisted Reproductive Technology; and Society of Reproductive. Revised minimum standards for practices offering assisted reproductive technologies: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2014; 102:682–6.
31. Gatimel N, Moreau J, Isus F, Moinard N, Parinaud J, Leandri RD. Anti-sperm antibodies detection by a modified MAR test: Towards a better definition of its indications. *Reprod Biomed Online*. 2018 Dec; 37(6):717-723. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.09.011. Epub 2018 Oct 22. PMID: 30409465.
32. Vidal Martínez, Jaime, “Acerca de la regulación jurídica de las Tecnicas de Reproducción Humana Asistida”, *Actualidad Jurídica Iberoamericana* N° 10 bis, junio 2019, ISSN: 2386-4567, pp. 478-513
33. Resolución CFM 1.957-2010, que regula los procedimientos de reproducción asistida, pero no tiene rango de norma legal es emitida por el Consejo Federal de

- Medicina. Publicada el 6 de enero de 2011, modifica la resolución CFM no. 1358/92.
34. Fernando Cano Valle, Rosa Verónica Esparza Pérez. El anclaje jurídico ante las técnicas de reproducción asistida, *Bol. Mex. Der. Comp.* Vol.51 no. 151 México ene./abr. 2018
  35. Suárez Ávila, Alberto Abad, Laicidad y derechos reproductivos en la jurisdicción constitucional latinoamericana, México, UNAM, Instituto de Investigaciones Jurídicas, 2015, p. 108.
  36. American Association of Tissue Banks (AATB).: *Standards for Tissue Banking.* 11 ed. Bethesda: American Association of Tissue Banks. 2006.
  37. American Society for Reproductive Medicine (ASRM).: *Guidelines for gamete and embryo donation.* *Fertil Steril* 2006; 86 Suppl 1: 38-50.
  38. Martini, A., Molina, R., Ruiz, R., & Fiol de Cuneo, M. (2018). Impacto de la obesidad en la función reproductiva masculina. *Revista De La Facultad De Ciencias Médicas De Córdoba*, 69(2), 102-110. doi:<http://dx.doi.org/10.31053/1853.0605.v69.n2.21345>
  39. Novillo Estofán JM, Hernández M, Cantarelli V, Ponzio MF, Estofán D, Estofán G, Estofán P, Molina R, Martini AC. Obesidad y disminución del éxito reproductivo femenino: Posible asociación con los niveles séricos de ghrelina. *Reproducción* 2016; 31:108-131
  40. British Andrology Society (BAS).: *Guidelines for the screening of semen donors for donors insemination.* London: British Andrology Society. 1999.
  41. Canadian Fertility and Andrology Society (CFAS).: *Guidance for the Interpretation of Sections 2 to 5 of the Canadian Fertility and Andrology Society. Guidelines For Therapeutic Donor Insemination.* Quebec: Canadian Fertility and Andrology Society. 2000.
  42. Barrat C, Englert Y, Cottlieb C, et al.: *Gamete donation guidelines. The Corsendonk consensus document for the European Union.* *Hum Reprod* 1998; 13 Suppl 2: 7-12.
  43. Sociedad Española de Fertilidad.: *Estudio y tratamiento de la pareja estéril. Recomendaciones de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) con la colaboración de la Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR), la Sociedad Española de Andrología y la Sociedad Española de Contracepción.* Madrid: Adalia. 2007.
  44. Ramos-Reyes A, Alkon-Meadows T, Luna-Rojas M, Cervantes-Bravo E, Hernández-Nieto C, Sandler B. Efecto del tabaquismo en la fertilidad femenina y Masculina. *AMMR. Reproducción (México)* 2019; Vol. 10: 2 de agosto 1-13
  45. Garcia-Hjarles MA. Estilo de vida y salud reproductiva. *Vox Juris*, Lima (Perú) 28(2): 125-145, 2014
  46. López-Gálvez JJ, Moreno-García JM, Vital-Reyes, VS. Donación de ovocitos. *Med Reprod* 2014; 6:145-157.
  47. Pantos K, Meimeti-Damianaki T, Vaxevanoglou T, Kapetanakis E. Oocyte donation in menopausal woman aged over 40 years. *Hum Reprod* 1993; 8:488-91.
  48. Abdalla HI, Wren ME, Thomas A, Korea L. Age of the uterus does not affect pregnancy or implantation rates; a study of egg donation in women of different ages sharing oocytes from the same donor. *Hum Reprod* 1997; 12:827-9
  49. Guía de buenas prácticas para la evaluación y asesoramiento de donantes de ovocitos, Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva, Capítulo de Psicología 2018.

50. Moreno A, Guerra-Díaz D, Baccio G, Giménez-Molla V, Del Castellar-Pareja PD, Tirado-Carrillo MM, Gutiérrez-Herrera K, Gil-Rabanaque M. Guías de evaluación, consejo, apoyo e intervención psicológica en Reproducción asistida. Grupo de Interés en Psicología Sociedad Española de Fertilidad. Revista iberoamericana de Fertilidad
51. Hilarlo R, Mejia G, Zavala P, Vargas L, Dueñas J. Tasas de embarazo e implantación de ovodonación, en un solo intento. *Rev PerGinecol Obstet.* 2007; 53(1):22-26
52. Liou TC, Chang TT, Young KC, Lin XZ, Lin CY, Wu HL. Detection of HCV RNA in saliva, urine, seminal fluid, and ascites. *J Med Virol* 1992; 37:197-202.
53. McKee TA, Avery S, Majid A, Brinsden PR. Risks for transmission of hepatitis C virus during artificial insemination. *Fertil Steril* 1996; 66:161-3.
54. Duffaut M, Valla D. Assisted reproduction and hepatitis C virus infection. *Contracept Fertil Sex* 1997; 25: 534-7.
55. Howard RJ, Fry DE, Davis JM, Wiley TE, Rice CL. Hepatitis C virus infection in healthcare workers. *Surgical Infection Society. J Am Coll Surg* 1997; 184: 540-52.
56. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR* 1998; 47: 1-39.
57. Schvarcz R, Nystrom B, Oksanen A, Sonnerborg A. Prevention of nosocomial transmission of hepatitis C virus. *Lancet* 1995; 346: 190.
58. Lesourd F, Izopet J, Mervan C, Payen JL, Sandres K, Monrozies X, Parinaud J. Transmissions of hepatitis C virus during the ancillary procedures for assisted conception. *Hum Reprod* 2000; 15: 1083-5.
59. Natov SN, Pereira BJ. Hepatitis C in dialysis patients. *Adv Ren Replace Ther* 1996; 3: 275-83.
60. Pereira BJ, Levey AS. Hepatitis C virus infection in dialysis and renal transplantation. *Kidney Int* 1997;51: 981-99.
61. Quint WG, Fetter WP, van Os HC, Heijtkink RA. Absence of hepatitis B virus (HBV) DNA in children born after exposure of their mothers to HBV during in vitro fertilization. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1099-100.
62. Pawlotsky JM. Assisted reproduction and viral hepatitis: the virologist's viewpoint. *Contracept Fertil Sex* 1997; 25: 530-3.
63. Berry WR, Gottesfeld RL, Alter HJ, Vierling JM. Transmission of hepatitis B virus by artificial insemination. *Jama* 1987; 257: 1079-81.
64. Mascola L, Guinan ME. Screening to reduce transmission of sexually transmitted diseases in semen used for artificial insemination. *N Engl J Med* 1986; 314: 1354-9.
65. Steyaert SR, Leroux-Roels GG, Dhont M. Infections in IVF: review and guidelines. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 432-41.
66. Bell DM. Occupational risk of human immunodeficiency virus infection in healthcare workers: an overview. *Am J Med* 1997; 102: 9-15.
67. British Andrology Society. British Andrology Society guidelines for the screening of semen donors for donor insemination (1999). *Hum Reprod* 1999; 14: 823-6.
68. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Repetitive oocyte donation. *Fertil Steril* 2004; Suppl 1:S158:9.
69. Whittemore AS, Harris R, Itnyre J. Characteristics relating to ovarian cancer risk: Collaborative analysis of 12 US case-control studies. II. Invasive epithelial

- ovarian cancers in white women. Collaborative Ovarian Cancer Group. *Am J Epidemiol* 1992; 136:1184-1203
70. Burns, L.; Covington, S. N. (1999): *Infertility counselling: A comprehensive handbook for clinicians*. N.Y. Parthenon Publishing Group.
  71. Domes T, Lo K, Grober E, Mullen J, Mazzulli T, Jarvi K. The incidence and effect of bacteriospermia and elevated seminal leukocytes on semen parameters. *Fertility and Sterility* Vol. 97, No. 5, May 2012 0015-0282
  72. Nabi A, Khalili MA, Halvaei I, Ghasemzadeh J, Zare E. Seminal bacterial contaminations: Probable factor in unexplained recurrent pregnancy loss. *Iran J Reprod Med*. 2013;11(11):925-932.
  73. Zeyad A, Hamad M, Amor H, Hammadeh ME. Relationships between bacteriospermia, DNA integrity, nuclear protamine alteration, sperm quality and ICSI outcome. *Reprod Biol*. 2018 Mar;18(1):115-121. doi: 10.1016/j.repbio.2018.01.010. Epub 2018 Feb 12. PMID: 29449095.
  74. Agarwall A, Majzoub A, Baskaran S, Selvam MK, Cho CL, Henkel R, Finelli R, Leisegang K, Sengupta P, Barbarosie C, Parekh N, Alves MG, Ko E, Arafa M, Tadros N, Ramasamy R, Kavoussi P, Ambar R, Kuchakulla M, Robert KA, Iovine C, Durairajanayagam D, Jindal S, Shah R. Sperm DNA Fragmentation: A New Guideline for Clinicians. *World J Mens Health* Published online Aug 6, 2020 <https://doi.org/10.5534/wjmh.200128>
  75. Fernández, J. L., Muriel, L., Goyanes, V., Segrelles, E., Gosálvez, J., Enciso, M., LaFromboise, M., & De Jonge, C. (2005). Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion test. *Fertility and sterility*, 84(4), 833–842. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.11.089>
  76. Góngora RA, Sánchez GS, Cubillos GS, et al. Fragmentación del ADN del espermatozoide y su influencia en la fertilidad de la pareja. *Rev Mex Med Repro*. 2011;3.4(3):105-111.
  77. Córdova-Izquierdo A, Cervantes R, Eulogio J, Villa-Mancera A. (2017). Importancia del estrés oxidativo en los espermatozoides.
  78. Calamera J, Doncel G, Olmedo S, Kolm P, Acosta A. (1998). Modified sperm stress test: A simple assay that predicts sperm-related abnormal in-vitro fertilization. *Human reproduction* (Oxford, England). 13. 2484-8. 10.1093/humrep/13.9.2484.
  79. ESHRE Female fertility preservation. Guideline of the European Society of Human Reproduction and Embriology. 2020
  80. Cerviren AK, Ozcelik NT, Urfan A, Donmez L, Isikoglu M. Characteristic cytoplasmic morphology of oocytes in edometriosis patients and its effect on the outcome of assisted reproduction treatments cycles. *IVF Lite* 2014;1:88-93.
  81. Yi, Xf., Xi, HL., Zhang, SL. et al. Relationship between the positions of cytoplasmic granulation and the oocytes developmental potential in human. *Sci Rep* 9, 7215 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43757-8>
  82. Setti, A. S., Figueira, R. C., de Almeida Ferreira Braga, D. P., Azevedo, M. C., Iaconelli, A., Jr, & Borges, E., Jr (2016). Oocytes with smooth endoplasmic reticulum clusters originate blastocysts with impaired implantation potential. *Fertility and sterility*, 106(7), 1718–1724. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.09.006>
  83. Saito, H., Otsuki, J., Takahashi, H., Hirata, R., Habara, T., & Hayashi, N. (2019). A higher incidence of smooth endoplasmic reticulum clusters with

- aromatase inhibitors. *Reproductive medicine and biology*, 18(4), 384–389. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12296>
84. Deene, Vishnukanth & Mudaraddi, Tulasigiriyappa & Gaur, Shivani. (2016). A Case Study on Vacuolated Oocytes Intracytoplasmic Sperm Injection and its Outcome. *International Journal of Infertility & Fetal Medicine*. 7. 23-26. 10.5005/jp-journals-10016-1122.
  85. Fancsovíts, P., Murber, Á, Gilán, Z. T., Rigó, J., & Urbancsek, J. (2011). Human oocytes containing large cytoplasmic vacuoles can result in pregnancy and viable offspring. *Reproductive BioMedicine Online*, 23(4), 513-516. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2011.06.008>
  86. Otsuki J, Nagai Y, Chiba K (2007) Lipofuscin bodies in human oocytes as an indicator of oocyte quality. *J Assisted Reprod Genet* 24: 263-270.
  87. Rienzi L, Ubaldi FM, Iacobelli M, Minasi MG, Romano S, Ferrero S, Sapienza F, Baroni E, Litwicka K, Greco E (2008) Significance of metaphase II human oocyte morphology on ICSI outcome. *Fertil Steril* 90: 1692-1700.
  88. Elisa Cebal. El papel de la morfología oocitaria en la determinación de la competencia embrionaria temprana. *Cs Morfol* 2016 Vol. 18, Nº 1 Suplemento, pp. 42-67
  89. Balaban, B.; Yakin, K. and Urman, B. Randomized Comparison of Two Different Blastocyst Grading Systems. *Fertility and Sterility*, Mar, 2006, vol. 85, no. 3. pp. 559-563. ISSN 1556-5653; 0015-0282.
  90. Sauerbrun-Cutler, M. T., Vega, M., Breborowicz, A., Gonzales, E., Stein, D., Lederman, M., & Keltz, M. (2015). Oocyte zona pellucida dysmorphology is associated with diminished in-vitro fertilization success. *Journal of ovarian research*, 8, 5. <https://doi.org/10.1186/s13048-014-0111-5>
  91. Hassa, H., Aydın, Y., & Taplamacıoğlu, F. (2014). The role of perivitelline space abnormalities of oocytes in the developmental potential of embryos. *Journal of the Turkish German Gynecological Association*, 15(3), 161–163. <https://doi.org/10.5152/jtggga.2014.13091>
  92. Rose, B. I., & Laky, D. (2013). Polar body fragmentation in IVM oocytes is associated with impaired fertilization and embryo development. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 30(5), 679–682. <https://doi.org/10.1007/s10815-013-9982-4>
  93. Elder, K, Van der Bergh, M, Woodward, B. Gases, air quality, and volatile organic carbons (VOCs) En: *Troubleshooting and problem solving in the IVF laboratory*. Cambridge University Press. UK. 2015. Pp. 117-138.
  94. Alikani M, Go C, McCaffrey C, McCulloh D. Comprehensive evaluation of contemporary assisted reproduction technology laboratory operations to determine staffing levels that promote patient safety and quality care; 2014. *Fertil Steril*. 102 (5): 1350–1356
  95. Mantilla A, Orozco I, Zamora S, Ortiz N, Prados-Mondéjar F, Moreno J, Ardoy M, Esbert M, Marina F, Vilchez M, González-Útor A, Castilla J. (2015). Grupo de interés de calidad de ASEBIR: Actualización de las especificaciones para los indicadores de calidad de la Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR). *Medicina Reproductiva y Embriología Clínica*. 2. 10.1016/j.medre.2015.04.001.
  96. D. Mortimer, J. Cohen, S.T. Mortimer, M. Fawzy, D.H. McCulloh, D.E. Morbeck, X. Pollet-Villard, R.T. Mansour, D.R. Brison, A. Doshi, J.C. Harper, J.E. Swain, A.V. Gilligan. Cairo consensus on the IVF laboratory environment

- and air quality: report of an expert meeting. *Reproductive BioMedicine Online* 2018 Jun; 36(6):658-674
97. Moia E, Wheeler F. El criterio de diseño de una sala limpia farmacéutica. *Tecnología industrial*. [Revista on-line]. [Consultado 12 de enero de 2016]. Disponible en: <http://setefa.co.cr/images/disesalalimpia.pdf>
  98. de los Santos MJ, de los Santos JM, Gámez P, Romero, JL. Control de Calidad en el laboratorio: ambiente del laboratorio, equipos y material fungible. Capítulo 13. En: Remohi JA, Cobo A, Prados N, Romero JL, Pellicer A. *Manual práctico de esterilidad y reproducción humana. Laboratorio de Reproducción Asistida*. 4ª. Edición. Editorial Médica Panamericana. 2013: 96-106.
  99. Elder, K, Van der Bergh, M, Woodward, B. Gases, air quality, and volatile organic carbons (VOCs) En: *Troubleshooting and problem solving in the IVF laboratory*. Cambridge University Press. UK. 2015. Pp. 117-138
  100. Cuneo-Pareto S, Sánchez-González S, Cubillos-García S. Resultados de tres años de experiencia en vitrificación para banco de óvulos. *Revista Mexicana de Medicina de la Reproducción* 2010;2(4):96-100
  101. Adamson D. The Value of Laboratory Accreditation? *Fertil Steril*. 2010; 74: 849-850.
  102. Roque, M, Valle, M, Guimarães, F., Sampaio, M, Geber, S. Freeze-all policy: fresh vs. frozen-thawed embryo transfer. 2015; 103: 1190–1193.
  103. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine; Practice Committee of the Society for Assited Reproductive Technology. Guidelines for gamete and embryo donation: a Practice Committee Report. *Fertil Steril* 2008;90:S30-S44.
  104. Check JH, Nowroozi K, Choe J, Lurie D, Dietterich C. The effect of endometrial thickness and echo pattern on in vitro fertilization outcome in donor oocyteembryo transfer cycle. *Fertil Steril* 1993;59:72-5.
  105. Remohi J, Gartner B, Gallardo E, Yalil S, Simon C, Pellicer A. Pregnancy and birth rates after oocyte donation. *Fertil Steril* 1997;67:717-23.
  106. Carrier screening in the age of genomic medicine. Committee Opinion No. 690. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2017;129:e35-40.
  107. Carrier screening for genetic conditions. Committee Opinion No. 691. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2017;129:e41- 55.
  108. Edwards et al. Expanded Carrier Screening in Reproductive Medicine—Points to Consider. A Joint Statement of the American College of Medical Genetics and Genomics, American College of Obstetricians and Gynecologists, National Society of Genetic Counselors, Perinatal Quality Foundation, and Society for Maternal-Fetal Medicine. *Obstet Gynecol* 2015; 1253.
  109. Sackett L. David, Sharon E. Strauss et al: *Medicina Basada en la Evidencia. Cómo practicar y enseñar la MBE*. 2ª ed. España: Edit Harcourt 2001.
  110. Younis JS, Simon A, Laufer N. Endometrial preparation: lessons from oocyte donation. *Fertil Steril* 1996;66:873-84.
  111. Domingues, T. S., Aquino, A. P., Barros, B., Mazetto, R., Nicolielo, M., Kimati, C. M., Devecchi, T., Bonetti, T., Serafini, P. C., & Motta, E. (2017). Egg donation of vitrified oocytes bank produces similar pregnancy rates by blastocyst transfer when compared to fresh cycle. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 34(11), 1553–1557. <https://doi.org/10.1007/s10815-017-1017-0>

112. Gutiérrez-Vela O, Hernández-Nieto C, Alkon-Meadows T, Luna-Rojas M, Sandler B. Los índices elevados de fragmentación del ADN espermático no se asocian con escasa blastulación o aumento de aneuploidía embrionaria en tratamientos de fertilización in vitro. *Reproducción (México)*. 2020; Vol. 11: 10 de septiembre 1-9
113. Díaz Pérez MA, Neri-Vidaurre P. Aspectos psicológicos en infertilidad y gestación subrograda. *Reproducción (México)*. 2015 octubre;8(2):101-129.
114. S.A. Viñas Burgos, M. A. Pérez Bourgeois, E. Rodríguez-Bies, M. Dorado Silva, P. Sánchez Martín, F. Sánchez Martín. Influencia del apoyo psicológico grupal en la calidad de vida, continuidad y tasas de embarazo, en tratamientos de fecundación in Vitro. *Rev Iberoam Fert Rep Hum* / Vol. 34 n° 1 Enero-Febrero-Marzo 2017.
115. Moubasher, A., Sayed, H., Mosaad, E., Mahmoud, A., Farag, F., & Taha, E. A. (2018). Impact of leukocytospermia on sperm dynamic motility parameters, DNA and chromosomal integrity. *Central European journal of urology*, 71(4), 470–475. <https://doi.org/10.5173/ceju.2018.1724>
116. Iommiello, V. M., Albani, E., Di Rosa, A., Marras, A., Menduni, F., Morreale, G., Levi, S. L., Pisano, B., & Levi-Setti, P. E. (2015). Ejaculate oxidative stress is related with sperm DNA fragmentation and round cells. *International journal of endocrinology*, 2015, 321901. <https://doi.org/10.1155/2015/321901>