



Gobierno de Reconciliación  
y Unidad Nacional

*El Pueblo, Presidente!*

**MINISTERIO DE SALUD**

**Normativa - 053**

---

**“NORMA DE TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA”**

---

**Managua, Agosto – 2010**

N  
WP  
570  
2061  
2010

Nicaragua. Gobierno de reconciliación y  
Unidad Nacional. Ministerio de Salud  
**“Norma de Técnicas de Reproducción Asistida”**.  
Dirección Superior del Ministerio de Salud.  
René Mendieta y Melba Barrantes. Managua: MINSa,  
Sept. 2010  
46 p., tab

(Normativa 053; Acuerdo Ministerial 285- 2010)

- 1.- Normas (Descriptor Local)
- 2.- Técnicas Reproductivas Asistidas
- 3.- Infertilidad^clasificación
- 4.- Fertilización
- 5.- Fertilización In Vitro^efectos adversos
- 6.- Inseminacion
- 7.- Manual de Procedimiento (Descriptor Local)
- 8.- Fases del Programa de Fertilización In Vitro  
(Descriptor Local)

Ficha Bibliográfica Elaborada por la Biblioteca Nacional de Salud

## **CRÉDITOS**

### **DIRECCIÓN SUPERIOR DEL MINISTERIO DE SALUD**

Dra. Sonia Castro	Ministra de Salud
Dr. Elías Guevara	Vice-Ministro de Salud
Dr. Enrique Beteta	Secretario General

### **DOCUMENTO ELABORADO POR:**

Dr. René Mendieta	Coordinador Departamento de Información Médica
Dra. Melba Barrantes	Departamento de Información Médica.

### **DOCUMENTO REVISADO POR:**

Dr. Carlos Salgado Ríos	Especialista en Ginecología, Obstetricia y Fertilidad
Dr. Leonardo Contreras	Especialista en Ginecología y Obstetricia

### **COMISIÓN DE APROBACIÓN DE NORMA:**

Lic. Luz María Torres	Directora General de Regulación Sanitaria
Dra. Carolina Dávila	Directora de Regulación para la Salud
Dra. Karen García	División General de Planificación y Desarrollo
Dra. Luisa Manda Campo	Dirección General de Vigilancia para la Salud
Dr. Guillermo Gosebruch	Dirección General de Extensión y Calidad
Dr. Juan J. Lugo K.	Invitado Experto en Ginecología, Obstetricia y Fertilidad



Gobierno de Reconciliación y Unidad Nacional

*El Pueblo, Presidente!*

2010:  
AÑO DE LA  
SOLIDARIDAD  
*Viva Nicaragua Libre!*

Acuerdo Ministerial No. 285 - 2010

ACUERDO MINISTERIAL

No. 285 - 2010

SONIA CASTRO GONZALEZ, Ministra de Salud, en uso de las facultades que me confiere la Ley No. 290 "Ley de Organización, Competencia y Procedimientos del Poder Ejecutivo", publicada en "La Gaceta", Diario Oficial, No. 102 del tres de Junio de mil novecientos noventa y ocho, Decreto No. 25-2006 "Reformas y Adiciones al Decreto No. 71-98, Reglamento de la Ley No. 290, "Ley de Organización, Competencia y Procedimientos del Poder Ejecutivo", publicado en "La Gaceta", Diario Oficial, Nos. 91 y 92 del once y doce de Mayo, respectivamente, del año dos mil seis, la Ley No. 423 "Ley General de Salud", publicada en "La Gaceta", Diario Oficial, No. 91 del diecisiete de mayo del año dos mil dos, el Decreto No. 001-2003, "Reglamento de la Ley General de Salud", publicado en "La Gaceta" Diario Oficial, Nos. 7 y 8 del diez y trece de Enero del año dos mil tres, respectivamente.

CONSIDERANDO:

I

Que la Constitución Política de la República de Nicaragua, en sus Artos. 59, 70 y 71 establece : **Arto. 59.-** Los nicaragüenses tienen derecho, por igual, a la salud. El Estado establecerá las condiciones básicas para su promoción, protección, recuperación y rehabilitación. Corresponde al Estado dirigir y organizar los programas servicios y acciones de salud"; **Arto. 70.-** La familia es el núcleo fundamental de la sociedad y tiene derecho a la protección de ésta y del Estado. **Arto. 71.** Es derecho de los nicaragüenses constituir una familia....PARTES CONDUCENTES.... La ley regulará y protegerá estos derechos."

II

Que la Ley No. 290 "Ley de Organización, Competencia y Procedimientos del Poder Ejecutivo", en su arto. 26, incisos b), d) y e), establece que al Ministerio de Salud le corresponde: b) Coordinar y dirigir la ejecución de la política de salud del Estado en materia de promoción, protección, recuperación y rehabilitación de la salud; d) Organizar y dirigir los programas, servicios y acciones de salud de carácter preventivo y curativo y promover la participación de las organizaciones sociales en la defensa de la misma; y e) Dirigir y administrar el sistema de supervisión y control de políticas y normas de salud."

III

Que la Ley No. 423 "Ley General de Salud", en sus Arto. 1 y 2, establece: "Arto. 1.- **Objeto de la Ley,** establece que la misma tiene por objeto "tutelar el derecho que tiene toda persona de disfrutar, conservar y recuperar su salud, en armonía con lo establecido en las disposiciones legales y normas especiales, y que para tal efecto regulará: a) Los principios, derechos y obligaciones con relación a la salud; y b) Las acciones de promoción, prevención, recuperación y rehabilitación de la salud". **Arto. 2.- Órgano Competente.-** El Ministerio de Salud es el órgano competente para aplicar, supervisar, controlar y evaluar el cumplimiento de la presente Ley y su Reglamento; así como para elaborar, aprobar, aplicar, supervisar y evaluar normas técnicas, formular políticas, planes, programas, proyectos, manuales e instructivos que sean necesarios para su aplicación."



*Nicaragua en el Alba*  
**CRISTIANA,  
SOCIALISTA,  
SOLIDARIA!**



**MINISTERIO DE SALUD**  
Complejo Nacional de Salud "Dra. Concepción  
Aguilar", Costado Oeste Colonia Primero de  
Mayo, Managua, Nicaragua.  
Tel: PBX (505) 22894700.  
Apartado Postal 107. www.minsa.gob.ni



Gobierno de Reconciliación y Unidad Nacional

*El Pueblo, Presidente!*

2010:  
AÑO DE LA  
SOLIDARIDAD  
*Viva Nicaragua Libre!*

Acuerdo Ministerial No. 285 - 2010

IV

Que la Ley No. 423 "Ley General de Salud", en su **Artículo 4, Rectoría**, señala que: "Corresponde al Ministerio de Salud como ente rector del sector, coordinar, organizar, supervisar, inspeccionar, controlar, regular, ordenar y vigilar las acciones en salud, sin perjuicio de las funciones que deba ejercer frente a las instituciones que conforman el sector salud, en concordancia con lo dispuesto en las disposiciones legales especiales"; y el Decreto No. 001-2003, "Reglamento de la Ley General de Salud", en su Arto. 19, numeral 17, establece: "**Artículo 19.-** Para ejercer sus funciones, el MINSA desarrollará las siguientes actividades: 17. Elaborar las políticas, planes, programas, proyectos nacionales y manuales en materia de salud pública en todos sus aspectos, promoción, protección de la salud, prevención y control de las enfermedades, financiamiento y aseguramiento."

V

Que la Ley No. 423, "Ley General de Salud" en su **Artículo 32**, establece que: "La atención en salud de la mujer, la niñez y la adolescencia será de acuerdo al Programa de Atención Integral a la Mujer, la Niñez y la Adolescencia del Ministerio de Salud.- Este programa incluirá las acciones de control prenatal, atención del parto, del puerperio, recién nacido, detección precoz del cáncer de cuello uterino y mamas, así como acciones para la salud sexual y reproductiva"; y el Decreto No. 001-2003, "Reglamento de la Ley General de Salud", en su Arto. 211 establece: "**Artículo 211.- De la Atención Integral a la Mujer, la Niñez y la Adolescencia.-** La atención a la mujer, la niñez y la adolescencia se proveerá según lo dispuesto en los programas de atención integral a los grupos poblacionales de acuerdo a su ciclo de vida, según manuales y demás disposiciones complementarias."

VI

Que el Ministerio de Salud, en virtud de las facultades dadas en los Artos. 2 y 4 de la Ley No. 423, Ley General de Salud", ha elaborado la Norma de Técnicas de Reproducción Asistida (TRA), como una forma de preservar el derecho constitucional de los nicaragüenses, de tener o conformar una familia y garantizar una técnica segura en la cual se disponga de un grupo profesional multidisciplinario y altamente calificado, que logre llevar a efecto con éxito cada una de las etapas del programa que constituyen las TRA.

VII

Que con fecha 31 de Agosto del 2010, la Dirección General de Regulación Sanitaria, solicitó se elaborara el Acuerdo Ministerial que aprobara el documento denominado "**NORMA DE TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA**", cuyo objetivo es establecer los criterios para regular las Técnicas de Reproducción Asistida para el tratamiento de la infertilidad en los establecimientos de salud autorizados por el Ministerio de Salud.



*Nicaragua en el Alba*  
CRISTIANA,  
SOCIALISTA,  
SOLIDARIA!

MINISTERIO DE SALUD  
MINISTRA DE SALUD  
Complejo Nacional de Salud "Dra. Concepción Palacios", Costado Oeste Colonia Primero de Mayo, Managua, Nicaragua.  
Tel: PBX (505) 22894700.  
Apartado Postal 107. [www.minsa.gob.ni](http://www.minsa.gob.ni)



Gobierno de Reconciliación  
y Unidad Nacional

*El Pueblo, Presidente!*

**2010:  
AÑO DE LA  
SOLIDARIDAD**  
*Viva Nicaragua Libre!*

Acuerdo Ministerial No. 285 - 2010

Por tanto, esta Autoridad,

**ACUERDA:**

**PRIMERO:** Se aprueba el documento denominado "NORMA DE TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA", el cual forma parte integrante del presente Acuerdo Ministerial.

**SEGUNDO:** Se designa a la Dirección General de Regulación Sanitaria, para que dé a conocer el presente Acuerdo Ministerial y el referido documento a los directores de SILAIS y a los directores de establecimientos de salud públicos y privados, debidamente autorizados por el Ministerio de Salud, que brinden atención a usuarios o pacientes aplicando Técnicas de Reproducción Asistida (TRA).

**TERCERO:** El presente Acuerdo Ministerial entrará en vigencia a partir de su firma.

Comuníquese el presente, a cuantos corresponda conocer del mismo.

Dado en la ciudad de Managua, al primer día del mes de Septiembre del año dos mil diez.

  
MINISTRA DE SALUD  
SONIA CASTRO GONZALEZ  
MINISTRA DE SALUD

  
**PODER  
CIUDADANO**  
*Nicaragua  
Gana con Voz!*

*Nicaragua  
en el Alba*  
**CRISTIANA,  
SOCIALISTA,  
SOLIDARIA!**

**MINISTERIO DE SALUD**

Complejo Nacional de Salud "Dra. Concepción Palacios", Costado Oeste Colonia Primero de Mayo. Managua, Nicaragua.  
Tel: PBX (505) 22894700.  
Apartado Postal 107. [www.minsa.gob.ni](http://www.minsa.gob.ni)

3

## Contenido

<b>NORMA SOBRE TECNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA.....</b>	<b>8</b>
<b>PRESENTACIÓN .....</b>	<b>9</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>10</b>
<b>II. ANTECEDENTES .....</b>	<b>11</b>
<b>III. JUSTIFICACIÓN: .....</b>	<b>12</b>
<b>IV. SOPORTE JURIDICO .....</b>	<b>13</b>
<b>V. DEFINICIONES Y CONCEPTOS:.....</b>	<b>15</b>
<b>VI. OBJETO .....</b>	<b>16</b>
<b>VII. UNIVERSO .....</b>	<b>16</b>
<b>VIII. CAMPO DE APLICACIÓN .....</b>	<b>16</b>
<b>IX. DISPOSICIONES.....</b>	<b>17</b>
<b>A. GENERALES.....</b>	<b>17</b>
<b>B. ESPECIFICAS: .....</b>	<b>18</b>
<b>MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA INSEMINACION ARTIFICIAL HOMOLOGA Y HETEROLOGA (DONANTE) .....</b>	<b>21</b>
<b>MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA FERTILIZACIÓN IN VITRO CON TRANSFERENCIA DE EMBRIONES .....</b>	<b>31</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>48</b>

## **NORMA SOBRE TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA**



## **PRESENTACIÓN**

El Ministerio de Salud como ente Rector del Sector salud, dando cumplimiento a los compromisos del Gobierno de Reconciliación y Unidad Nacional (GRUN), de proveer salud gratuita y atención oportuna a los nicaragüenses, continúa impulsando acciones que contribuyan a mejorar la salud de la mujer, la familia y la niñez, mediante acciones concretas que contribuyan a operativizar los lineamientos orientados en la Política Nacional de Salud, así como, en el nuevo Modelo de Salud Familiar y Comunitario.

El Ministerio viene trabajando desde el Programa de Atención Integral a la Mujer, en el desarrollo de la maternidad segura como una estrategia para mejorar la salud materna y perinatal del país, cuyos objetivos son: reducir el número de embarazos no deseados y de alto riesgo; reducir el número de complicaciones obstétricas; reducir la tasa de mortalidad en mujeres que presentan complicaciones obstétricas y, reducir la tasa de mortalidad perinatal y neonatal.

Los anteriores objetivos no incluyen la provisión de servicios para satisfacer la demanda de embarazos en parejas infértiles como derecho inherente a su condición de ser humano y a su natural deseo de procrear una familia.

La presente Norma de Técnicas de Reproducción Asistida está dirigida a todas y todos los trabajadores de la salud, en los diferentes niveles de atención, tanto en los establecimientos público como privado en donde se provean este tipo de servicio, con el propósito de establecer acciones que permitan mejorar la calidad de atención, participación de la familia y garantizar la seguridad de las usuarias y usuarios que por razones de infertilidad demanden este tipo de servicio.

Evidentemente esto permitirá un compromiso de toda la sociedad en general con la familia, promoviendo el respeto a los principios de bioética dentro de los cuales sobresalen el hacer el bien y evitar el daño.

## I. INTRODUCCIÓN

La infertilidad es sin duda un problema con repercusión social que llega a afectar no sólo el rendimiento laboral e intelectual del ser humano, sino también la integridad de la familia y las relaciones interpersonales de la pareja; y consecuentemente su salud mental y física.

La infertilidad afecta entre el 8 al 15% en las parejas en edad reproductiva.<sup>1</sup> Los modernos avances y descubrimientos científicos y tecnológicos, y en especial en los campos de la biomedicina y biotecnología han posibilitado, entre otros el desarrollo y utilización de técnicas de reproducción como alternativa a los problemas de infertilidad de la pareja humana; generalmente conocidas como Técnicas de Reproducción Asistida (TRA).

La Constitución Política de Nicaragua establece: “Es derecho de los nicaragüenses constituir una familia”.<sup>2</sup> El Gobierno de Reconciliación y Unidad establece la restitución de este derecho y lo tiene como uno de los ejes fundamentales la familia.

Tomando en cuenta lo anterior, el Ministerio de Salud velando por la familia pilar fundamental para la sociedad nicaragüense pone en sus manos la presente Normativa para que las parejas con problemas de fertilidad tengan acceso a una técnica de reproducción asistida segura en la cual se disponga de un grupo profesional multidisciplinario y altamente calificado que sea capaz de llevar a efecto exitosamente cada una de las etapas del programa.

---

<sup>1</sup> Mas Díaz Jorge, Aspectos Éticos y Legales de la Reproducción. En línea. Disponible en: [www.](http://www.) Fecha de Consulta: 06/07/2010

<sup>2</sup> Constitución Política de Nicaragua y Sus reformas, agosto del 2003. Arto. 71

## II. ANTECEDENTES

Los trabajos que llevaron a la aplicación humana de la fecundación in vitro fueron desarrollados inicialmente por Steptoe (ginecólogo) y Edwards (biólogo), que aplicaron al hombre técnicas ya conocidas en el ámbito de la veterinaria. Sus trabajos, iniciados a finales de los años 60, culminaron en 1978 con el nacimiento de Louise Brown como resultado de un embarazo obtenido implantando un embrión, resultado de fecundar in vitro un óvulo de un ciclo normal de su madre<sup>3</sup>.

Es evidente que tal acontecimiento tuviera relevante importancia ya que en él están involucrados diferentes aspectos controversiales en los campos experimental, científico, médico, social, religioso, legal, ético, moral, económico, etc., y esa memorable fecha no solamente marcó la culminación exitosa de procesos investigativos relacionados a la fertilización in vitro (FIV), iniciados en animales de experimentación por Walter Heap a finales del siglo XIX y a mediados del siglo pasado fundamentalmente, sino también a dos lustros de extensos estudios de fecundación extracorpórea en la especie humana realizados por Steptoe y Edwards.

Por otro lado, se dió inicio a una nueva era en el entendimiento de la biología de la reproducción sobre bases verdaderamente científicas, dejando en el pasado una larga lista de falsas creencias, mitos e inclusive supercherías que durante mucho tiempo hicieron presa fácil de las parejas imposibilitadas de tener descendencia por medio naturales dando inicio a la aparición vertiginosa de un sin fin de **Técnicas de Reproducción Asistida** (TRA), actualmente al alcance de todas o de la gran mayoría de parejas infértiles.

El derecho a la vida es la esencia de los derechos humanos, pues sin vida no hay humanidad, como todo derecho, lo es en tanto que es exigible ante terceros. El ser humano tiene derecho a que nadie atente contra su vida, a que no se le prive de ella –formulación negativa-, pero también a exigir de otros conductas positivas para conservarla. Esta conducta puede ser reclamada a profesionales o instituciones dedicadas al cuidado de la salud y a quien tenga incluso un deber genérico de asistencia. De las normas citadas y especialmente de los artículos 21 constitucional, 4.1. de la Convención Americana sobre Derechos Humanos y 6.1 de la Convención sobre los Derechos del Niño se deriva claramente que la vida humana se protege desde la concepción.

En el IV Congreso de Fecundación In-Vitro, celebrado en Melbourne, Australia en noviembre de 1985, se dieron las siguientes cifras: entre 1982 y 1985 se realizaron en todo el mundo más de 30,000 tentativas de fecundación in-vitro con transferencia del concebido de embriones, de ellas nacieron 2,300 niños.

El porcentaje de malformaciones en general fue mayor al registrado en la fecundación natural aunque en la actualidad se sabe que no hay diferencia

---

<sup>3</sup> Pardo Antonio. AA. VV. Bioética en las Ciencias de la Salud. Universidad de Navarra. Alcalá la Real, Asociación Alcalá, 2001:203-220.

estadísticamente significativa de malformaciones en niños nacidos por FIV en comparación con los nacidos de forma natural<sup>4</sup>. Con el advenimiento de la micro inyección espermática intra citoplasmática (ICSI) para tratamiento del factor masculino, la FIV que es la técnica más avanzada de Reproducción Humana, logra una tasa acumulativa de nacidos vivos de 26% en el primer intento, 48% en el segundo, 57% en el tercero y 66% en el cuarto.<sup>5</sup>

### III. JUSTIFICACIÓN:

La infertilidad en la pareja es una situación que constituye una amenaza en los proyectos de vida de las personas, altera el funcionamiento social, puede afectar la autoestima; así como la vida sexual de la pareja. Es bien conocida la relación entre infertilidad, reacción de duelo y depresión. Algunos estudios apoyan el concepto del impacto de la infertilidad en el funcionamiento psicológico de las personas, demostrando que la incidencia de depresión entre las mujeres infértiles en relación a la población femenina general. Todas las situaciones antes descritas afectan a la familia y sociedad en general, ya que estas condiciones de las personas afectan en su vida laboral y social.

El derecho de las personas a formar y desarrollar la familia se establece en la Constitución Política de Nicaragua y siendo una política de nuestro Gobierno la restitución de derecho y teniendo como uno de los ejes fundamentales la familia, ponemos a su disposición la presente normativa con el objetivo que las parejas con problemas de fertilidad tengan acceso a una técnica de reproducción asistida segura en la cual se disponga de un grupo profesional multidisciplinario y altamente calificado que sea capaz de llevar a efecto exitosamente cada una de las etapas del programa.

---

<sup>4</sup> Mas Díaz Jorge, Aspectos Éticos y Legales de la Reproducción. En línea. Disponible en: [www.](http://www.) Fecha de Consulta: 06/07/2010

<sup>5</sup> Sharman V, Allgar V, Rajhkhowa. Factors influencing the cumulative conception rate and discontinuation of in vitro fertilization treatment for infertility. Fertil Steril 2002; 78(1):40-46

## **IV. SOPORTE JURIDICO**

### **CONSTITUCIÓN POLÍTICA DE NICARAGUA**

**ARTICULO 27.-** Todas las personas son iguales ante la ley y tienen derechos a igual protección. No habrá discriminación por motivo de nacimiento, nacionalidad, credo político, raza, sexo, idioma religión, opinión, origen, posición económica o condición social. Los extranjeros tienen los mismos deberes y derechos que los nicaragüenses, con la excepción de los derechos políticos y los que establezcan las leyes; no pueden intervenir en los asuntos políticos del país. El Estado respeta y garantiza los derechos reconocidos en la presente Constitución a todas las personas que se encuentren en su territorio y estén sujetas a su jurisdicción.

### **CAPITULO IV DERECHOS DE LA FAMILIA**

**ARTICULO 70.-** La familia es el núcleo fundamental de la sociedad y tiene derecho a la protección de esta y del Estado.

**ARTICULO 71.-** Es derecho de los nicaragüenses constituir una familia. Se garantiza el patrimonio familiar, que es inembargable y exento de toda carga pública. La ley regulará y protegerá estos derechos.

La niñez goza de protección especial y de todos los derechos que su condición requiere, por lo cual tiene plena vigencia la Convención Internacional de los Derechos del Niño y la Niña.

**Ley 423,** Ley General de Salud, publicada en La Gaceta, Diario Oficial.

**Artículo 4.- Rectoría:** Corresponde al Ministerio de Salud como ente rector del Sector, coordinar, organizar, supervisar, inspeccionar, controlar, regular, ordenar y vigilar las acciones en salud, sin perjuicio de las funciones que deba ejercer frente a las instituciones que conforman el sector salud, en concordancia con lo dispuesto en las disposiciones legales especiales.

### **Artículo 7.- Son Competencias y Atribuciones del Ministerio de Salud:**

1.- Regular, Supervisar, e intervenir en el Sector de Salud, y en particular ser la autoridad competente para la aplicación y el control del cumplimiento de las disposiciones de la presente Ley, su reglamento o normas que de ella emanen, sin perjuicio de las facultades y obligaciones que leyes especiales otorguen a otros organismos públicos dentro de sus respectivas competencias. Para estos efectos, se entiende como autoridades en salud, las personas o instituciones con

funciones, facultades o competencias expresadas de expedir o aplicar la regulación en materia de políticas en salud.

14.- Definir los requisitos necesarios para la organización y funcionamiento de las Instituciones Proveedoras de Servicios de Salud, sin los cuales no podrá prestar servicios a ninguna institución o persona ni ofrecer sus servicios

## **SECCIÓN II. DE LA SALUD DE LA MUJER, LA NIÑEZ Y LA ADOLESCENCIA**

**Artículo 32.-** La atención en salud de la mujer, la niñez y la adolescencia será de acuerdo al Programa de Atención Integral a la Mujer, la Niñez y la Adolescencia del Ministerio de Salud.

Este programa incluirá las acciones de control prenatal, atención del parto, del puerperio, recién nacido, detección precoz del cáncer de cuello uterino y mamas, así como acciones para la salud sexual y reproductiva.

## **SECCIÓN II. DE LA HABILITACIÓN Y LA ACREDITACIÓN**

**Artículo 55.- Habilitación:** Corresponde al Ministerio de Salud definir los requisitos esenciales que deben cumplir las instituciones Prestadoras de Servicios de Salud para poder obtener su licencia de funcionamiento a través de la correspondiente habilitación.

**Artículo 57.- Del Control del Ejercicio de las Profesiones Médicas y Afines.** Para desempeñar actividades profesionales propias de la medicina, odontología, farmacia, microbiología o cualquier otra relacionada con la atención de la salud, se requiere poseer título profesional, incorporado y certificado en la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua y debidamente registrado en el Ministerio de Salud conforme lo establece el Decreto N<sup>o</sup>.60 "Ley de Títulos Profesionales" y el Decreto N<sup>o</sup>.132 "Ley de Incorporación de Profesionales en Nicaragua"; así como también por lo establecido en la Ley N<sup>o</sup> 290 "Ley de Organización, Competencia y Procedimientos del Poder Ejecutivo" y su reglamento y de acuerdo a lo establecido en la presente Ley

### **Reglamento de Ley General de Salud,**

**Artículo 211.- De la Atención Integral a la Mujer, la Niñez y la Adolescencia.**

La atención a la mujer, la niñez y la adolescencia se proveerá según lo dispuesto en los programas de atención integral a los grupos poblacionales de acuerdo a su ciclo de vida, según manuales y demás disposiciones complementarias.

## V. DEFINICIONES Y CONCEPTOS:

1. **Casos Especiales:** Se refiere aquellas situaciones que no se contemplen en esta Normativa y los Manuales contenidos en estos documentos.
2. **Embrión:** Producto de la concepción desde el momento de la fecundación hasta los tres meses en la especie humana.
3. **Fecundación In Vitro:** Técnica de Reproducción Asistida, mediante la cual los ovocitos son extraídos de los ovarios, tratados apropiadamente y fecundados para desarrollar embriones. Los embriones son posteriormente implantados en el útero.
4. **Ovocito:** Gameto femenino formado y desarrollado en el ovario, que después de la fecundación origina el embrión. Llamado también óvulo
5. **Síndrome de Hiperestimulación Ovárica:** consiste en una respuesta exagerada al tratamiento de inducción de la ovulación.
6. **Transferencia de Embriones:** Introducción de los embriones en el útero materno, previa colocación de los mismos en medio de cultivo específico y cargados en un catéter de transferencia.
7. **Técnicas de Reproducción Asistida:** Todas las técnicas encaminadas a facilitar la unión de los gametos masculino y femeninos, sin mediar relaciones sexuales para la formación de un nuevo ser.

## **VI. OBJETO**

La presente normativa tiene por objeto, establecer los criterios para regular las Técnicas de Reproducción Asistida para tratamiento de la infertilidad en los establecimientos de salud autorizados por el Ministerio de Salud.

## **VII. UNIVERSO**

Parejas y Mujeres con Problemas de Fertilidad.

## **VIII. CAMPO DE APLICACIÓN**

Esta norma será de obligatorio cumplimiento por los profesionales de la salud que intervienen y los representantes legales de los establecimientos proveedores de servicios de salud, públicos y privados, autorizados para realizar Técnicas de Reproducción Asistida.

## **IX. METODOLOGÍA PARA ACTUALIZAR EL DOCUMENTO**

Para la revisión de las recomendaciones en la presente Normativa y Manuales se llevó a cabo el siguiente proceso:

- Se realizó una búsqueda en la literatura.
- Los documentos internacionales que se tomaron como referencia cumplieron con los siguientes criterios:
  - Guías con enfoque integral sobre el tema abordado.
  - Documentos desarrollados por grupos de profesionales, asociaciones de especialidades médicas, sociedades científicas, agencias a nivel internacional, instituciones que hayan abordado los temas incorporados en la presente Normativa y Manuales, que son consideradas como referencias a nivel mundial, y en las cuales se han basado especialistas de varios países o regiones para adaptarlas a su entorno nacional o regional de conformidad con un rigor metodológico.
- Una vez elaborado el documento borrador se procedió a una revisión por Expertos, convocados por la Dirección General de Regulación Sanitaria del Ministerio de Salud.

Fecha de Elaboración del Documento: Agosto, 2010

Fecha de Próxima Actualización: Agosto, 2012



## **X. DISPOSICIONES**

### **A. GENERALES**

1. El Ministerio de Salud es el órgano rector del Sector Salud y tiene competencia para establecer regulaciones para la mejora continua de la calidad de atención en salud.
2. El establecimiento que oferte Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) debe contar con la licencia de autorización vigente de funcionamiento emitida por el MINSA.
3. Las disposiciones contempladas en esta norma son de carácter obligatorio y de estricto cumplimiento por todos los profesionales de la salud que intervienen y los representantes legales de los establecimientos proveedores de servicios de salud, públicos y privados, autorizados para realizar este tipo de servicios.
4. El representante del establecimiento de salud:
  - a. Es el responsable de dar a conocer y de hacer cumplir la presente normativa tanto a los trabajadores de salud como a las pacientes y su familia.
  - b. Es el encargado de facultar a la persona responsable de monitorear el cumplimiento de esta normativa.
5. El establecimiento autorizado para desarrollar TRA debe llevar un registro actualizado de los procedimientos efectuados, el que será remitido a la Dirección de Planificación del SILAIS respectivo mensualmente.
6. Los profesionales que realicen TRA debe contar con entrenamiento para este procedimiento y tener un título debidamente registrado en el Ministerio de Salud, de caso contrario se aplica las leyes correspondientes.
7. Toda pareja con problema de fertilidad puede solicitar una TRA de acuerdo al diagnóstico médico, que incluya una evaluación psicológica previa.
8. Las TRA sólo pueden llevarse a cabo cuando no supongan riesgo grave para la salud de la mujer o de la posible descendencia.
9. La TRA deberá contar con el consentimiento informado debidamente firmado por la pareja involucrada.
10. El funcionamiento de los Bancos de gametos se regirá por la Ley de la Materia y Normativa correspondiente.
11. Los gametos podrán crioconservarse en Bancos de gametos autorizados, como máximo cinco años.

12. Las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) incluyen:
  - a. Inseminación artificial homóloga.
  - b. Inseminación artificial heteróloga.
  - c. Fertilización in vitro con transferencia de embriones clásica e ICSI.
  - d. Transferencia intratubarica de gametos (GIFT).
  - e. Transferencia intratubarica de cigoto (ZIFT).
13. La mujer receptora o la pareja podrá pedir que se suspenda la TRA en cualquier momento, debiendo atenderse su petición; siempre y cuando no se haya realizado la fecundación independientemente de la técnica.
14. Los casos especiales, que no estén contemplados en esta Normativa deben ser evaluados y consultados al Ministerio de Salud a través de la Dirección General de Regulación Sanitaria, quien conformará una comisión especial para tratar el tema.
15. La comisión mencionada en el numeral 14, estará constituida por un representante de la Dirección General de Regulación Sanitaria, un representante de la Dirección de Extensión y Calidad de la Atención, un representante de Asesoría Legal, un representante del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia, un representante del Hospital de la Mujer “Bertha Calderón Roque”, un representante del Hospital José Dolores Fletes Valle y Dos expertos en el tema.

## **B. ESPECÍFICAS:**

1. Esta normativa cuenta con un Manual de procedimiento para Inseminación Artificial (homóloga y heteróloga) y Fertilización in vitro con transferencia de embriones (clásica e ICSI).
2. En relación a la inseminación artificial se establece la homóloga y heteróloga (con donante) que:
  - a. Los establecimiento que realicen esta técnica deben contar como mínimo con las siguientes áreas:
    - i. Consultorio ginecológico.
    - ii. Cuarto de recolección de semen.
    - iii. Área, mobiliario y equipo para capacitación espermática (centrífuga de 300 G, microscopio, gradientes de concentración para capacitación espermática, refrigeradora para guardar medios, tubos de ensayos cónicos, catéteres para inseminación, material de reposición periódica, baño maría o baño seco, cánulas para inseminación artificial).
    - iv. Sala de espera.

- b. Los siguientes acápite aplican únicamente para inseminación heteróloga:
  - i. Condiciones para la inseminación heteróloga (con donante):
    - 1. Mutuo acuerdo de la pareja.
    - 2. Alteraciones de los parámetros seminales (recuento total de espermatozoides motiles menor de 10,000.000 x cm<sup>3</sup>) en el varón de la pareja y no existan las condiciones para realizar la fertilización in vitro.
  - ii. Criterios para selección de donante para inseminación heteróloga:
    - 1. Mantener el anonimato del donante, así mismo el donante no debe conocer la identidad de la pareja receptora cuando no exista vínculo familiar entre ellos.
    - 2. Se permite la donación abierta o conocida cuando el donante y la pareja receptora tienen vínculo familiares o de amistad, siempre y cuando exista un acuerdo mutuo por escrito y se establezcan los derechos legales a la pareja.
    - 3. Cumplir con los exámenes contemplados en el protocolo para ser un donante.
    - 4. En caso que el semen provenga de Bancos extranjeros se debe obtener la autorización correspondiente de la Dirección de Regulación Sanitaria del Ministerio de Salud.
- 3. En relación a la Fertilización in vitro con transferencia de embriones (FIVTE) se establece que:
  - a. Los establecimientos que realicen esta técnica deben contar como mínimo con las siguientes áreas:
    - i. Cuarto de recuperación.
    - ii. Cuarto de procedimientos con características de sala de operaciones.
    - iii. Laboratorio de embriología.
    - iv. Cuarto de recolección de semen.
    - v. Sala de espera.
    - vi. Consultorio médico.
  - b. Cuando se realice una fertilización invitro con transferencia de embriones se fecundará un máximo de tres ovocitos que puedan ser transferidos a la mujer en el mismo ciclo.
  - c. Se autoriza la transferencia de un máximo de tres preembriones en una mujer en cada ciclo.
  - d. No se permiten la manipulación genética del o los embriones, también está prohibido la experimentación con los mismos.
  - e. Queda absolutamente prohibido comerciar con células germinales.
  - f. Tener en cuenta las circunstancias particulares de la mujer: edad, historial clínico o las posibles causas de esterilidad.

- g. En relación a la fertilización in vitro con ovocitos donados se establece:
  - i. Será permitido en parejas heterosexuales.
  - ii. Se permite en los siguientes casos:
    - 1. Mujeres que no tienen ovarios o con falla ovárica de cualquier etiología.
    - 2. Mujeres portadora de enfermedades graves ligadas al cromosomas o genes.
  - iii. Los criterios para selección de donación de óvulos:
    - 1. Mantener el anonimato de la donante, así mismo la donante no debe conocer la identidad de la pareja receptora cuando no exista vínculo familiar entre ellos.
    - 2. Se permite la donación abierta o conocida cuando la donante y la pareja receptora tienen vínculos familiares o de amistad, siempre y cuando exista un acuerdo mutuo por escrito y se establezcan los derechos legales a la pareja.
  - iv. La mujer receptora debe de tener una edad máxima de 45 años y estar libre de enfermedades que la conlleven a un alto riesgo obstétrico.

**MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA INSEMINACION ARTIFICIAL  
HOMOLOGA Y HETEROLOGA (DONANTE)**

## I. DEFINICION

Se define como el procedimiento mediante el cual se depositan los espermatozoides de forma no natural en diferentes segmentos del aparato reproductor femenino para acortar la distancia que deben recorrer éstos hasta llegar al ovocito con el objetivo de conseguir una gestación. Existen varios tipos de inseminación dependiendo del donde se deje el semen capacitado: intracervical, intrauterina, intratubárica, intraperitoenal, e intrafolicular. La inseminación intrauterina (IIU) es la más utilizada por su elevada tasa de gestación con respecto a las otras. El resto de los tipos de inseminación se utilizan solo en casos en los que es imposible la canalización del cérvix.

Inicialmente la Inseminación Artificial se practicaba con semen completo pero la demostración de que el plasma seminal inhibe la capacitación espermática, obligó a emplear técnicas de **recuperación y capacitación** hoy imprescindible e indiscutible de tal forma que el uso del semen total debe quedar abandonado. Además el plasma seminal nunca entra dentro de la cavidad uterina durante una relación natural por lo que debe ser separado de los espermatozoides y eliminado, ya que si se introdujera dentro del útero, produciría fuertes contracciones, e incluso podrían aparecer infecciones o reacciones anafilácticas.

Existen dos tipos, dependiendo del origen del semen:

- 1.- Inseminación Artificial homóloga (IAH).
- 2.- Inseminación Artificial con semen de donante (IAD).

## II. REQUISITOS PARA SU INDICACIÓN

La Inseminación Artificial es una técnica que vamos a indicar a una pareja infértil siempre y cuando cumpla los siguientes requisitos:

1.- Trompas de Falopio permeables. Estudiadas mediante:

- Histerosonosalpingografía, o
- Laparoscopia, o
- Faloposcopia.

2.- Recuento de espermatozoides móviles (**REM**)  $> 10 \times 10^6$  espermatozoides móviles (A+B): son muestras destinadas a **inseminación artificial** y con una teratozoospermia no inferior a un 4% (criterio estricto de Kruger).

Además, habrá que valorar otros factores, como la edad de la paciente y el tiempo de esterilidad previo, o si tiene como antecedentes el haber realizado 4 IAH ó 6 IAD en otros centros, ya que entonces debe considerarse a la pareja candidata a Fecundación In Vitro.

### III. INDICACIONES:

#### A. Inseminación Artificial Homóloga (IAH).

##### 1. Infertilidad de origen masculino:

- i. **Incapacidad de depositar correctamente el semen en la vagina:** como en los casos de hipospadias, eyaculación retrógrada, impotencia de origen neurológico, casos de disfunciones sexuales como vaginismo, eyaculación precoz o disfunción eréctil.
- ii. **Alteraciones en los parámetros seminales:**
  - a. Oligozoospermia (recuento total de espermatozoides inferior a 20 millones y mayor a 10 millones).
  - b. Astenozoospermia (menos de la mitad de los espermatozoides con movilidad o menos del 25% con buena progresión rectilínea tipo A).
  - c. Teratozoospermia (porcentaje de espermatozoides con alteraciones morfológicas, por encima del 85%).

El éxito de la técnica es directamente proporcional a la calidad del semen, siendo bueno el pronóstico cuando después de capacitar la muestra de semen podemos recuperar al menos 10 millones de espermatozoides normales y con buena progresión rectilínea.

- iii. **Casos de criopreservación:** todos aquellos en el que se pretende o quiere con criopreservar el esperma para un posible uso futuro después de una orquiectomía necesaria para tratar la neoplasia testicular, quimioterapia, radioterapia, terapia inmunosupresiva.

##### 2. Infertilidad de origen femenino:

- i. **Disfunción ovulatoria:** incluye anovulación, insuficiencia del cuerpo lúteo, alteraciones en la fase folicular, y el Síndrome de Ovarios Poliquísticos. Se debe corregir la disfunción ovulatoria con el tratamiento para desarrollo folicular. En estos casos mejores tasas de embarazos cuando se asocia a inseminación artificial.
- ii. **Factor cervical:** alteraciones en la funcionalidad del cérvix, así como en las características del moco cervical, pueden ejercer una barrera para el paso de los espermatozoides. Con la IAH, se salva el obstáculo y se consigue que un mayor número de espermatozoides lleguen a la cavidad uterina.
- iii. **Endometriosis leve (Grado I-II de la AFS):** cuando aún está intacta la anatomía pélvica.
- iv. **Factor inmunológico:** presencia de anticuerpos anti-espermatozoides en el moco cervical o en el plasma seminal que dificultan la fecundación. Si la tasa de anticuerpos es muy elevada, se aconseja optar por técnicas de fecundación in-Vitro con micro inyección espermática intra citoplasmática (FIV – ICSI).
- v. **Infertilidad de origen desconocido:** aquellos casos donde después de haber sido estudiado no se identifican causa aparente de infertilidad pero

no se produce el embarazo de forma natural. Es un diagnóstico de exclusión al que se llega cuando el estudio básico de infertilidad es normal y afecta aproximadamente al 15% de las parejas. Mediante la realización de Inseminación Artificial intrauterina se consigue gestación en muchos casos.

## **B. Inseminación Artificial con semen de donante (IAD):**

La Inseminación Artificial con semen de Donante (IAD) es un Tratamiento de Reproducción Asistida que se lleva a cabo cuando no se pueden utilizar espermatozoides de la pareja para conseguir el embarazo y su compañera es fértil.

### **1. Infertilidad masculina grave:**

- i. Azoospermia secretora confirmada (se le realizó al varón biopsia testicular).
- ii. Varón infértil debido a una vasectomía y no desea someterse a una corrección quirúrgica, o si ésta no provocó resultados adecuados e igualmente no desea ICSI con aspiración del epidídimo/testículo o si éste no provocó resultados adecuados.
- iii. Fallo de ICSI en casos de factor masculino muy patológico (fallos de fecundación repetidos)
- iv. Cuando el varón tiene alguna anomalía hereditaria conocida.
- v. Si el varón presenta una disfunción de eyaculación intratable secundaria a una enfermedad, trauma o medicación. Se ofrecerá como alternativa ICSI con aspiración del epidídimo/testículo como alternativa.

**2. Enfermedades de transmisión sexual:** existen pacientes en los que sí hay espermatozoides e incluso con movilidad y en mayor o menor cantidad, pero todos ellos o en una gran mayoría, podrían transmitir algún tipo de enfermedad (Hepatitis C, VIH) al feto en el caso de que se produjera un embarazo.

**3. Alteración mutagénica** potencial en el esperma del varón debido a exposición a radiación iónica, quimioterapia u otros agentes nocivos.

En la actualidad, los avances en el diagnóstico del factor masculino, en su tratamiento y sobre todo en las técnicas de fecundación asistida, como la ICSI hacen que cada vez se tenga que recurrir con menos frecuencia a la utilización de semen de donante. Sin embargo hay ocasiones en las que es imposible conseguir espermatozoides, ni siquiera tras un tratamiento médico del varón o incluso tras realizar una aspiración del epidídimo o una biopsia testicular para aspirar espermatozoides.

## **IV. ESTUDIO DE LOS DONANTES**

A. Procedencia de semen donado:

- i. Donantes anónimos: cuando no existe vínculo familiar o de amistad.



- ii. Donantes abiertos o conocidos: Se permite la donación abierta o conocida cuando el donante y la pareja receptora tienen vínculo familiares o de amistad, siempre y cuando exista un acuerdo mutuo por escrito y se establezcan los derechos legales a la pareja.

El semen puede proceder de bancos o bien semen fresco (que no se almacena en banco) específico para el procedimiento.

B. Estudios del donante:

- i. Realizar un reconocimiento médico que incluye su historia clínica completa que incluya antecedentes personales, familiares y un examen físico.
- ii. En primer lugar se solicitan dos muestras de semen para valorar calidad y la resistencia a la congelación de los espermatozoides en caso que se almacene en bancos. Ver Normativa.
- iii. Estudio a nivel sanguíneo para la detección de enfermedades de transmisión sexual: hepatitis B y C, sífilis, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, citomegalovirus, chlamydia, virus del herpes I y II, grupo sanguíneo y Rh.
- iv. Para los casos de donación para bancos: no se permite un mismo donante en más de diez embarazos.

C. Selección de la muestra procedente de banco: Para escoger al donante más apropiado a cada pareja receptora, esta última debe rellenar un formulario con sus características físicas, grupo sanguíneo y Rh, etc. Se deberá cumplir la Normativa de Banco de Semen.

## V. FASES DEL PROCEDIMIENTO DE INSEMINACION ARTIFICIAL

Estás incluyen:

- A. Fase clínica de Estimulación Ovárica Controlada.
- B. Inducción de la ruptura folicular y programación del momento de la inseminación o inseminaciones seriadas.
- C. Capacitación del semen.
- D. Técnica de Inseminación Intrauterina.
- E. Soporte de fase lútea.
- F. Número máximo de ciclos a realizar.

**A. Estimulación Ovárica Controlada:** implica el uso de medicamento apropiados para obtener un desarrollo folicular múltiple de forma controlada. El crecimiento folicular se debe visualizar principalmente con ultrasonografía transvaginal, y el médico tratante se puede apoyar con mediciones de estradiol sérico.

La estimulación se debe apegar a los protocolos existentes, tomando en cuenta la edad de la paciente, la causa de infertilidad y tratando de evitar siempre el síndrome de hiperestimulación ovárica.

### **B. Inducción de la Ruptura folicular y Momento de la Inseminación:**

- El éxito de Inseminación Artificial depende de la precisión con que se decida el momento exacto en el que se van a depositar los espermatozoides capacitados en el fondo de la cavidad uterina.
- La capacidad del ovocito para ser fertilizado se estima en aproximadamente 12 horas (ventana de fertilización). Si los espermatozoides llegan al lugar donde se encuentra el óvulo demasiado pronto, cuando éste llegue, los espermatozoides ya no tendrán capacidad de fecundar. De la misma manera, si los espermatozoides alcanzan el óvulo mucho después de que se produzca la ovulación, tampoco se podrá producir la fecundación por los cambios que ya se habrán producido en el gameto femenino.
- Una vez que mediante control sonográfico el tamaño folicular alcanza un promedio de 18 mm se procede a la administración de 5,000 a 10,000 unidades de hormona gonadatropina humana (hCG) y se programará una o dos inseminaciones entre las 24 y 40 horas posteriores según criterio del médico tratante.

### **C. Capacitación y Recuperación Espermática (Preparación del Semen para Inseminación Artificial):**

- La preparación del semen se lleva a cabo una hora antes de la inseminación en el lugar definido (ver Normativa). Mediante ella vamos a conseguir la recuperación los espermatozoides con mejor movilidad y además, conseguir una adecuada capacitación. En la capacitación se inducen aquellos cambios funcionales y estructurales que deben sufrir los espermatozoides para adquirir la capacidad de poder fecundar el ovocito.
- En la capacitación "*in vivo*" los espermatozoides migran por el moco cervical, al tiempo que escapan de los factores inhibidores que existen en el plasma seminal. Además el moco cervical permite la eliminación del colesterol. La membrana plasmática sufre una reordenación lipídica, que consiste en una externalización de fosfolípidos y la eliminación de colesterol. La **hiperactivación** consiste en la fosforilación de los residuos tiroideos en las proteínas flagelares, con lo que se produce un cambio en el patrón en la movilidad espermática. Mediante estos cambios los espermatozoides adquieren la capacidad fecundante.
- En los procesos de capacitación "*in vitro*", que se llevan a cabo en el laboratorio, se intentan imitar todos los pasos y cambios que sufren los espermatozoides en la capacitación "*in vivo*"
  - ✓ **Separación** previa de los espermatozoides con eliminación del plasma seminal mediante centrifugaciones. En estos pasos de centrifugación se usan medios de lavados (que son los líquidos fabricados y utilizados para este procedimiento).

- ✓ **Incubación:** se hace en medio de cultivo adecuado con una concentración suficiente de iones de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{CO}_3\text{H}^-$  y de HSA (Human Serum Albumin) que permitan la supervivencia y la capacitación espermática. Se puede utilizar incubadora, o bien baño María o baño seco en el caso de no contar con incubadora.
- ✓ Existen diversas técnicas de capacitación y recuperación espermática, entre ellas se encuentran:
  - Swin-up: se considera la mas recomendada.
  - Gradientes de densidad.
- ✓ Tras la incubación de los espermatozoides tanto por Swim-up o por gradientes de densidad el valor de la recuperación de espermatozoides móviles, o REM, determina qué técnica de reproducción debe seguir esta muestra:
  - **REM > 10 x 10<sup>6</sup>** espermatozoides móviles (A+B): son muestras destinadas a **inseminación artificial**.
  - **REM 5-10 x 10<sup>6</sup>** espermatozoides móviles (A+B): son muestras que deben examinarse para observar el porcentaje de espermatozoides con morfología normal presentes y decidir en función de este porcentaje:
    - **Formas normales > 30%:** muestras para **inseminación artificial**.
    - **Formas normales < 30%:** muestra para **FIV**.
  - **REM < 5 x 10<sup>6</sup>** espermatozoides móviles (A+B): son muestras destinadas a **ICSI**.
- ✓ El último paso que se realiza en el área definida en la normativa con respecto a la Inseminación Artificial, es cargar la muestra ya capacitada en la cánula de inseminación. La muestra se recoge mediante una jeringuilla, del pellet resuspendido en caso de gradientes de densidad y del sobrenadante en caso de swim-up, y posteriormente se acopla directamente a la cánula de inseminación.

**D. Técnica de Inseminación Intrauterina:** es el médico capacitado para este procedimiento, el encargado de introducir por el cuello del útero la cánula y depositar los espermatozoides en el fondo uterino. En posición ginecológica y previa colocación de espéculo y limpieza del flujo vaginal del exocervix con solución salina, debe utilizarse un catéter o cánula estéril para inseminación intrauterina estándar o con memoria. De preferencia y siempre que se pueda, la inseminación se realizará eco guiada, con ultrasonografía pélvica suprapúbica para mejor visualización del procedimiento. La inyección de la muestra debe realizarse de forma rápida dentro del útero, retirando la cánula lentamente. La paciente permanecerá acostada durante 30 minutos tratando de evitar el reflujo de la muestra inseminada.

**E. Soporte de Fase Lútea:** se debe dar un soporte de fase lútea de 200 mg/24 horas de progesterona natural micronizada vía vaginal, comenzando la noche de la primera o segunda inseminación hasta el día de la prueba de

embarazo y prolongando este soporte hasta la semana 10 de embarazo, si éste se consigue.

**F. Número máximo de ciclos a realizar:** según consenso generalizado deben realizarse un máximo de cuatro ciclos de IAH. Si no se consigue la gestación, pasamos a un tratamiento de FIV/ICSI por "fallo de IAH". El 92% de los embarazos se consiguen en uno de los cuatro primeros ciclos de IAH.

**Tabla 1. Técnica de Recuperación y Capacitación Espermática**

Técnica	Descripción	Ventajas	Desventajas
<p><b>Swin-up</b></p>	<p>Se basa en el principio de que solamente los espermatozoides móviles son capaces de ascender en un sobrenadante.</p> <p>Se solicita la muestra directamente por masturbación en recipiente estéril. La capacitación del semen no deberá empezar antes de 30 minutos de la obtención de la muestra, tiempo necesario para la total licuefacción del eyaculado.</p> <p>Al eyaculado se añade medio de lavado en la proporción 1:1. Tras homogeneizar la muestra se centrifuga durante 20 minutos a 300 atmósferas. Se retira entonces el sobrenadante por decantación, quedando en el fondo el pellet o sedimento seminal.</p> <p>Inmediatamente se le añade 0.6 mL de medio de incubación, muy lentamente, dejándolo resbalar por la pared del tubo para no romper el sedimento espermático.</p> <p>De esta manera, y sin homogeneizar, se introduce el tubo preparado en la incubadora a 37°C y un 6% de CO<sub>2</sub>, con posición ligeramente inclinada y se deja en reposo durante aproximadamente 30-60 minutos. En este periodo se produce el ascenso de los espermatozoides móviles y capacitados hasta el sobrenadante.</p> <p>De la porción más superficial de este sobrenadante se recogen 0.5 ml que serán utilizados para la inseminación (Fig. 1). Se debe comprobar la calidad de la recuperación mediante la realización de una REM (Recuperación de Espermatozoides Móviles).</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Técnica sencilla y económica.</li> <li>- Buena recuperación en muestras oligoastenozoospermicas.</li> <li>- Mayor recuperación de espermatozoides móviles progresivos y con buena morfología.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Posible daño a los espermatozoides por leucocitos ROS.</li> <li>- Mayor daño mitocondrial y del ADN.</li> </ul>
<p><b>Gradientes de densidad</b></p>	<p>El fundamento radica en que sólo los espermatozoides mejores pueden vencer la dificultad que representan los gradientes de densidad y llegar hasta el fondo del tubo donde serán recogidos con una pipeta. (Fig. 2).</p> <p>Se preparan 2 ó 3 tubos cónicos, según volumen de semen. En cada tubo ponemos primero el gradiente de mayor densidad, recubriendo la mayor parte del interior y seguidamente resbalando por la superficie del tubo, dejamos caer lentamente el gradiente de menor densidad para evitar romper la interfase entre ambos.</p> <p>Repartimos el volumen de semen (1mL) en los tubos cónicos encima del gradiente de menor densidad. A continuación se centrifuga a 300 atmósferas durante 15-20 minutos, y posteriormente se rescata con una pipeta el "pellet" obtenido, llevándolo a otro tubo donde es lavado dos veces con medios adecuados en proporción 1:5 mediante centrifugados durante 5 minutos a 300 atmósferas. Durante estos lavados se elimina el sobrenadante y se resuspende el "pellet".</p> <p>Tras el segundo lavado se resuspende el "pellet" nuevamente con 0,5mL de medio de cultivo y se deja en el incubador o baño seco hasta el momento de realizar la inseminación.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Conseguimos una mejor recuperación de espermatozoides móviles en muestras normozoospermicas.</li> <li>- Muestras más limpias por que los leucocitos y el detritus son eliminados.</li> <li>- Menor cantidad de leucocito ROS (menor daño mitocondrial y del DNA).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Menor recuperación espermatozoides móviles progresivos en malas muestras.</li> <li>- Requiere más tiempo y una mayor inversión económica.</li> <li>- Existe un potencial riesgo de endotoxinas, aunque sea bajo.</li> </ul>

Figura 1

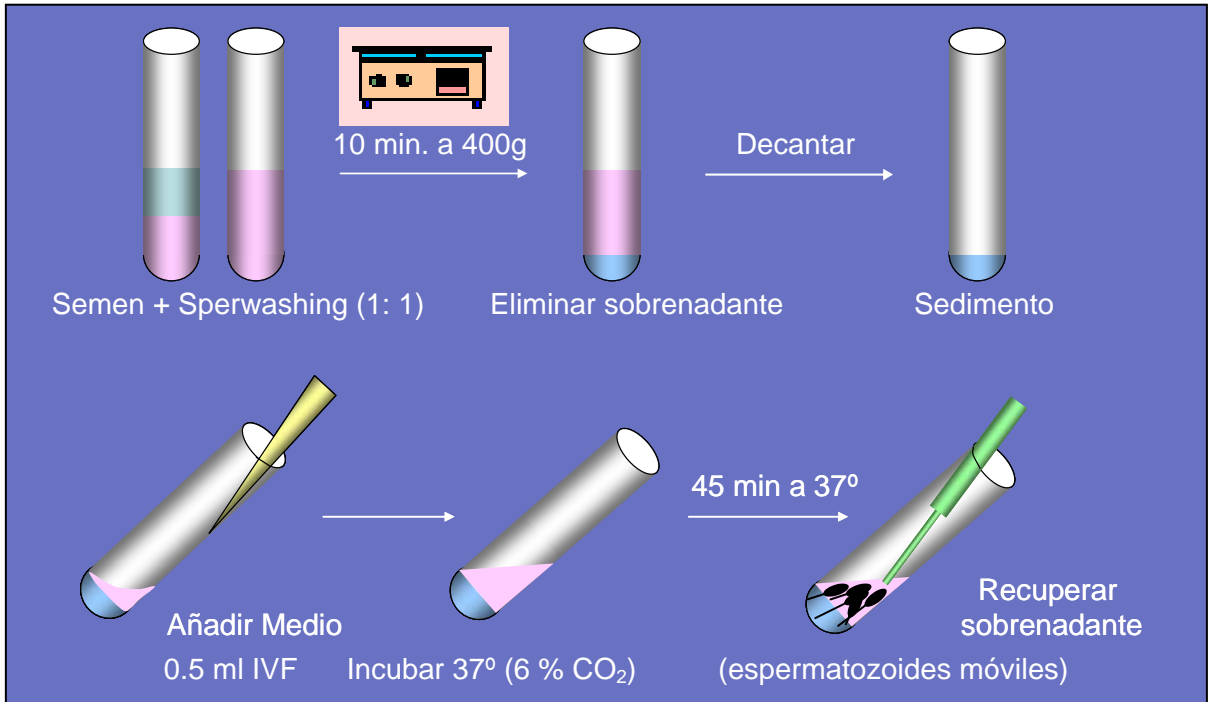
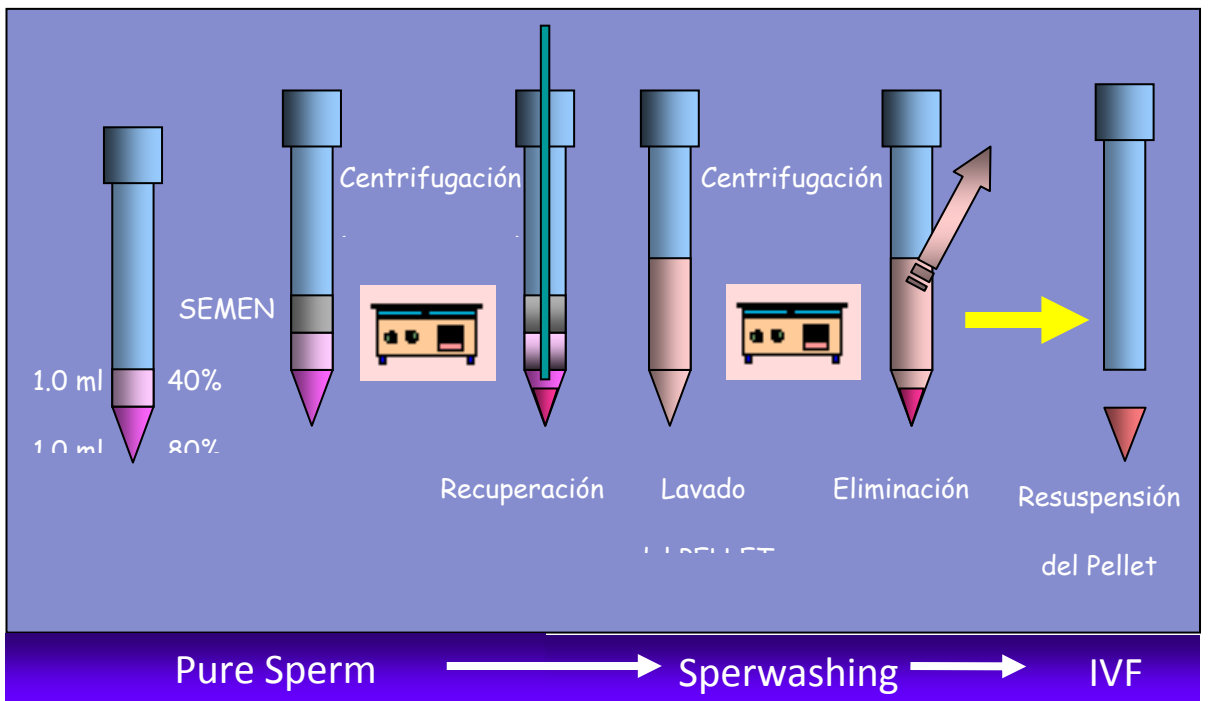


Figura 2



**MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA FERTILIZACIÓN IN  
VITRO CON TRANSFERENCIA DE EMBRIONES**

## I. INDICACIONES DE FERTILIZACIÓN INVITRO Y TRASFERENCIA EMBRIONARIA

### A. Factores Femeninos:

1. **Factor Tubárico de Infertilidad:** trompas de Falopio obstruidas o dañadas, las cuales pueden ser causadas por enfermedad inflamatoria pélvica o cirugía reproductiva previa.
  - a. Patología tubárica no susceptible de solucionar con microcirugía.
  - b. Casos de función tubárica deficiente, sin obstrucción, luego de un periodo de infertilidad de 2 ó más años con tratamientos convencionales. Dependiendo de la edad de la mujer, la FIV puede aplicarse luego de un periodo más corto de infertilidad.
  - c. La obstrucción tubárica bilateral de las trompas de Falopio de tipo infeccioso y especialmente iatrogénica para esterilización, En todos estos casos se debe considerar la FIV como terapéutica primaria, dado el mal pronóstico con otras alternativas.
2. **Endometriosis Pélvica:** extensas consideraciones al respecto se analizan sobre Endometriosis Pélvica e Infertilidad. La fisiopatología subyacente de la endometriosis asociada a infertilidad es compleja y puede involucrar una combinación de factores que incluyen la distorsión de la anatomía pélvica por presencia de procesos adherenciales, mayor producción de sustancias prostanoideas e incrementada actividad peritoneal de macrófagos, entre otras. Las estrategias terapéuticas estándares incluyen la ablación quirúrgica a través de varias técnicas y la supresión de la producción hormonal con varios agentes hormonales: 7 agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas ( $\alpha$ -GnRH), danazol y progestágenos, fundamentalmente. Cuando estos tratamientos convencionales han fallado, la FIV ofrece tasas exitosas de embarazo similares a las obtenidas en aquellas pacientes con infertilidad tubárica.
3. **Factor Cervical/ Infertilidad Inmunológica:** la presencia de factor inmunológico puede establecerse a través de una prueba postcoital francamente anormal, astenozoospermia marcada en el espermiograma rutinario, luego de reversión quirúrgica de pacientes vasectomizados, o por la presencia de anticuerpos antispermatozoides identificados en el semen y/o en los tractos reproductivos masculino y femenino.



- a. Las principales opciones terapéuticas en estos casos incluyen el tratamiento de infecciones coexistentes del aparato genital, IUI asociada con HOC y la terapia inmunosupresiva. La eficacia de esta última con el uso de corticoesteroides no está bien establecida, pero sus efectos secundarios y riesgos pueden llegar a ser significativos.
- b. Luego de dos años de infertilidad la FIV debe considerarse y aún más temprano en mujeres mayores de 35 años. Ante la presencia de niveles significativos de anticuerpos antiespermatozoides circulantes en la paciente, una fuente de proteína que no sea el suero materno debe utilizarse en la suplementación del medio fertilizante.

#### **4. Otras Indicaciones:**

- a. Exposición in útero al Dietilestilbestrol (DES):
  - i. Su prescripción durante el embarazo fue abandonada en 1971 debido al elevado riesgo de aparición de adenocarcinoma de células claras en el cérvix y vagina de los nacidos vivos de sexo femenino. Su empleo indiscriminado antes de ese año ha resultado en la presencia de alteraciones en el potencial reproductivo de aquellas mujeres que no desarrollaron la neoplasia, y que se ha demostrado se ven afectadas de un mayor riesgo de pérdida gestacional, aborto recurrente, embarazo ectópico, incompetencia cervical y labor pre-término.
  - ii. El grado de riesgo está en relación proporcional a severidad de anomalías uterinas identificables con la SG, histerosonografía o histeroscopia diagnóstica.
  - iii. Las tasas de embarazos clínicos con la FIV en estas pacientes son similares a aquellas obtenidas en mujeres con patología tubárica. Si se logra el embarazo es mandatorio en ellas un seguimiento cauteloso para descartar embarazo ectópico.
- b. Esterilidad Multifactorial. Se trata de parejas portadoras de varios y simultáneos factores femeninos y masculinos de infertilidad que imposibilitan el proceso reproductivo, y en los cuales han fracasado previamente varios intentos con tratamientos convencionales.
- c. Alteraciones Hormonales. Pacientes anovulatorias que luego de varios ciclos de tratamiento con diversos esquemas o protocolos de inducción de la ovulación, no han alcanzado el éxito.

#### **B. Factor de Infertilidad Masculino:**

En esta causa se incluye la disminución del conteo de espermatozoides y obstrucción. Una detenida evaluación de la pareja infértil puede determinar la presencia de factor masculino primario en aproximadamente el 40% de casos.

- a. Los parámetros seminales normales en el espermiograma convencional incluyen concentración de espermatozoides mayor de  $20 \times 10^6/\text{mL}$ , motilidad tipo A del 25% o motilidad progresiva (A+B) superior a 50% y más de 14% de morfología normal.
- b. Las anomalías en el análisis seminal pueden ser únicas o más frecuentemente, múltiples: oligozoospermia, astenozoospermia, teratozoospermia, fundamentalmente, y sus respectivas combinaciones.
- c. En los casos de factor masculino leve o moderado la inseminación intrauterina (IUI) con semen preparado, junto a un esquema de hiperestimulación ovárica controlada (HOC) puede ser la solución.
  1. Total de espermatozoides móviles (TEM)  $< 7 \times 10^6$ : el tratamiento de elección es la inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI).
  2. TEM  $> 8 \times 10^6$  y  $< 15 \times 10^6$ : FIV en casos de infertilidad de 2 o más años de duración, con previos ciclos fallidos de IUI.
  3. TEM  $> 15 \times 10^6$ : conducta similar a la de infertilidad inexplicada.

### **C. Infertilidad Inexplicada o Idiopática:**

Es por definición, un diagnóstico de exclusión en aproximadamente el 10% de parejas infértiles evaluadas en las cuales no es posible identificar una etiología específica. Una batería diagnóstica completa que generalmente incluye, como mínimo: espermiograma, histerosalpingografía (HSG) (con o sin laparoscopia-histerosonografía o histeroscopia), y documentada detección de la ovulación, no encuentra factor de infertilidad primario, solo o asociado.

- a. Pueden someterse a ciclos de IUI con HOC antes de considerar la aplicación de fertilización in Vitro, en cuyo caso las tasas exitosas de embarazo son buenas, inclusive superiores a las conseguidas en pacientes portadoras de factor tubárico puro de infertilidad.
- b. Adicionalmente, la FIV en estos casos puede servir como método diagnóstico, dado que defectos intrínsecos de los gametos pueden manifestarse a través de una tasa de fertilización disminuida, pobre calidad morfológica del ovocito o desarrollo embrionario anormal como fenómeno de clivaje retardado o excesiva fragmentación.
- c. En los principales reportes estadísticos (8) ocupa el tercer lugar ente las indicaciones de la FIV y deber ser aplicada en casos de infertilidad inexplicada de duración de 3 o más

años, o más tempranamente si se trata de mujeres mayores de 35 años.

## **II. SITUACIONES PUEDE IMPEDIR EL ESTABLECIMIENTO DEL EMBARAZO:**

- a. El desarrollo de los folículos y el tiempo de ovulación es impredecible y la ovulación puede ocurrir sin signo alguno o por el contrario puede no ocurrir en el ciclo monitoreado. Esto impide cualquier posibilidad de obtener óvulos viables.
- b. En raros casos no se obtiene ningún óvulo.
- c. Los óvulos obtenidos pueden no ser normales o no estar maduros.
- d. Los resultados de los exámenes de sangre y ultrasonido y/u orina muestran que los ovarios han tenido muy poca o mucha estimulación, y no es aconsejable realizar la extracción de óvulos.
- e. El ultrasonido demuestra que no hay folículos, o sólo hay un folículo desarrollándose.
- f. Por cualquier razón el esposo es incapaz de producir las muestras de semen necesarias.
- g. La fertilización normal, o el desarrollo adecuado de los embriones, o la implantación del embrión a la pared uterina no ocurre.
- h. Los óvulos fertilizados no continúan desarrollándose como embriones.
- i. El (los) embrión (es) no se desarrolla normalmente.
- j. Cualquier otra circunstancia imprevista que impida que se lleve a cabo cualquier paso de procedimientos en el laboratorio, impidiendo que se obtenga el embarazo.

## **III. RIESGOS Y COMPLICACIONES DEL PROCEDIMIENTO:** La fecundación in vitro exige un compromiso físico, emocional, financiero y de tiempo considerable.

1. Hematomas por las inyecciones repetitivas. Muchos medicamentos para la FIV se tienen que administrar por medio de inyección, con frecuencia varias veces al día.
2. Síndrome de hiperestimulación ovárica (OHSS, por sus siglas en inglés), que causa una acumulación de líquido en el abdomen y el tórax. Los síntomas comprenden dolor y distensión abdominal, aumento rápido de peso (10 libras en 3 a 5 días), disminución de la micción a pesar de tomar mucho líquido, náuseas, vómitos y dificultad para respirar. Los casos leves se pueden tratar con reposo en cama, mientras que los casos más graves requieren drenaje de líquido con una aguja.
3. Los estudios médicos hasta la fecha han concluido que los fármacos para la fertilidad no están ligados al cáncer de ovario.

4. Los riesgos del retiro del óvulo comprenden reacciones a la anestesia, sangrado, infección y daño a las estructuras que rodean los ovarios, incluyendo el intestino y la vejiga.
5. Existe un riesgo de embarazos múltiples cuando se coloca más de un embrión en el útero. El hecho de llevar más de un bebé a la vez incrementa el riesgo de parto prematuro y bajo peso al nacer; sin embargo, incluso un solo bebé nacido de una fecundación in vitro corre un mayor riesgo de ser prematuro y tener bajo peso al nacer. No está claro si la FIV incrementa el riesgo de defectos o anomalías congénitas. Los embarazos múltiples pueden requerir hospitalización prolongada de la madre y/o los bebés como también admisiones adicionales en el hospital.
6. Embarazo Ectópico: existe un riesgo superior al 3%, en relación a los embarazos espontáneos.
7. Después de la extracción de los óvulos puede que sienta molestias moderadas o agudas tales como:
  - i. Sangrado vaginal.
  - ii. Malestar.
  - iii. Infección genital.
  - iv. Sangre en la orina o sangrado de los ovarios los cuales pueden requerir excepcionalmente tratamiento quirúrgico.
  - v. Punción de un asa intestinal u otra parte de la anatomía.
  - vi. Torsión ovárica.
  - vii. Los propios de la anestesia.
8. En la mujer de edad avanzada se incrementan los riesgos de complicaciones durante el embarazo y para la descendencia.
9. Riesgos de transmisión de enfermedades de padres a hijos:
  - a. Riesgos psicológicos: se describe en ocasiones aparición de trastornos psicológicos significativos como:
    - i. Síntomas de ansiedad y síntomas depresivos, tanto en el hombre como en la mujer.
    - ii. En algunos casos, pueden surgir dificultades en la relación de pareja (sexual y emocional).
    - iii. Niveles elevados de ansiedad en el período de espera entre la aplicación de la técnica y la confirmación de la consecución o no del embarazo, así como ante los fallos repetidos de la inseminación.

#### **IV. FASES DEL PROGRAMA DE FERTILIZACIÓN IN VITRO**

El programa de fertilización in Vitro y transferencia embrionaria consta de las siguientes fases o etapas:

- A. Fase clínica.
- B. Fase de recuperación ovocitaria.
- C. Fase de laboratorio de reproducción asistida.
- D. Fase de transferencia embrionaria.
- E. Control de la fase lútea y diagnóstico de embarazo.

**A. FASE CLÍNICA:** El procedimiento de obtención del gameto femenino se puede realizar en dos circunstancias:

**1. Ciclo Natural:** Se denomina al ciclo ovárico natural o espontáneo (sin aplicación de hormona gonadotropina coriónica, HCG) es posible la recuperación de un ovocito, desarrollo in Vitro de un embrión y su transferencia única a la cavidad uterina.

Tiene las siguientes desventajas:

- a. Bajas tasas de embarazo por la ineficacia clínica con la transferencia de un solo embrión.
- b. Requiere de una técnica de monitoreo o seguimiento minucioso para determinar el pico endógeno de la hormona luteinizante (LH) y, ocasionalmente, obliga a realizar la recuperación ovocitaria en horas fuera de trabajo.

**2. Hiperestimulación Ovárica Controlada:** consiste en la estimulación de un crecimiento folicular múltiple y sincronizado, obtención de varios ovocitos maduros y viables, disponibilidad de un mayor número de embriones para la transferencia intrauterina y/o intratubárica, circunstancias que se asocian a mayores posibilidades de lograr gestaciones exitosas.

a. Los esquemas y drogas más usualmente utilizados son los siguientes:

- i. Citrato de Clomifeno asociado a gonadotropina menopáusica humana u hormona foliculo estimulante urinaria.
- ii. Gonadotropina solas. Estos protocolos usan HMG-Massone, u-FSH o r-FSH, solas o combinadas a diferentes dosis, inicio y duración de la administración. Dado los inconvenientes que pueden acarrear como pico prematuro de LH endógena, cancelaciones, embarazos múltiples y síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO), también deben ser utilizadas con supresores del pico de LH.
- iii. Agonistas de la Hormona liberadora de gonadotropinas asociados a Gonadotropinas: HMG, u-FSH o r-FSH, solas o asociadas.
- iv. Protocolo largo de a-GnRH asociado a la r- FSH. La administración del agonista se inicia preferentemente en la fase lútea media del ciclo previo (día 21) a una dosis habitual de 1 mg/día (0.2 mL s.c) de acetato de Leuprolide hasta confirmar la supresión hipofisiaria y se continua mitad de dosis (0.5 mg/día o 0.1 mL s.c) durante todo el

período de estimulación ovárica hasta la administración de la HCG. Esta supresión se logra a los 10 a 14 días del uso del agonista, comprobando el estado de quiescencia ovárica por ultrasonido y determinación hormonales, para dar inicio a la administración r-FSH desde el día 3 ó 4 del ciclo en tratamiento a dosis individual variable e intramuscular (i.m.) según la edad de la paciente, cirugías ováricas anteriores, respuestas en ciclos previos, síndrome de ovarios poliquísticos, factores de riesgos para una HOC, etc.: < 25 años: 150 UI/día, entre 25 y 30 años: 150-225 UI/día, 31 a 35 años: 200-250 UI/día y > 36 años: 250-300 UI/día.

- v. En pacientes mayores de 38 años o con inadecuada respuesta previa a la HOC, se debe utilizar el protocolo de microdosis de a-GnRH (50 ug cada 12 horas) iniciado el tercer día de finalizada la toma de anticonceptivo oral durante 21 días en el ciclo previo (levonorgestrel, 0.25 mg; etinilestradiol, 0.05 mg) y la estimulación intramuscular con r-FSH a dosis de 300-450 UI/día después del quinto día. A partir del día 6 de la administración de la gonadotropina se inicia el seguimiento ecográfico transvaginal y determinaciones séricas de estradiol (E2) y progesterona (P4) para documentar el desarrollo y crecimiento de los folículos, niveles de esteroideogénesis ovárica y detectar un probable incremento en los niveles de P4 que pueden aparecer inmediatamente antes de que ocurra el pico endógeno de LH.
  - b. En todos los casos, independientemente del esquema utilizado, se administra vía IM 5000 UI o preferentemente 10000 UI de gonadotropina coriónica (HCG) cuando el crecimiento folicular alcance el diámetro requerido (17-18 mm), endometrio de al menos 8 mm de espesor con apariencia de halo trilaminar y niveles de estradiol de 100-150 pg/mL por cada folículo, con objeto de inducir la ruptura folicular aproximadamente 36 a 38 horas más tarde.
  - c. La mujer debe ser sometida a ecografías transvaginales regulares para examinar los ovarios y a exámenes de sangre para verificar los niveles hormonales.
  - d. Se han esgrimido varios argumentos en contra de la hiper estimulación ovárica:
    - i. Disconfort.
    - ii. Mayor necesidad de anestesia general para la recuperación ovocitaria.
    - iii. Período corto de recuperación antes de realizar otro intento y aparentemente una carga emocional mayor.
    - iv. Mayor incidencia de embarazos múltiples con sus conocidas complicaciones obstétricas y neonatales.
- 3. FASE DE RECUPERACIÓN OVOCITARIA:** Consiste en una cirugía menor, llamada aspiración folicular para retirar los óvulos del cuerpo de la mujer y es un procedimiento que normalmente se realiza en forma

ambulatoria en el cuarto de procedimiento. En raras ocasiones, se puede necesitar una laparoscopia pélvica para retirar los óvulos.

Aspiración folicular:

- a. La aspiración folicular para recuperación ovocitaria se lleva a cabo 34 a 36 horas de la administración de la dosis ovulatoria de HCG.
- b. El procedimiento se debe realizar en el cuarto de procedimientos con la paciente en posición de litotomía dorsal, Bajo sedación intravenosa y mediante punción transvaginal bajo guía ecográfica de los folículos ováricos, utilizando una aguja de aspiración descartable de 17g y de 300 mm de largo .
- c. Se aplica una presión negativa de 100-120 mmHg mediante un sistema o bomba de aspiración y el líquido aspirado se colecta en un tubo de 15 ml mantenido previamente a una temperatura de 37o C en baño seco.
- d. La succión se inicia el momento que la aguja punciona al folículo y se la mantiene hasta que éste se colapse totalmente, como se puede apreciar en el monitor del ecógrafo.
- e. El operador debe alinear la imagen sonográfica de varios folículos en el mismo plano para minimizar el número de punciones en el interior del ovario, iniciando por el de localización más superficial de tal manera de proseguir con los folículos adyacentes. La aguja de aspiración es lavada con medio de cultivo, antes del procedimiento y luego de ser retirada de la vagina para recuperar ovocitos retenidos en su interior y los tubos son transportados inmediatamente al laboratorio situado junto al cuarto de procedimientos.
- f. La asepsia y antisepsia del canal vaginal se la realiza con solución salina y al final de la aspiración se debe examinar detenidamente la probable presencia de lesiones sangrantes en las paredes vaginales y/o cuello uterino.
- g. Administrar rutinariamente antibióticos profilácticos perioperatoriamente para evitar el riesgo de infección local o pélvica doxiciclina 100 mg oral cada 12 horas por 3 a 4 días o azitromicina 1g oral como dosis única.
- h. Este tipo de recuperación ovocitaria presenta varias ventajas sobre la vía laparoscópica: facilidad de punción en casos de extensas adherencias pélvicas con inaccesibilidad ovárica, menor morbilidad, menor tiempo de exposición anestésica, eliminación del potencial riesgo de acidificación del líquido folicular por el bióxido de carbono utilizado para el neumoperitoneo y, finalmente, tiempo de recuperación más corto.

#### **4. FASE DE LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA:**

##### **A. Identificación y Clasificación de los ovocitos**

- i. En la estación de trabajo del laboratorio, que tiene instalada la cámara de flujo laminar, el contenido del tubo es inmediatamente vertido a un plato de reconocimiento donde se observan e identifican los oocitos para luego realizar un lavado de los mismos en un plato de cuatro

pozos que contiene medio. Esto se realiza bajo la lupa de un estéreomicroscopio de reconocimiento que posea una platina térmica que establezca la temperatura del procedimiento en todo momento. El Oocito aparece usualmente rodeado de una cantidad variable de células del cúmulus ophorus y de pequeños coágulos sanguíneos provenientes de la aguja de colección que deben ser delicadamente disecados con la punta de una aguja 23g. Cuando el CCO es localizado es necesario clasificar su grado de madurez en base a su volumen, densidad y condición de las circundantes células de la corona y cúmulus.

- ii. Si el ovocito es claramente visible este momento, la presencia del cuerpo polar nos indica que ha alcanzado el estadio de metafase II y de que, habitualmente se trata de un ovocito maduro y preovulatorio. Existen reportes relacionando la apariencia del CCO con el estado de madurez y capacidad de fertilización del ovocito.
- iii. La clasificación ovocitaria tomará en cuenta los siguientes parámetros: estado nuclear, características del ooplasma, espesor de la zona pelúcida, apariencia de las células de la corona radiata, grado de expansión del cúmulus ophorus y aspecto de las células de la granulosa, para, según ellos, agruparlos en el esquema señalado a continuación.
- iv. Diversos estadios de maduración del ovocito humano encontrados en el laboratorio de FIV:
  - Vesícula germinal: se trata de un ovocito muy inmaduro. No existe expansión de las células circundantes que se encuentran aparentemente dispuestas alrededor del ovocito. Un gran núcleo (la vesícula germinal) todavía se encuentra presente y ocasionalmente puede ser visualizada con microscopio invertido. Ocasionalmente pueden madurar in Vitro a partir de este estadio, luego de preincubarlos 24 horas antes de su inseminación.
  - Metafase I: el ovocito se encuentra rodeado por células de la corona yuxtapuestas y éstas a su vez, por células del cúmulus ophorus densamente dispuestas alcanzando un tamaño máximo de aproximadamente cinco veces el diámetro ovocitario. No se observa vesícula germinal y la ausencia del cuerpo polar nos indica que se encuentra en metafase I. Pueden ser preincubados in Vitro por 12 a 24 horas antes de su inseminación.
  - Metafase II o Preovulatorio: es el nivel óptimo de maduración apropiado para una fertilización exitosa. Las células de la corona rodean al ovocito pero están totalmente radiantes; el cuerpo polar ha sido extruído y el cúmulus se encuentra expandido en una delicada masa que puede ser estirada fácilmente.
  - Postmaduro: el ovocito se visualiza fácilmente como una esfera pálida. Escasas células de la corona se encuentran disociadas del ovocito. El cúmulus es muy profuso pero aún celular. Eventos tardíos de este estadio incluyen la condensación del cúmulus en pequeñas y retráctiles gotas negruzcas, entre otros.



- Luteinizado: el ovocito se torna difícil de visualizar debido a su gran palidez. El cúmulus se ha fracturado y convertido en una masa gelatinoso periférica. Tienen escasa probabilidad de fertilización.
  - Atrésico: las células de la granulosa se han fragmentado adquiriendo una apariencia similar a encaje. El ovocito es muy oscuro y difícil de identificar.
- v. Se prosigue con el período de incubación, sea cual fuere el sistema utilizado, los platos conteniendo los ovocitos son introducidos a la incubadora con 6% de CO<sub>2</sub> y humidificada para su cultivo celular.
- vi. Simultáneamente, se recolecta la muestra de semen del esposo mediante masturbación y se procede a su preparación y capacitación.

#### **B. Inseminación:**

- i. La mezcla del espermatozoide y ovulo se denomina inseminación.
- ii. El espermatozoide del hombre se coloca junto con los óvulos de mejor calidad y se almacenan en una cámara ambientalmente controlada. El espermatozoide generalmente entra en (fertiliza) un óvulo unas cuantas horas después de la inseminación.
- iii. Si el médico considera una baja posibilidad de fecundación, el personal del laboratorio puede inyectar directamente el espermatozoide dentro del óvulo (inyección intracitoplásmica de espermatozoides-ICSI por sus siglas en inglés).

**C. Constatación de la Fertilización:** cuando el óvulo fertilizado se divide y se convierte en un embrión; el personal de laboratorio lo vigilará regularmente para asegurarse de que esté creciendo de manera apropiada. En aproximadamente cinco días, el embrión tiene varias células que se están dividiendo activamente.

- i. **Día 1:** A las 18-20 horas de inseminados se procede a retirar las células de la corona y del cúmulus que rodean al ovocito para facilitar la visualización, con microscopio invertido, del ooplasma y verificar la fertilización. El método de disección debe llevarse con cuidado con objeto de evitar la exposición del ovocito fertilizado a cambios de temperatura y pH.

La presencia de dos pronúcleos y dos cuerpos polares indican una fertilización normal, además de zona pelúcida regular e intacta y citoplasma claramente saludable; una variedad de hechos pueden, además, ser observados en caso de fertilización normal: el citoplasma usualmente es ligeramente granular mientras que el del ovocito no fertilizado es completamente claro y sin rasgos característicos; el citoplasma puede aparecer de color café u oscuro y degenerado; la forma del ovocito puede variar de perfectamente esférica hasta totalmente irregular. La presencia en la periferia citoplasmática de un halo claro de 5 a 10  $\mu\text{m}$  de grosor es indicador de una buena activación y reiniciación de la meiosis.

**Ovocito fertilizado:** la observación de los pronúcleos debe llevarse a cabo en un lapso apropiado, antes que sufran un proceso de singamia-clivaje embrionario con fertilización anormal que hace imposible distinguirlo de aquellos con dos pronúcleos. Aunque la presencia de dos pronúcleos confirma la fertilización, su ausencia no necesariamente indica falla de la misma y puede representar activación partenogenética o demora en el tiempo de aparición de uno o más de los eventos involucrados en el proceso. Posteriormente se retiran los óvulos fertilizados de las gotas o pozos de inseminación, se transfieren a nuevos platos conteniendo medios de cultivos nuevo y equilibrado 12 horas antes y se los introduce a la incubadora para las futuras 12 a 24 horas de cultivo.

- ii. **Día 2:** La visualización a las 40 horas verifica el fenómeno de división mitótica o clivaje con la presencia de embriones divididos típicamente en 2 a 4 células o blastómeras, permitiéndonos la valoración de la calidad embrionaria de acuerdo a su morfología; número (tasa de división celular), tamaño y regularidad de las blastómeras, tiempo requerido para el clivaje, presencia o ausencia de vesiculación, fragmentación y granularidad del ooplasma; y, por último, espesor o apariencia de la zona pelúcida.

#### **D. FASE DE TRANSFERENCIA EMBRIONARIA:**

- iii. **Día 3:** En el día 3 los embriones clivados poseen entre 6 a 8 blastómeras y constituye el estado y tiempo adecuado para ser transferidos. Los embriones que presentan un proceso rápido de clivaje, con buen número de blastómeras al momento de la observación, parecen poseer mejor potencial de implantación.

La transferencia de blastocistos en día 5 ó 6 tiene la ventaja de lograr una mejor sincronización entre el estado embrionario y el grado de receptividad endometrial, así como el de detectar aquellos embriones incapaces de desarrollarse después de la activación del genoma cigótico debido a defectos genéticos o metabólicos.

- iv. **Día 5. Blastocisto:** Una vez observados los embriones según su morfología, se transferirán solo 1-2 Blastocistos. La transferencia embrionaria no es un procedimiento quirúrgico por lo que se realiza en el cuarto de procedimientos para lo cual se utilizan catéteres fabricados con sustancias plásticas no-tóxicas que varían en relación con su longitud (20-23cm), diámetro (3.5-5.0 French), características de la porción distal, grado de flexibilidad y memoria. El biólogo colocará el o los embriones en el interior del catéter de transferencia estéril junto a un pequeño volumen (20 a 30ul) de medio de cultivo, que estabilice correctamente el pH para optimizar el trabajo en el medio ambiente.

- v. **Transferencia del embrión:** Los embriones son colocados dentro del útero de la mujer de 3 a 5 días después del retiro y fecundación del óvulo. El procedimiento se hace en el consultorio del médico mientras la mujer está despierta:
- a. Paciente en litotomía dorsal se utiliza un espéculo vaginal estéril y el cuello uterino con su orificio externo es limpiado con similar medio de cultivo para retirar el exceso de moco y/o secreciones vaginales. Habitualmente la introducción trans-cervical del catéter no ofrece dificultades, caso contrario se deben intentar varias maniobras incluyendo un reajuste del espéculo y/o de la posición de la paciente, doblar ligeramente el extremo distal del catéter en relación con la posición uterina, emplear catéteres más rígidos, etc.
  - b. Utilizar guantes sin talco y presionar suavemente la jeringa estéril de 1mL que va conectada al catéter para depositar delicadamente el contenido del mismo a 1 ó 2 cm por debajo del fondo uterino, siempre guiado por ultrasonido transabdominal para asegurarnos la perfección de la maniobra, además de permitir a la paciente o pareja observar en el monitor del ecógrafo la correcta transferencia de sus embriones. Es importante evitar, en lo posible, el trauma endometrial durante el procedimiento dado que aparentemente mínimas cantidades de sangre fresca pueden reducir las tasas de embarazo.
  - c. Luego de la transferencia el catéter es sometido en el laboratorio a una inspección microscópica y lavado con medio de cultivo para identificar o no embriones retenidos; en este último caso se vuelve a cargar el catéter y se procede a una transferencia adicional que al parecer no compromete significativamente las tasas de embarazo, si se la realiza de manera atraumática.
  - d. Una vez que se ha completado el procedimiento la paciente permanece en ligera posición de Trendelenburg por 10 minutos en el cuarto de procedimientos y permanece otros 30 minutos adicionales en su habitación, antes de recibir el alta con las consiguientes instrucciones:
    - i. Descanso por el resto del día. El reposo completo en cama no es necesario, a menos que haya un aumento del riesgo de presentar el síndrome de hiperestimulación ovárica (OHSS, por sus siglas en inglés). La mayoría de las mujeres regresan a sus actividades al día siguiente.
    - ii. Tomar pastillas diariamente o hacerse aplicar inyecciones de la hormona progesterona durante 8 a 10 semanas después de la transferencia del embrión. La progesterona es una hormona producida en forma natural

por los ovarios que ayuda a engrosar el revestimiento del útero, lo cual facilita la implantación del embrión. Muy poca progesterona durante las primeras semanas del embarazo puede ocasionar un aborto espontáneo.

- iii. Regresar a los 12 a 14 días después de la transferencia del embrión para poderle hacer una prueba de embarazo.
- iv. Se le orienta sobre las posibles reacciones por las cuales debe acudir inmediato:
  1. Fiebre de más de 38° C (100.5° F).
  2. Dolor pélvico.
  3. Sangrado abundante por la vagina.

## **5. CONTROL DE LA FASE LÚTEA Y DIAGNÓSTICO DEL EMBARAZO**

- a. La suplementación lútea en las TRA se realiza con:
  - i. Progesterona oleosa que ocasiona intenso dolor local en el sitio de la inyección por su carácter de solución oleosa.
  - ii. vaginal. micronizada de progesterona a dosis de 200mg cada 8 horas utilizando un aplicador plástico para facilitar su administración.
- b. Seguimiento de la fase lútea: Las determinaciones séricas secuenciales de E2, P4 y HCG; las determinaciones secuenciales de esta última han demostrado, en embarazos iniciales normales, una tasa de incremento del doble cada 36 ó 48 horas.
  - i. Valores bajos de P4 y/o E2 en esta etapa sugieren la posibilidad de embarazo ectópico o amenaza de aborto, siendo en estos casos mandatorio un seguimiento más estrecho.
  - ii. En ocasiones niveles extremadamente bajos de E2 conducen a la suplementación con 17-Beta estradiol por vía oral a dosis de 2 a 6 mg/día hasta alcanzar niveles óptimos.
- c. Ecografía transvaginal: se realiza entre la 4ta a 5ta semana pos recuperación ovocitaria para demostrar la presencia de uno o más sacos gestacionales, así como su viabilidad. En el embarazo normal, un saco gestacional intrauterino puede detectarse por ecografía transvaginal cuando la concentración sérica de  $\beta$ -HCG alcanza aproximadamente 2.000 mUI/ml, pero en otras ocasiones su aparición es mucho más tardía.

## **V. FERTILIZACIÓN INVITRO CON DONACIÓN DE ÓVULOS:**

- A. Procedencia de óvulo donado:
  - i. Donantes anónimos: cuando no existe vínculo familiar o de amistad.
  - ii. Donantes abiertos o conocidos: Se permite la donación abierta o conocida cuando la donante y la pareja receptora tienen vínculos familiares o de amistad, siempre y cuando exista un acuerdo mutuo por escrito y se establezcan los derechos legales a la pareja.

El óvulo puede proceder de bancos o bien de la captura ovular de la donante simultáneamente que la receptora está siendo preparada.

B. Estudios de la donante:

- i. Realizar un reconocimiento médico que incluye su historia clínica completa, antecedentes personales, familiares y un examen físico con citología cervicovaginal.
- ii. Ultrasonografía pélvica y estudios hormonales necesarios para valorar la adecuada reserva ovárica.
- iii. Estudio a nivel sanguíneo para la detección de enfermedades de transmisión sexual: VDRL, hepatitis B y C, sífilis, SIDA, citomegalovirus, chlamydia, virus del herpes I y II, grupo sanguíneo y Rh.
- iv. Para los casos de donación para bancos: no se permite una misma donante en más de diez embarazos.

C. Selección de óvulos procedentes de banco: Para escoger a la donante más apropiada a cada pareja receptora, esta última debe rellenar un formulario con sus características físicas, grupo sanguíneo y Rh, etc. Se deberá cumplir la Normativa de Banco de Óvulos.

D. La preparación de la donante debe apegarse al acápite IV-A: Fase Clínica y IV-B: Fase de recuperación ovocitaria.

E. Preparación de la receptora:

Existen dos tipos de receptoras:

- Pacientes sin función ovárica, y
- Pacientes con función ovárica.

i. Pacientes sin función ovárica:

- El tratamiento de sustitución hormonal se inicia antes de comenzar la estimulación ovárica de la donante, de forma secuencial y creciente, primero con estrógenos y posteriormente con progesterona. Se utiliza con más frecuencia estrógenos orales (valerato de estradiol, estradiol oral micronizado) y de menos uso la vía transdérmica.
- Los estrógenos se inician a dosis de 2 a 4 mg vía oral, los primeros 4 días; 4 a 6 mg los siguientes 4 días y si fuera necesario hasta 8 mg del noveno día en adelante sin interrupción.
- La evaluación de la respuesta al tratamiento se realiza mediante ultrasonido transvaginal y medición del nivel de estradiol sérico cada 4 días. Se considera que el endometrio es adecuado para la implantación cuando es trilaminar, mayor de 6 mm y el nivel de estradiol es de más de 200 pg/mL.

Obtenidos estos parámetros, la dosis se mantiene sin modificación. El tiempo requerido para alcanzar esta preparación puede ser tan corto como una semana o tener que prolongarse hasta 7 semanas. Mas allá de este periodo, la tasa de éxito disminuye.

- El día de la aspiración de la donante, se inicia progesterona oleosa, en dosis de 50 mg/día por vía IM o progesterona micronizada intravaginal, a dosis de 600 mg/día.
- La transferencia de embriones se realiza en el día 3 ó 5 posterior a la captura.
- El protocolo de sustitución hormonal se mantiene hasta la semana 9 ó 10 de gestación, si se consigue.

ii. Pacientes con función ovárica:

- Se utiliza el protocolo largo con agonistas GnRh en fase lútea del ciclo, antes de iniciar la estimulación endometrial con estrógenos, para neutralizar la producción endógena de gonadotropinas y evitar su interferencia en la transferencia de embriones.
- Una vez que se verifica el reposo ovárico, mediante ultrasonido transvaginal y niveles de estradiol sérico (<30pg/mL), se inicia el protocolo de sustitución hormonal al igual que las pacientes sin función ovárica.
- Se realizan ultrasonidos transvaginales y/o estradiol sérico seriados cada 4 días para evaluar la respuesta al tratamiento. La dosis de agonistas GnRh se mantiene hasta el día antes de la aspiración de la donante.
- Al igual que en la paciente sin función ovárica se inicia progesterona el día de la captura con dosis y tiempo de administración similares.

## VI. LABORATORIO DE FERTILIZACIÓN IN VITRO

### 1. Área de Laboratorio

Asegure las condiciones ambientales para la estabilidad y proporcionar los parámetros óptimos para la fertilización de ovocitos y el desarrollo del embrión, para ello debe presentar como mínimo las siguientes condiciones:

- a. Área con una temperatura constante entre 21 a 24 grados centígrados, evitando variaciones de temperatura.
- b. Poseer filtros [[HEPA]] en la cabina de flujo laminar, en la climatización y en la salida del laboratorio para evitar la presencia de partículas en el ambiente.
- c. Evitar al mínimo los compuestos volátiles (VOCs), ya que podrían contener átomos y compuestos dañinos para los embriones. Algunos

VOCs no son filtrables por métodos normales, y por tanto hay que emplear filtros de carbón activo con distintas concentraciones de permanganato potásico. Es necesario recordar que esto tiene una vida limitada por su capacidad de absorción, así que hay que cambiarlos periódicamente.

- d. Presión positiva, para evitar que cuando se abran las puertas se entre aire sucio del exterior.
- e. Baja intensidad luminosa.
- f. Mantener la humedad en el 50%, sobre todo para el bienestar del trabajo.
- g. Funcionamiento de su sistema de alarmas.
- h. Planta de energía eléctrica.
- i. El control de calidad de los laboratorios de FIV debe ser estricto y ceñirse a normas internacionales.

## **2. Equipamiento:**

- a. Cabina de flujo laminar.
- b. Microscopio invertido con 400 aumentos y contraste de fase modular sobre una mesa anti vibratoria.
- c. Incubador para cultivo celular, temperatura de 37°C, concentración con 6% de CO<sub>2</sub> y 98% de humedad; con ocho compartimentos interiores individualizados.
- d. Centrífuga para procesamiento de semen.
- e. Reloj cronómetro.
- f. Juegos de pipetas.
- g. Gradillas plásticas.
- h. Material descartable: tubos para recolección de ovocitos y platos de cultivo, platos de cuatro pozos para cultivos de embriones.
- i. Medios para cultivos celular de embriones.

## **3. Aspectos Generales:**

- a. Rotular como un área de acceso restringido.
- b. Cuenta con un área de vestidor con dirección unidireccional, en la que los biólogos puedan cambiarse con ropa y zapatos limpios antes de su ingreso.
- c. Materiales de construcción del ambiente similares a la de una sala de cirugía que permita una limpieza frecuente y adecuada. Diseñada para proveer ambiente libre de distracción y/o accidentes.
- d. Ambiente seguro para cada manipulación y con estaciones de trabajo de ubicación planificada.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Steptoe OC, Edwards RG. Birth after the re-implantation of a human embryo (letter). *Lancet* 1978; 2:366.
2. Heap W. Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova within uterine foster mother. *Proc R Soc* 1981; 48:457-458.
3. Chang MC. Fertilization of rabbit ova in vitro. *Nature (London)* 1959; 184:406.
4. Elder K, Dale B. The clinical in vitro laboratory. In: *In vitro fertilization*. Ed. Elder K, Dale B. Cambridge University Press, UK,2001;7:109-129.
5. Society for Assisted Reproductive Technology, American Fertility Society. Assisted reproductive technology in the United States and Canada:1991 results for the Society for Assisted ReproductiveTechnology generated from the American Fertility Society Registry. *Fertil Steril* 1993;59:956-962.
6. Davis OK, Rosenwaks Z. In vitro fertilization. In: *Reproductive Endocrinology, Surgery and Technology*. Ed. Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z. Lippincott Raven, Philadelphia 1996;124:2319-233
7. Kruger TH, Acosta AA, Simmnons KF et al. Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1988;49:112.
8. Macklon NS, Pieteres NH, Fauser B. Indication for IVF treatment form diagnosis to prognosis. In: *Textbook of Assisted Reproductive Techniques*. Ed. Gardner DK, Weisman A, Howles CM, Shoham Z. Martin Dunitz, London 2002; 32:393-400.
8. Registro Latinoamericano de Reproducción Asistida 1999. Ed. Zegers-Hochschild F, Galdames V, Balmaceda J. Santiago de Chile 1999, Pág.
9. Feldberg D, Davis O, Grito J et al. Severity of the endometriosis does not impact on pregnancy success after in vitro fertilization. Presented at the 7th World Congress on In Vitro Fertilization and Assisted Procreations; June- July 1991; Paris, France.
10. Palermo G, Jorish P, Van Steiterghem AC. Pregnancy after intracytoplasmic sperm injection of a single spermatozoa into an oocyte. *Lancet* 1992; 340:17-18
11. Muasher SJ, García JE, Jones HW. Experience with diethylstilbestrol exposed infertile women in a program of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1984;42:20.
12. Templeton AA, Morris JR, Parslow W. Factors that affect the outcome of in vitro fertilization treatment. *Lancet* 1996;348:1402-1406.



13. Lenton EA, Cooke ID. In vitro fertilization in the natural cycle. *Baillieres Clin Obstet Gynaec* 1992; 229-245.
14. Lenton EA, Krumer A, Turner K, et al. Natural cycle in in vitro fertilization: is there a place? In: *Advances in Reproductive Endocrinology*, Ed. Shaw RW. Parthenon Press, Carnforth, UK, 1995; 7:59-72.
15. Claman P, Domingo M, Garner P et al. Natural cycle in in vitro fertilization embryo transfer at the University of Ottawa: an inefficient therapy for tubal infertility. *Fertil Steril* 1993; 60:298-302.
16. Venn A, Watson L, Lumley J et al. Breast and ovarian cancer incidence after infertility and in vitro fertilization. *Lancet* 1995; 346: 995-1000 995-1000.
17. French collaborative study. Obstetrical and pediatric outcome after assisted reproductive technologies. Dehan M. 7th World Congress on IVF and ET, Paris. 1991: 30 june-3 july.
18. Shenker JG, Ezra Y. Complications of assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 1994; 61:411- 422.
19. Fishel S, Jackson P. Follicular stimulation for high tech pregnancies: are we playing safe? *Brit Med J* 1989; 299:309-311.
20. Rotsztjen D, Asch RA. Effect of aging on assisted reproduction technologies (ART): Experience from egg donation. *Sem Repor Endocrinol* 1991; 9:2272-2279.
21. Howe RS, Wheller C, Mastroiani LJ, et al. Pelvic infection after transvaginal ultrasound-guided ovum retrieval. *Fertil Steril* 1988; 49:726-728 27.
22. Veeck LL. The human oocyte. In: *An Atlas of Human Gametes and Conceptus*. Ed. Veeck LL. The Parthenon Publishing Group. New York 1999; 2:19-24.
23. Elder K, Dale B. Oocyte retrieval and embryo culture. In: *In vitro fertilization*. Ed. Elder K, Dale B. Cambridge University Press, UK 2001; 9:152-191.
24. Valencia I, Valencia P, Loza H, Paz y Miño N. Inyección Intracitoplásmica de Espermatozoides (ICSI) o Microinyección Espermática Intraovular (MEI): Experiencia en el Ecuador. *Rev Ecuat Ginecol Obstet* 2002; 9:31-40.
25. Alikani M, Cohen J. Patterns of cell fragmentation in the human embryo in vitro. *J Assis Reprod Gen* 1995; 12:285.

26. World Health Organization (WHO). Laboratory Manual for examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th Edition. Cambridge University Press, UK, 1999.
27. Levron J, Munné S, Willadsen S et al. Male and female genomes associated in a single pronucleus in human zygotes. *J Assis Reprod Gen* 1995;12, Suppl.:27s.
28. Plachot M, Veiga A, Montagut J, et al. Are clinical and biological IVF parameters correlated with chromosomal disorders in early life: a multicenter study. *Hum Reprod* 1988;3:627-635.
29. Plachot M, Mandelbaum J, Yunca AM, et al. Coculture of human embryo with granulosa cells. *Contraception, Fertility and Sex* 1993;19:632-634.
30. Gardner DK, Development of serum free media for the culture and transfer of human blastocysts. *Human Reprod* 1999;4:218-225.
31. Elder K, Elliott T. Blastocyst Update. Worldwide Conference in Reproductive Biology. Ladybrook Publications, Australia, 1999.
32. Leonard G, Berkeley A, Alikani M, et al. Difficulty of embryo transfer and IVF pregnancy outcome. 7th World Congress on In Vitro Fertilization and Assisted Procreation. Paris-France; June-July 1991.
33. Csapo AI, Pulkinen MO, Kaihala HL. The relationship between the timing of luteectomy and the incidence of complete abortion. *Am J Obstet Gynecol* 1874;118:985-989.
34. Liu HC, Davis O, Berkeley A, et al. Late luteal estradiol patterns are a better prognosticator of pregnancy outcome than serial beta-human chorionic gonadotropin concentration. *Fertil Steril* 1991;56:421-426.
35. Soliman S, Saya S, Collins J, et al. The role of luteal phase support in infertility treatment: a metaanalysis of randomized trials. *Fertil Steril* 1994;1068-1076.
36. Rizk B. The outcome of assisted reproductive technology. In: A textbook of In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction. Ed. Brinsden PR. Parthenon Publishing Group, New York 1999;23:311-333.
37. Widra EA, Botchan A, Amit A, et al. Endometrial receptivity: the age-related decline in pregnancy rate and the effect of ovarian function. *Fertil Steril* 1996;65:103-108.
38. Alranyes S, Kaith H, Khan I. Effect of age and cycle responsiveness in patients undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1994;61:257-261.
39. Harrison KL, Breen TM, Hennessey JF et al. Patient age and success in a human IVF programme, *Aust NZ J Obstet Gynaecol* 1989;29:326-328.

40. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI. Controversies in the modern management of hydrosalpinx. *Hum Reprod Update* 1998;4:882-890
41. Barri PN, Coroleu B, Veiga A: Técnicas de reproducción Asistida. En: *Tratado de Ginecología, Obstetricia y Medicina de la Reproducción*. Tomo 2, Cabero L y Cabrillo E. Panamericana. Madrid. 2003, 1437-1444.
42. Bonilla-Musoles, F; Arastey, J; Pardo, G; Ruiz, A; Moreno, V; Ruiz, M; Pinotti, A; Machado, L; Remohi, J: Inseminación artificial homóloga intrauterina con semen capacitado ("wash and swim-up"). *Rev. España. Obstet. Ginecol*, 1987, 46, 181-198
43. Moreno, C; Zuzuarregui, J; Muñoz, E; Landazabal, A; Simón, C; Pellicer, A; Remohi, J; Inseminación Artificial. En: Remohi, J; Romero, J.L; Pellicer, A; Simón, C; Navarro, J: *Manual práctico de esterilidad y reproducción asistida*. Mc Graw Hill - Interamericana, Madrid 2000, 81-95.
44. Zorrero C, Marcos C, Abad L, Bonilla Jr. F, Dolz, M: Utilidad de la ecográfica abdominal en la inseminación artificial. *Actas congreso SEF*. Zaragoza Junio 2006
45. Sociedad Colombiana de Fertilidad y Esterilidad; Sociedad Colombiana de Andrológica: Consideraciones Bioéticas en Reproducción Asistida.