



GUIA TÉCNICA
DEL PROCESO DE
REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA

Revisión Julio 2011

XUNTA DE GALICIA

GUÍA TÉCNICA DEL PROCESO DE REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA

Revisión Julio 2011

GRUPO DE TRABAJO 2008

Castro López, Antonio
Gómez Parga , José Luís
Macia Cortiñas, Manuel
Martínez Varela, Flor
Rodríguez Pérez , Digna
Varillas Del Río Carmen
Vázquez Lodeiro, Domingo

GRUPO DE TRABAJO 2011

Facio Villanueva, Angel (Director)
Martínez Varela, Flor (Coordinación)
Expertos:
Macia Cortiñas, Manuel
Rodríguez Pérez, Digna
Sola Rodríguez, Adolfo
Vázquez Lodeiro, Domingo

GUÍA TÉCNICA DEL PROCESO DE REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA

1. Introducción
2. Definición del proceso asistencial.
3. Metodología empleada en la guía.
4. Objetivos de la guía.
5. Características de calidad del proceso.
6. Criterios de inclusión y de exclusión.
7. Proceso general, flujograma.
8. Guía de Actuación Clínica (descripción de los subprocesos asistenciales).
9. Sistema de evaluación y mejora del servicio.
10. Bibliografía.
11. Anexos.
 1. Reglas básicas de aplicación del consentimiento informado en este tipo de técnicas de reproducción humana asistida.
 2. Normas de recogida de semen.
 3. Análisis microscópico. Seminograma.
 4. Pruebas de capacitación espermática.
 5. Ficha de características fenotípicas del donante.
 6. Valoración de la fecundación.
 7. Valoración de la calidad de los cigotos.
 8. Valoración de la calidad embrionaria.
 9. Cultivo secuencial a blastocisto.
 10. Transferencia embrionaria.
 11. Biopsia de testículo.
 12. Selección y evaluación del donante de células reproductoras.
 13. Contraindicaciones absolutas para el tratamiento de reproducción humana asistida o gestación.
 14. Orientación del tratamiento a parejas con infección por VIH.



1.- INTRODUCCIÓN

El Servizo Galego de Saúde, como parte del proyecto de mejora de la atención a los problemas de esterilidad, lo constituye una mesa de trabajo para identificar los problemas y las posibilidades de mejora en la provisión de estos procedimientos.

En esta mesa participaron representantes de la Asociación Galega de Planificación Familiar, de la Sociedade Galega de Contracepción, de la Federación de Planificación Familiar de España, de la Asociación Galega de Matronas, del Centro de Planificación Familiar Novoa Santos, de la Asociación Galega pro-lactación MAMOA, de la Asociación “Nove Ondas”, de la Sociedade Galega de Xinecoloxía e Obstetricia, de Enfermería de Atención Primaria, de la Sociedade Galega de Medicina de Familia e Comunitaria, del Servizo de Xinecoloxía del Complexo Hospitalario de Ourense, de la Asociación para la Defensa da Sanidade Pública de Galicia (ADSPG), de la Unidade de Reprodución Asistida Vigo y del Servizo Galego de Saúde, y la primera tarea identificada fue la elaboración de una guía de actuación clínica dirigida a los profesionales sanitarios.

Para la elaboración de esta guía, y después de definirse el fluxograma de los procesos, se formó un grupo de trabajo compuesto por profesionales sanitarios expertos en el tema que definieron e identificaron los criterios y las acciones sanitarias que facilitan la toma de decisiones de los/as profesionales sanitarios.

El grupo de trabajo tuvo que identificar los subprocesos que forman parte del proceso global de atención a los problemas de esterilidad. Para cada subproceso detallaron las actuaciones sanitarias (anamnesis, pruebas complementarias, exploración...) que se incluían e, igualmente para cada una de estas actuaciones sanitarias, tuvieron que definir sus requisitos o características técnicas y las características de calidad.

Desde la edición de la guía se produjeron avances en el conocimiento y tratamiento de la infertilidad, y se incorporaron nuevas técnicas en los procesos asistenciales de reproducción asistida. Además, desde el Servizo Galego de Saúde, se profundizó en el conocimiento de las expectativas de la población y en su demanda de estas técnicas.

También se detecta que a pesar del incremento de la oferta asistencial, persiste la desproporción entre la demanda asistencial y la capacidad de proporcionar la provisión de estos procedimientos en tiempo y forma, de acuerdo con los principios básicos de situar al paciente como centro del sistema, ofertar la mejor asistencia sanitaria según el conocimiento científico disponible, teniendo en cuenta la sostenibilidad del sistema.

Por lo tanto, se hacía necesaria una revisión de la Guía que incorpore todas estas experiencias.

La Guía Técnica del Proceso de Reproducción Humana Asistida revisión 2011 coincidirá en su publicación con la puesta en marcha de la nueva Unidad de Reproducción Humana Asistida del Complexo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela.

Esta nueva edición se realizó tras la revisión de la literatura científica, y con el consenso del grupo de trabajo, formado por profesionales que trabajan a diario en reproducción humana asistida, que realizaron valiosas aportaciones.

Las recomendaciones que figuran en la Guía constituyen la referencia para las unidades de reproducción asistida, y para todos los profesionales implicados en la toma de decisiones sanitarias para aplicar programas de reproducción humana asistida, y son asumidas por la Dirección de Asistencia Sanitaria.

2.- DEFINICIÓN DEL PROCESO ASISTENCIAL

- **Proceso asistencial:**

Diagnóstico y tratamiento de los problemas de esterilidad y aplicación de programas de reproducción asistida.

- **Objetivo do proceso:**

Determinar la existencia de esterilidad, aplicar programas de reproducción asistida y conseguir un niño sano.

- **Alcance:**

Todo el personal del Servizo Galego de Saúde.

- **Usuaría:**

Mujer que demanda por posible esterilidad o para la inclusión en el programa de reproducción asistida.

- **Propietario del proceso:**

Dirección de Asistencia Sanitaria del Servizo Galego de Saúde.

3.- METODOLOGÍA EMPLEADA EN LA GUÍA TÉCNICA

La presente guía técnica no es una guía de práctica clínica, aunque estas fueron la base para su elaboración y se incluyen en la bibliografía. Esta guía quiere servir de ayuda a la toma de decisiones de los/as profesionales que atienden un determinado proceso asistencial, homogeneizando las actuaciones sanitarias en todo el Sistema Sanitario Público de Galicia.

La unidad básica dentro de la guía son los llamados “subprocesos” y tienen definidos su objetivo, cuándo y a quién debe aplicarlo y las actuaciones sanitarias incluidas en él, con sus propias características. También están incluidas en esta guía algunas características de calidad en cuanto a la cualificación o titulación del profesional y las instalaciones y materiales necesarios. En cada subproceso asistencial vienen identificadas las actuaciones sanitarias que hay que realizar, como pueden ser una anamnesis, la solicitud de pruebas o la prescripción farmacéutica. De cada una de estas actuaciones sanitarias se definieron sus criterios o características a modo de guía de práctica clínica.

4.- OBJETIVOS DE LA GUÍA:

Los objetivos que espera conseguir esta guía una vez implantada son:

- Ayudar a los profesionales en su toma de decisiones sanitarias para aplicar programas de reproducción asistida.
- Conseguir niños recién nacidos sanos.
- Disminuir la variabilidad en la prestación del servicio y mejorar su ejecución.
- Definir de forma clara y precisa las vías de acceso a este servicio.
- Aumentar el grado de satisfacción y de información de las mujeres respecto al trato recibido y potenciar su participación en la toma de decisiones.

5.- CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD DEL PROCESO:

Los siguientes apartados definen las características de calidad del proceso:

- Aplicación de normativa sectorial
 - Directiva 2006/86/ce de la Comisión de 24 de octubre de 2006 por la que se aplica la Directiva 2004/23/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que se refiere a los requisitos de trazabilidad, la notificación de las reacciones y los efectos adversos graves y determinados requisitos técnicos para la codificación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos.
 - Ley 41/2002, de 14 de noviembre, Básica Reguladora de la Autonomía del Paciente y de Derechos y Obligaciones en Materia de Información y Documentación Clínica.
 - Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida.
 - Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica.
 - Decreto de la Xunta 210/2008, de 28 de agosto, por el que se establece el procedimiento de autorización y se aplican las normas de calidad y seguridad en las actividades relacionadas con las células y tejidos humanos. DOGA núm. 185 de 24 de septiembre de 2008.
 - Real Decreto 906/2007, de 6 de julio, por el que se modifica el Real Decreto 415/1997, de 21 de marzo, por el que se crea la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida.
 - Real Decreto 1030/2006, de 15 de septiembre por el que se establece la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud y su procedimiento para su actualización.
 - Real Decreto 1301/2006, de 10 de noviembre por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos. BOE.
 - Real Decreto 2132/2004, de 29 de octubre, por el que se establecen los requisitos y procedimientos para solicitar el desarrollo de proyectos de investigación con células troncales obtenidas de preembriones sobrantes.
 - Real Decreto 1277/2003, de 10 de octubre, por el que se establecen las bases generales sobre autorización de centros, servicios y establecimientos sanitarios.
 - Real Decreto 120/2003, de 31 de enero, por el que se regulan los requisitos para la realización de experiencias controladas, con fines reproductivos, de fecundación de ovocitos o tejido ovárico previamente congelados, relacionadas con las técnicas de reproducción humana asistida.
 - Real Decreto 413/1996 de 1 de marzo sobre requisitos técnicos y funcionales precisos para la autorización y homologación de centros y servicios sanitarios relacionados con las técnicas de reproducción humana asistida.
 - Real Decreto 412/1996, de 1 de marzo, por el que se establecen los Protocolos de Estudio Donantes de Gametos y Usuarios de Técnicas de Reproducción Asistida.
 - Orden de 25 de marzo de 1996, por la que se establecen las Normas de Funcionamiento del Registro Nacional de Donantes de Gametos y Preembriones.
 - Real Decreto 42/2010 de 15 de enero por el que se regula la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida.

- Profesionales, instalaciones y recursos materiales por subproceso:
 - Subproceso 01:

- profesionales: médico de Atención Primaria, también médico especialista en ginecología y obstetricia, andrólogo con conocimientos generales sobre salud reproductiva, exploración física masculina y femenina / DUE / matrona / auxiliar sanitario.
- instalación: consulta estándar con dotación de Atención Primaria / consulta de especialista.
- Subproceso 02 y 03:
 - Profesionales:
 - Médicos/as especialistas en obstetricia y ginecología, con formación y experiencia en reproducción humana asistida.
 - Personal de enfermería.
 - Instalaciones:
 - Consulta estándar de ginecología.
 - Recursos materiales y equipamiento:
 - Acceso a pruebas diagnósticas incluidas en el subproceso.
 - Ecógrafo en consulta.
- Subproceso 04, 05 y 06:
 - Profesionales:
 - Médicos/as especialistas en obstetricia y ginecología, con formación y experiencia en reproducción humana asistida.
 - Personal de enfermería.
 - Instalación:
 - Área de recepción y espera.
 - Sala de consulta y de tratamiento.
 - Aseos.
 - Recursos materiales y equipamiento:
 - Equipamiento básico de consulta de ginecología.
 - Laboratorio hormonal de referencia homologado.
 - Material básico para la aplicación de la técnica:
 - Mesa de exploración ginecológica.
 - Ecógrafo con sonda vaginal.
 - Determinaciones hormonales de estradiol durante la jornada laboral.
 - Catéter de inseminación intrauterina.
 - Protocolo de consentimiento informado y documento escrito de aceptación de la técnica.
- Laboratorio de reproducción para inseminación artificial (laboratorio de semen para capacitación espermática)
 - Profesionales:
 - Licenciados/as en ciencias biomédicas (medicina, veterinaria, farmacia, biología o química) con formación y experiencia en capacitación y conservación de semen.
 - Personal sanitario y auxiliar necesario para el desarrollo de sus tareas.
 - Instalación:
 - Área de recogida de semen en condiciones de intimidad.
 - Área de recepción de muestras.
 - Área de trabajo.
 - Área de archivo dotado de sistema de protección contra robos.

- Recursos materiales y equipamiento:
 - Incubadora de CO₂.
 - Microscopio óptico.
 - Centrifugadora de ángulo fijo.
 - Cámaras de contaje espermático.
 - Medio para separación por gradientes de densidad de espermatozoides.
 - Medios de cultivo.
 - Tubos de plástico de fondo cónico de 12 ml.
 - Pipetas Pasteur estériles de plástico, desechables.
 - Filtros Millipore® de 0.22 μ.
 - Pipetas automáticas de diferente volumen.
 - Manual de Fase Preanalítica:
 - Hoja de recogida de datos de pacientes.
 - Recomendaciones para recogida de muestras.
 - PNT (Procedimientos Normalizados de Trabajo):
 - Incluye el manual de desarrollo de técnicas de trabajo.
 - Hoja de informe de resultado.
- Subproceso 07 FIV/ICSI.
 - Profesionales:
 - Médicos/as especialistas en ginecología y obstetricia, con formación y experiencia en reproducción humana asistida y fertilidad.
 - Licenciados/as en ciencias biomédicas (medicina, veterinaria, farmacia, biología o química) con formación y experiencia en biología de la reproducción.
 - Personal de enfermería.
 - Personal auxiliar sanitario.
 - Personal auxiliar administrativo.
 - Deberá asegurar la disponibilidad de un/os médico/s con conocimiento en ecografía ginecológica y de un/os médico/s especialista/s en anestesia y reanimación. Especialistas en psicología- psiquiatría, andrología, genética y enfermedades infecciosas.
 - Instalación:
 - Área de espera.
 - Área de consulta.
 - Área de realización de FIV y de técnicas complementarias.
 - Área adecuada para la cirugía.
 - Área de banco.
 - Área de archivo.
 - El área de banco y de archivo deberá tener un sistema de protección contra robos.
 - Recursos materiales y equipamiento:
 - Incubadora de CO₂.
 - Microscopio invertido.
 - Estereomicroscopio.
 - Campana de flujo laminar vertical (sin rayos ultravioleta).
 - Centrífuga.
 - Biocongeladores u otros medios afines.

- Recipientes criogénicos.
- Disponibilidad de nitrógeno líquido.
- Ecógrafo de alta resolución.
- Laparoscopia.
- Micromanipulador.
- Micropipetas para ICSI.
- Los centros o servicios estarán dotados o coordinados con un banco de preembriones, con los locales y las instalaciones precisos, disponiendo de un espacio específico destinado a la conservación de preembriones, que deberá estar protegido con un sistema de protección contra robos.
- El banco de preembriones contará con los materiales y elementos necesarios para la técnica, entre los señalados anteriormente en los recursos materiales.
- En caso de FIV/ICSI a pacientes con serodiscordancias deberá disponer de laboratorios adaptados, circuitos y protocolos específicos.
- Subproceso 08. Donación de oocitos:
 - Profesionales:
 - Médicos/as especialistas en ginecología y obstetricia, con formación y experiencia en reproducción humana asistida y fertilidad.
 - Licenciados/as en ciencias biomédicas (medicina, veterinaria, farmacia, biología o química) con formación y experiencia en biología de la reproducción.
 - Personal de enfermería.
 - Personal auxiliar sanitario.
 - Personal auxiliar administrativo.
 - Deberá asegurar la disponibilidad de un/os médico/s con conocimiento en ecografía ginecológica y de un/os médico/s especialista/s en anestesia y reanimación. Especialistas en psicología- psiquiatría, andrología, genética y enfermedades infecciosas.
 - Instalación:
 - Área de espera. Los espacios o la organización en los casos de donación de oocitos deben contemplar la separación de donantes y receptoras.
 - Área de consulta.
 - Área de realización de FIV y de técnicas complementarias.
 - Área adecuada para la cirugía.
 - Área de banco.
 - Área de archivo.
 - El área de banco y de archivo deberá tener un sistema de protección contra robos.
 - Recursos materiales y equipamiento:
 - Incubadora de CO₂.
 - Microscopio invertido.
 - Estereomicroscopio.
 - Campana de flujo laminar vertical (sin rayos ultravioleta).
 - Centrífuga.
 - Biocongeladores u otros medios afines.
 - Recipientes criogénicos.
 - Disponibilidad de nitrógeno líquido.
 - Ecógrafo de alta resolución.

- Laparoscopia.
- Micromanipulador.
- Micropipetas para ICSI.
- Los centros o servicios estarán dotados o coordinados con un banco de preembriones, con los locales y las instalaciones precisos, disponiendo de un espacio específico destinado a la conservación de preembriones, que deberá estar protegido con un sistema de protección contra robos.
- El banco de preembriones contará con los materiales y elementos necesarios para la técnica, entre los señalados anteriormente en los recursos materiales.
- Protocolos específicos de registro de mujeres donantes de oocitos.
- En caso de FIV/ICSI a pacientes con serodiscordancias deberá disponer de laboratorios adaptados, circuitos y protocolos específicos.
- Subproceso 09 DGP (Diagnóstico genético preimplantacional):
 - Profesionales:
 - Médico/s especialista/s en ginecología y obstetricia, con formación y experiencia en reproducción humana asistida. Expertos/as en reproducción asistida, en micromanipulación embrionaria, en manipular blastómeros y aislar y fijar su núcleo.
 - Personal experto en genética.
 - Licenciado/s en ciencias biomédicas (medicina, veterinaria, farmacia, biología o química) con formación y experiencia en biología de la reproducción.
 - Personal de enfermería.
 - Personal auxiliar sanitario.
 - Personal auxiliar administrativo.
 - Deberá asegurar la disponibilidad de un/os médico/s con conocimiento en ecografía ginecológica y de un/os médico/s especialista/s en anestesia y reanimación. Especialistas en psicología- psiquiatría, andrología, genética y enfermedades infecciosas.
 - Instalación:
 - Área de espera. Los espacios o la organización en los casos de donación de oocitos deben contemplar la separación de donantes y receptoras.
 - Área de consulta.
 - Área de realización de FIV y de técnicas complementarias.
 - Área adecuada para la cirugía.
 - Área de banco.
 - Área de archivo.
 - El área de banco y de archivo deberá tener un sistema de protección contra robos.
 - Espacio independiente lo más próximo posible al laboratorio de fecundación in vitro, con ambiente controlado en temperatura y humedad para la adecuada fijación del núcleo de los blastómeros.
 - Disponibilidad de laboratorio de genética.
 - Recursos materiales y equipamiento:
 - Incubadora de CO₂.
 - Microscopio invertido.
 - Estereomicroscopio.
 - Campana de flujo laminar vertical (sin rayos ultravioleta).
 - Centrífuga.
 - Biocongeladores u otros medios afines.

- Recipientes criogénicos.
- Disponibilidad de nitrógeno líquido.
- Ecógrafo de alta resolución.
- Laparoscopia.
- Micromanipuladores para biopsia de células embrionarias.
- Micromanipuladores motorizados en microscopio invertido.
- Microscopio de fluorescencia.
- Hornos de hibridación.
- Termocicladores.
- Microcentrífugas.
- Micropipetas para ICSI.
- Los centros o servicios estarán dotados o coordinados con un banco de preembriones, con los locales y las instalaciones precisos, disponiendo de un espacio específico destinado a la conservación de preembriones, que deberá estar protegido con un sistema de protección contra robos.
- El banco de preembriones contará con los materiales y elementos necesarios para la técnica, entre los señalados anteriormente en los recursos materiales.
- Protocolos específicos de registro de donantes de oocitos.
- En caso de FIV/ICSI a pacientes con serodiscordancias deberá disponer de laboratorios adaptados, circuitos y protocolos específicos.
- Aspectos organizativos del proceso:
 - Niveles de atención:
 - Nivel básico (consultas de Atención Primaria o cualquiera de especialidad): se realizarán los subprocesos:
 - subproceso 01
 - Nivel intermedio (consultas de ginecología y dotaciones necesarias según proceso)
 - subproceso 02, 03, 04, 05
 - Nivel superior (unidades de reproducción asistida)
 - subproceso 02 a 10
 - Autorización: Todos los centros sanitarios y las unidades hospitalarias que realicen actividades de reproducción humana asistida deberán estar autorizadas por la autoridad sanitaria competente.
 - Sistemas de calidad: Todos los centros sanitarios y las unidades hospitalarias que realicen actividades de reproducción humana asistida deberán cumplir con las normas de calidad, seguridad, coordinación y funcionamiento que establece la legislación vigente.
 - Los laboratorios deberían estar certificados en la Norma EN-ISO 15189:2003 “Laboratorios médicos: requisitos particulares relativos a la calidad y competencia”.
- Consentimiento informado: se dará información y asesoramiento a quien desee recurrir a las técnicas de reproducción asistida como a quien vaya a ser donante, abarcará consideraciones de carácter biológico, jurídico y ético. Se informará sobre las distintas técnicas, los resultados y los riesgos previsibles. Además:
 - Es requisito básico la existencia de consentimiento escrito antes de aplicar cualquier técnica de reproducción asistida.
 - La ley indica que en el caso de estar casada la mujer, se le debe solicitar consentimiento a su cónyuge.
 - En el supuesto de parejas de hecho no casadas, de la ley se desprende que el

consentimiento del varón prestado antes de la realización de las técnicas, tanto si utilizaron sus propios gametos como si usaron otros procedentes de un banco de donantes, implica la determinación de la filiación respecto de la descendencia que se origine. De ahí la importancia de advertir al interesado de la trascendencia de su firma del documento, que equivale a la asunción de la paternidad sobre el futuro hijo. Obviamente, si el varón no casado no está dispuesto a firmar el consentimiento, tampoco podrán utilizarse sus gametos para la fecundación de su compañera, dada la prohibición legal de constituirse en un donante a la carta. En este supuesto habría que reconducir la mujer al protocolo de la mujer sola.

- Es responsabilidad de los equipos biomédicos la constatación fidedigna de la identificación de los pacientes y de la constatación de la edad mínima para aplicar el programa.
- El tiempo entre estudio y aplicación de técnicas debe ser el menor posible.
- En el intervalo entre ciclos se procurará evitar la discontinuidad, por lo que se ofertará en el menor tiempo posible.
- Ciclo de fiv:
 - Se considera ciclo cuando se llega a la fase de recuperación de ovocitos.
 - Mientras existan embriones preservados de la misma pareja en tratamiento no se iniciará una nueva estimulación ovárica.
 - Cuando existan preembriones congelados sobrantes, la transferencia de éstos forma parte del mismo ciclo.
- Puesta en marcha de un registro de técnicas de reproducción asistida.

6.- CRITERIOS GENERALES DE INCLUSIÓN EN EL PROGRAMA DE REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA:

- Límites de edad. Toda mujer mayor de 18 años y menor o igual a 40 años.
- Toda mujer con plena capacidad de obrar, que prestase su consentimiento escrito y exista indicación clínica o una esterilidad primaria o secundaria que impida conseguir gestación, ya sea por factor masculino o femenino y susceptible de abordaje mediante tratamientos de reproducción asistida con posibilidades de éxito razonables.
- La Ley 14/2006 propicia la existencia de nuevos núcleos familiares legalmente reconocidos, el monoparental y la pareja homosexual, que serán susceptibles de solicitar este tipo de programa.
- Enfermedad hereditaria/genética de aparición precoz y susceptible de tratamiento curativo posnatal.
- Parejas serodiscordantes.
- Pacientes que precisan ser sometidos a tratamientos potencialmente esterilizantes.

Criterios generales de exclusión:

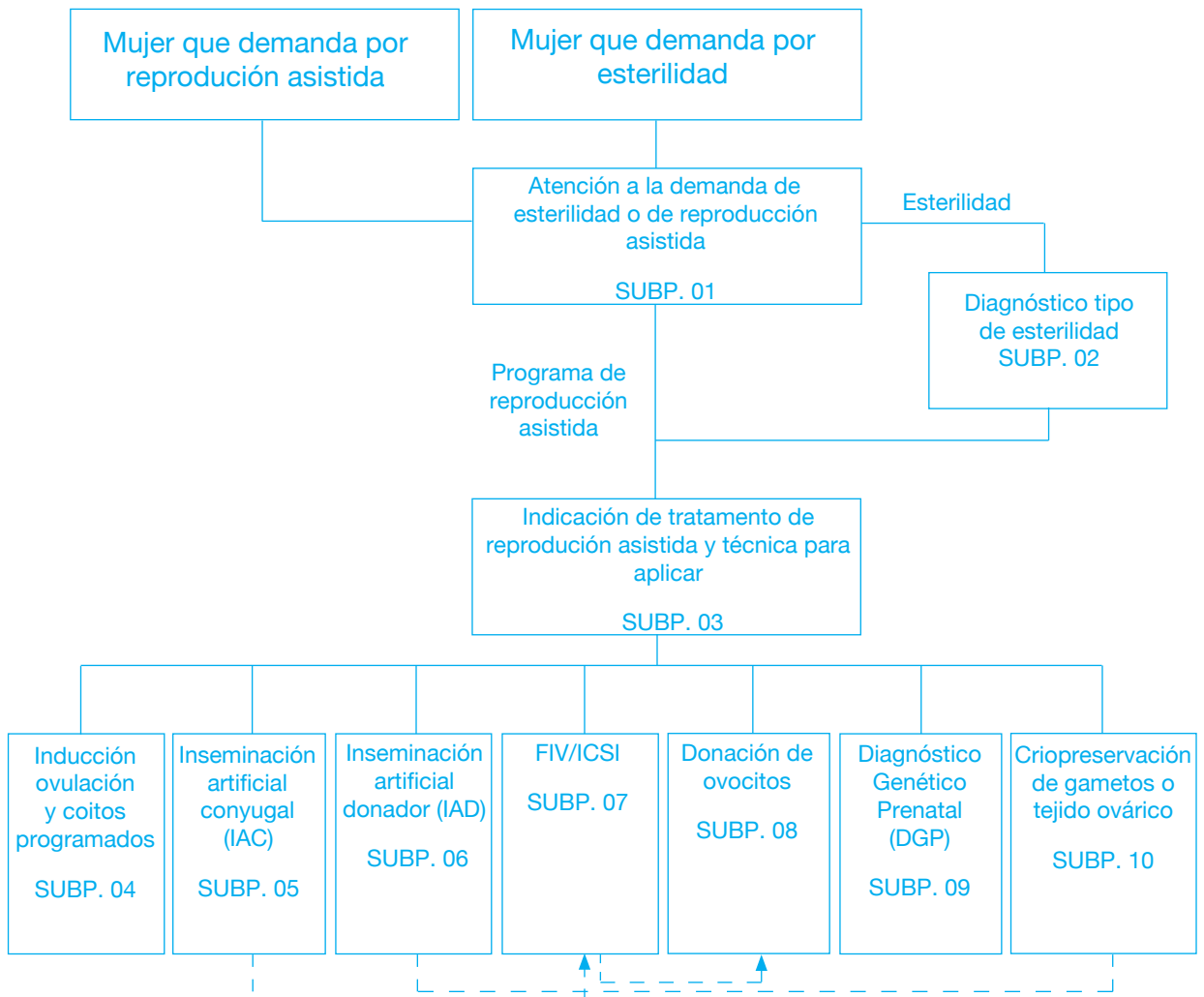
- Existencia de contraindicación médica para el tratamiento o gestación. Contraindicaciones absolutas para el tratamiento de reproducción humana asistida o gestación.
 - Cardiovascular
 - Cardiopatías congénitas cianóticas.
 - Lesiones valvulares izquierdas obstructivas severas (Clase F. III-IV de NYHA).
 - Hipertensión Pulmonar Severa.
 - Miocardiopatías con insuficiencia cardíaca y gran deterioro funcional.
 - Coartación aórtica y S. de Marfan con dilatación aórtica > 4 cm.
 - Hematológica
 - Coagulopatías congénitas. En mujeres con antecedente personal de fenómenos trombóticos recurrentes a pesar de tratamientos con heparina o warfarina.
 - Digestiva
 - Hepatopatías crónicas y cirrosis hepática. Grados B y C de Child. En el grado A evaluar posible descompensación durante el embarazo y el potencial teratogénico de los fármacos empleados.
 - Respiratoria crónica
 - Fibrosis quística. Se contraindican la gestación y las técnicas de reproducción asistida en mujeres con mala función pulmonar previa, mala nutrición (IMC < 19Kg/m²), cor pulmonale, disfunción hepática, diabetes mellitus y en mujeres con trasplante pulmonar. Se realizará evaluación preconcepcional del riesgo de la gestación y se solicitará cribado de portadores.
 - Reumática
 - Enfermedades reumatológicas activas.
 - Necesidad de uso continuado de agentes con riesgo teragénico.
 - Neurológica
 - Epilepsia en mujeres que precisen politerapia para el control de la enfermedad.
 - Endocrina y del metabolismo
 - Diabetes mellitus con retinopatía proliferativa no tratada, nefropatía diabética severa, cardiopatía isquémica o gastroparesia.

Fuente: Criterios para la utilización de recursos del Sistema Nacional de Salud en la aplicación de tratamientos de reproducción humana asistida del Grupo de Interés de Centros de Reproducción Asistida del Sistema Nacional de Salud.

- Vasectomía y/o LTB con hijo sano y de la misma pareja.

7.- PROCESO GENERAL:

Flujograma:



Subprocesos:

01: Atención a la demanda por posible esterilidad o por inclusión en un programa de reproducción asistida.

02: Diagnóstico tipo de esterilidad.

03: Indicación del tratamiento de reproducción asistida y elección de la técnica que se va a aplicar.

04: Realización de la técnica de inducción de la ovulación / coitos programados.

05: Realización de la técnica de IAC.

06: Realización de la técnica de IAD.

07: Realización de la técnica FIV/ICSI.

08: Realización de la técnica de donación de ovocitos.

09: Realización de un Diagnóstico Genético Prenatal (DGP).

10: Criopreservación de gametos ou tejido ovárico.

8.- GUÍA DE ACTUACIÓN CLÍNICA: DESCRIPCIÓN DE LOS SUBPROCESOS ASISTENCIALES

SUBPROCESO 01: ATENCIÓN A LA DEMANDA POR ESTERILIDAD O POR INCLUSIÓN EN UN PROGRAMA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Objetivo del subproceso:

Realizar el diagnóstico de esterilidad y/o valorar el cumplimiento de los criterios de inclusión/exclusión en un programa de reproducción asistida.

Motivo de aplicación de este subproceso:

Mujer que acude a consulta por una posible esterilidad, o para ser incluida en un programa de reproducción asistida.

Actuaciones sanitarias que hay que realizar en el subproceso:

- Preguntar razón para acudir:

- Si por esterilidad:
 - Realizar la anamnesis para confirmar esterilidad. Preguntas para diagnosticar la esterilidad:
 - Si lleva un año con coitos sin protección sin conseguir embarazo.
 - Si tiene más de 37 años y lleva 6 meses con coitos sin protección sin conseguir embarazo.
 - Existencia de causas evidentes que impidan el embarazo (tratamientos con quimioterapia, vasectomía, esterilización tubárica, síndrome de Klinefelter...) (Ver anexo 13).
- Por otras causas. Serían criterios de inclusión en un programa de reproducción asistida:
 - Parejas serodiscordantes (VIH, VHC, VHB...).
 - Mujer sola o con pareja del mismo sexo con deseo de gestación.
 - Enfermedades hereditarias.
 - Existencia de semen criopreservado.
 - Mujer que se va a someter a tratamiento que implique posible esterilidad o contraindicación de utilización de sus oocitos.

- Valorar que no existen criterios de exclusión:

- Existencia de contraindicación médica para el tratamiento.
- Existencia de contraindicación médica para la gestación.
- Menor de 18 años.
- Mayor de 40 años.
- Vasectomía y/o LTB con hijo sano y de la misma pareja.
- Varón serodiscordante con carga viral positiva.

- Informar a la mujer de:

- Si reúne criterios de inclusión se informa de su derivación a una consulta especializada para realizar el estudio y/o tratamiento de esterilidad.
- Si no reúne criterios de inclusión explicar que no se debe realizar la derivación a consulta especializada

- Registrar todo en la historia clínica.

- Gestión de la derivación siguiendo la ficha específica de aplicación del presente proceso.

SUBPROCESO 02: ESTUDIO DE ESTERILIDAD Y/O DIAGNÓSTICO DEL TIPO DE ESTERILIDAD

Objetivo del subproceso:

Realizar el estudio de esterilidad o diagnóstico del tipo de esterilidad.

Motivo de aplicación de este subproceso:

Mujer que fue diagnosticada de esterilidad o cumple criterios de inclusión en el programa de reproducción asistida.

Actuaciones sanitarias que hay que realizar en el subproceso:

- Realizar la anamnesis:

- A ambos miembros de la pareja.
- Edad de la mujer (debe ser mayor de edad).
- Tiempo de esterilidad.
- Enfermedad genética conocida (consejo genético).
- Enfermedad crónica en la mujer que se pueda agravar con un embarazo (interconsulta a especialista).
- Enfermedades infecciosas transmisibles entre personas.
- Historia ginecológica.
- Conductas de riesgo, hábitos tóxicos (alcohol y tabaco), exposiciones laborales, e información sobre su implicación en la fertilidad.

- Realizar la exploración física:

- Exploración física general. Índice de masa corporal (IMC).
- Exploración ginecológica.

- Solicitar pruebas complementarias:

- Perfil hormonal basal: 3er a 5º día ciclo. FSH, prolactina, LH, estradiol, TSH/ 2ª fase: día 22: progesterona.
- Serología: para los dos componentes de la pareja de: HIV/ sífilis/ VHB/ VHC para la mujer: toxoplasma y rubéola.
- Citología si procede.
- Analítica general: hematimetría, bioquímica, coagulación y grupo RH.
- Ecografía ginecológica.
- Seminograma: si es anormal repetir (ver anexo 2 y 3).
- HSG / HSSG. Según resultado del seminograma.
- Cariotipo: ante abortos de repetición (a los dos miembros de la pareja) o espermiograma muy patológico, antecedentes familiares de cromosopatías.
- Estudios de coagulación en los casos de pérdidas recurrentes de gestaciones.

- Informar a la mujer de las pruebas que se solicitan.

- Realizar diagnóstico en la siguiente consulta y aplicar subproceso 03 indicación.

SUBPROCESO 03: INDICACIÓN DE TRATAMIENTO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA Y DECISIÓN SOBRE LA TÉCNICA QUE SE VA A APLICAR

Objetivo del subproceso:

Realizar la indicación de la técnica de reproducción asistida.

Motivo de aplicación de este subproceso:

Mujer derivada para inclusión en el programa de reproducción asistida y susceptible de aplicar una técnica de reproducción asistida.

Actuaciones sanitarias que hay que realizar en el subproceso:

- Indicar la técnica que se va a aplicar siguiendo los siguientes criterios:

Circunstancias del caso	Técnica/s indicada/s de elección
Anovulación tipo 1	Inducción ovulación/ CP/IAC
Azoospermias y oligoastenoteratospermia muy severa si no acepta otras técnicas o por fallo previo de otras técnicas	IAD
Dificultad de obtención de muestra seminal destinada a reproducción asistida	Criopreservación de seme
Disminución del número y movibilidades con REM menor de 5 millones o aumento de sus alteraciones morfológicas (menos del 5% de formas normales)	FIV/ICSI
Endometriosis III-IV	FIV/ICSI
Endometriosis leve I y II, factor cervical <38 años	IAC
Endometriosis leve I y II, factor cervical >38 años	FIV/ICSI
Enfermedad de transmisión (VHI/ VHC) del varón se pueden utilizar técnicas de tratamiento de semen. Si carga viral negativa, ICSI con lavado seminal.	CP/ IAD/ FIV/ ICSI
Enfermedad genética del varón o de la mujer	DGP
Enfermedad genética del varón no susceptible / no aceptación de diagnóstico genético preimplantacional	IAD
Enfermedades hereditarias/genéticas de la mujer no susceptible de prevención por otros procedimientos / no aceptación de diagnóstico genético preimplantacional	Doazón de ovocitos
Enfermedades monogénicas graves y de aparición precoz y no susceptibles de tratamiento curativo posnatal	DGP
Esterilidad de origen desconocido <38 años	IAC
Esterilidad de origen desconocido >38 años	FIV/ICSI

Factor tuboperitoneal	FIV/ICSI
Fallo repetido de fecundación en el proceso FIV/ICSI por mala calidad de los gametos	Donación de gametos
Fallo ovárico precoz	Donación de ovocitos
Fallo ovárico primario	Donación de ovocitos
Fallo ovárico secundario a radioterapia, quimioterapia o por cirugía	Donación de ovocitos
Fracaso previo de tratamiento mediante inseminación, en el caso de que esté indicada	FIV/ICSI
Hipospermia (<1mL)	IAC
Imposibilidad de depósito del semen REM \geq 5M y N>5%	IAC
Incompatibilidad Rh con isoimmunización previa	IAD
Mujer que se va a someter a quimioterapia, radioterapia o cirugía con repercusión sobre su fertilidad	Criopreservación de ovocitos o tejido ovárico
Mujer sola o mujer con pareja del mismo sexo	IAD
Otros trastornos de la ovulación	Inducción ovulación/CP
Ovarios inaccesibles	Donación de ovocitos
Serodiscordancias para enfermedades infecciosas de transmisión sexual	IAC/ ICSI (en centro especializado)
Síndrome de ovario poliquístico	Inducción ovulación/CP
Tejido de biopsia testicular con funcionalidad y finalidad reproductiva	Criopreservación de tejido testicular
Utilización del semen criopreservado por su alto valor biológico	FIV/ICSI
Varón que se va a someter a quimioterapia, radioterapia o cirugía con repercusión sobre su fertilidad	Criopreservación de semen

- Valorar criterios de exclusión de aplicación de técnicas de reproducción asistida teniendo en cuenta los siguientes criterios:
 - No iniciar la aplicación de técnicas de reproducción asistida a mujeres menores de 18 años ni mayores de 40 años.
- Informar a la mujer y a la pareja de la técnica que se indica y cuándo debe acudir a la cita para aplicar la técnica. La información debe ser completa, tal como se relaciona al principio y dice la ley.
- Aplicar la Guía del proceso de consulta preconcepcional.
- Aplicar el subproceso (técnica) que corresponda.

SUBPROCESO 04: REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN Y COITOS PROGRAMADOS

Objetivo del subproceso:

Conseguir un niño recién nacido sano aplicando la técnica de inducción de la ovulación y coitos programados.

Motivo de aplicación de este subproceso:

Mujer a la que se le indicó la técnica de inducción de la ovulación y coitos programados.

04

Criterios de inclusión en este subproceso:

- Síndrome de ovario poliquístico.
- Anovulación tipo I.
- Otros trastornos de la ovulación.

Actuaciones sanitarias que hay que realizar en el subproceso:

- Revisión de historia clínica e indicación.

- Realizar el consentimiento informado según protocolo (ver anexo 1)

- Realizar la inducción ovárica con:

- Gonadotropinas siguiendo la pauta normal.
- Y citrato de clomifeno en el 5º-9º día en el caso de ovario poliquístico.

- Citar para control ecográfico según tipo de inducción ovárica.

- Realizar control ecográfico para determinar el número de folículos maduros. En caso de encontrar 3 o menos provocar la ovulación con HCG. Si no tiene folículos maduros gestionar nueva cita.

- Informar sobre la conducta que hay que seguir:

- Realización de coitos y:
 - En caso de embarazo consulta a los 20 días para comprobar saco gestacional y latido cardíaco mediante ecografía y remitir a control de embarazo normal.
 - En caso de no embarazo asegurar que llegará la menstruación y que vuelva al 3er día de la regla para nuevo ciclo.

- Repetir la técnica de 3 a 6 ciclos ovulatorios.

- En caso de fracaso, valorar la indicación de otras técnicas.

SUBPROCESO 05: REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL CONYUGAL (IAC)

Objetivo del subproceso:

Conseguir un niño recién nacido sano aplicando la técnica de Inseminación Artificial Conyugal (IAC).

Motivo de aplicación de este subproceso:

Mujer a la que se le indicó la técnica de Inseminación Artificial Conyugal (IAC).

05

Criterios de inclusión en este subproceso:

- Mujer con más de 18 años y menor de 38 años
- Imposibilidad de depósito del semen, REM \geq 5M y N $>$ 5%.
- Hipospermia (<1ml).
- Endometriosis leve I y II, factor cervical en mujer menor de 38 años.
- Esterilidad de origen desconocido en mujer menor de 38 años.
- Existencia de una o ambas trompas permeables.
- Alteración en la eyaculación.

Actuaciones sanitarias que hay que realizar en el subproceso:

- Revisar la historia clínica e indicación.
- Realizar el consentimiento informado según protocolo (ver anexo 1).
- Realizar la inducción ovárica con:
 - Gonadotropinas siguiendo la pauta normal.
- Realizar soporte de fase lútea.
- Citar para control ecográfico.
- Realizar control ecográfico para determinar el número de folículos maduros. En caso de encontrar más de 4 folículos maduros no provocar la ovulación con HCG. Si no tiene folículos maduros gestionar nueva cita.
- Gestionar citación para inseminación entre las 24 y 48 horas de la provocación de la ovulación.
 - Conseguir el semen conyugal y realizar capacitación (ver anexos 2 y 4).
 - Realizar la inseminación y siempre asegurando la identificación de la muestra.
- Informar sobre conducta que hay que seguir:
 - En caso de embarazo consulta a los 20 días para comprobar saco gestacional y latido cardíaco mediante ecografía y remitir a control de embarazo normal.
 - En caso de no embarazo, gestionar nuevo ciclo.
- Repetir la técnica hasta 4 ciclos ovulatorios haciendo una inseminación por ciclos alternos.
- En caso de fracaso, valorar la indicación de FIV/ICSI.

SUBPROCESO 06: REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE DONANTE (IAD)

Objetivo del subproceso:

Conseguir un niño recién nacido sano aplicando la técnica de Inseminación Artificial de Donante (IAD).

Motivo de aplicación de este subproceso:

Mujer a la que se le indicó la técnica de Inseminación Artificial de Donante (IAD).

Criterios de inclusión en este subproceso:

- Mujer con más de 18 años y menor o igual de 40.
- Existencia de una o ambas trompas permeables.
- Azoospermias y oligoastenoteratospermia muy severa si no acepta otras técnicas o por fallo previo de otras técnicas.
- Enfermedad genética del varón de la pareja no susceptible/no aceptación de diagnóstico genético preimplantacional.
- Enfermedad infecciosa de transmisión (VIH/ VHC) del varón .
- Incompatibilidad Rh con isoimmunización previa.
- Mujer sola o mujer con pareja del mismo sexo.
- Alteración en la eyaculación.
- Dificultad en la penetración de los espermatozoides en la cavidad uterina.

06

Actuaciones sanitarias que hay que realizar en el subproceso:

- Revisar la historia clínica e indicación.
- Realizar el consentimiento informado según protocolo (ver anexo 1).
- Solicitar que se cubra la ficha para selección de muestra de semen (ver anexo 5).
- Realizar la inducción ovárica con:
 - Gonadotropinas siguiendo la pauta normal.
- Realizar soporte de fase lútea.
- Citar para control ecográfico.
- Realizar control ecográfico para determinar el número de folículos maduros. En caso de encontrar 3 o menos provocar la ovulación con HCG. Si no tiene folículos maduros gestionar nueva cita.
- Gestionar citación para inseminación entre las 24 y 48 horas de la provocación de la ovulación para inseminación. Actuaciones que hay que realizar:

- Seleccionar la muestra de semen que hay que utilizar entre las disponibles en la unidad según las características de la ficha cubierta.
- Realizar capacitación (ver anexo 4).
- Realizar la inseminación y siempre asegurando la identificación de la muestra del banco.

- Informar sobre conducta que hay que seguir:

- En caso de embarazo consulta a los 20 días para comprobar saco gestacional y latido cardíaco mediante ecografía y remitir a control de embarazo normal.
- En caso de no embarazo gestionar nuevo ciclo.

- Informar al banco de semen en caso de gestación.

- Repetir la técnica hasta 6 ciclos ovulatorios.

- En caso de fracaso, valorar la indicación de FIV/ICSI.

SUBPROCESO 07: REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE FERTILIZACIÓN IN VITRO (FIV)/ INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES (ICSI)

Objetivo del subproceso:

Conseguir un niño recién nacido sano aplicando la técnica de Fertilización In Vitro (FIV)/ Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI).

Motivo de aplicación de este subproceso:

Mujer a la que se le indicó la técnica de Fertilización In Vitro (FIV)/ Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI).

Criterios de inclusión en este subproceso:

- Mujer con más de 18 años y menor o igual de 40 años
- Fracaso previo de tratamiento mediante inseminación conyugal o donante
- Disminución del número y movibilidades con REM menor de 5 millones o aumento de sus alteraciones morfológicas menos del 5% de formas normales
- Factor tuboperitoneal.
- Endometriosis III-IV.
- Endometriosis leve I y II. Factor cervical en mujer >38 años.
- Esterilidad de origen desconocido en mujer >38 años.
- Utilización de semen criopreservado.
- Serodiscordancias para enfermedades infecciosas de transmisión sexual.

07

Actuaciones sanitarias que hay que realizar en el subproceso:

- Revisar la historia clínica e indicación.
- Realizar el consentimiento informado según protocolo (ver anexo 1).
- Solicitar preoperatorio y consulta de anestesia.
- Comprobar serologías actualizadas de menos de seis meses (mujer: VIH, VHC, VHB, rubéola toxoplasma, sífilis) (varón: VHB, VIH, sífilis).
- Solicitar que se cubra la ficha para selección de muestra de semen en caso de utilización de semen de donante (ver anexo 5).
- Informar de que debe acudir el 1er día de la regla para monitorización.
- Realizar monitorización ecográfica y del nivel de estradiol.
- Informar de que debe acudir para programar el ciclo.
- Realizar un protocolo de inducción ovárica.

- Informar de que debe acudir a las 36 horas de la descarga ovulatoria y que deberá traer también el semen de su cónyuge en caso de fecundación conyugal.

- Realizar recuperación de oocitos en el quirófano mediante punción eco-guiada, bajo sedación profunda.

- Remitir oocitos y semen (si no es el conyugal escoger en las muestras de donantes el que más se adapte a la ficha) al laboratorio (ver anexo 2).

- Valorar por el laboratorio la técnica que hay que utilizar (FIV o ICSI) según parámetros de los gametos. (Ver anexo 7) Realizar la técnica.

- Valoración a las 24 horas de la recuperación ovocitaria y análisis de la fecundación y del desarrollo embrionario (ver anexos 6, 8, 9).

- Realizar transferencia embrionaria (ver anexo 10).

- 1-3 embriones, y siempre intentando evitar una gestación múltiple.
- 2º-3er día en general.

- En caso de existir preembriones sobrantes de un ciclo de fecundación in vitro se preservarán mediante congelación.

- Realizar soporte de fase lútea.

- Gestionar e informar cita a los 20 días.

- Realizar prueba de β -HCG según resultado:

- En caso de embarazo: comprobar saco gestacional y latido cardíaco mediante ecografía y remitir a control de embarazo normal.
- En caso de no embarazo, gestionar transferencia si hubiera embriones congelados o gestionar nuevo ciclo.

- Repetir la técnica hasta 3 ciclos que lleguen hasta la captación oocitaria y reconsiderar un 4º ciclo en situaciones especiales.

- Valorar en caso de fallo repetido completo de fecundación la aplicación de la donación de gametos.

Actuaciones sanitarias que hay que realizar en el subproceso (variante: caso de utilización de embriones criopreservados).

- Realizar el consentimiento informado específico según protocolo (ver anexo 1).

- Si tiene ciclo ovulatorio normal se puede hacer por ciclo:

- Natural.
- Ciclo sustituido con el objetivo de conseguir un endometrio adecuado para la recepción de los embriones.

- Realizar controles ecográficos de seguimiento.
- Realizar el timing para sincronizar con el día evolutivo del embrión. Soporte de fase lútea.
- Realizar criotransferencia embrionaria:
 - 1-3 embriones, y siempre intentando evitar una gestación múltiple.
- Realizar soporte de fase lútea.
- Gestionar e informar cita a los 20 días.
- • Realizar prueba de β -HCG según resultado:
 - En caso de embarazo: comprobar saco gestacional y latido cardíaco mediante ecografía y remitir a control de embarazo normal.
 - En caso de no embarazo, gestionar transferencia si hubiera embriones congelados o gestionar nuevo ciclo en caso de que no hubiera.
 - Se podrá repetir la técnica hasta 3 ciclos que lleguen hasta transferencia embrionaria y reconsiderar un cuarto solamente en situaciones especiales.

Actuaciones sanitarias que hay que realizar en el subproceso (variante: realización de aspiración o extracción testicular de esperma tesa/ tese).

- Realizar el consentimiento informado según protocolo (ver anexo 1).
- Solicitar preoperatorio y consulta de anestesia para el cónyuge.
- Informar sobre la posibilidad de que la punción no tenga gametos adecuados para realizar FIV/ICSI y si aceptan donante de semen.
- Informar de que deberá acudir el mismo día que a su pareja se le realizará la recuperación de oocitos.
- Realizar la aspiración o extracción testicular de esperma (TESA/TESE).
- Enviar al laboratorio la muestra extraída para ICSI (ver anexo 11).
- Continuar el proceso de forma normal.

SUBPROCESO 08: REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE DONACIÓN DE OVOCITOS

Objetivo del subproceso:

Conseguir un niño recién nacido sano aplicando la técnica de donación de oocitos.

Motivo de aplicación de este subproceso:

Mujer a la que se le indicó la técnica de donación de oocitos.

Criterios de inclusión en este subproceso:

- Mujer con más de 18 años y menor o igual de 40 años.
- Enfermedades hereditarias/genéticas de la mujer no susceptible de prevención por otros procedimientos o no aceptación de diagnóstico genético preimplantacional.
- Fallo ovárico precoz / prematuro.
- Fallo ovárico primario.
- Fallo ovárico secundario a radioterapia, quimioterapia o por cirugía.
- Ovarios inaccesibles.
- Fallo repetido de fecundación en el proceso FIV/ICSI por mala calidad ovocitaria. (Ausencia de embriones).

08

Actuaciones sanitarias que hay que realizar en el subproceso:

- Sobre la donante de oocitos.
 - Realizar historia clínica completa.
 - Realizar cribado para donación de oocitos (ver anexo 12).
 - Valorar estudio psicológico.
 - Ficha de características fenotípicas de la donante y cariotipo (ver anexo 5).
 - Solicitar preoperatorio y consulta de anestesia.
 - Realizar el consentimiento informado según protocolo (ver anexo 1).
 - Informar de que debe acudir el 1er día de la regla para monitorización.
 - Realizar monitorización ecográfica y del nivel de estradiol.
 - Informar de que debe acudir entre 3er-5º día de la regla para inducción ovárica.
 - Realizar un protocolo de inducción ovárica.
 - Informar de que debe acudir a las 36 horas de la descarga ovulatoria.
- Sobre receptora:
 - Revisar la historia clínica e indicación.
 - Realizar el consentimiento informado (ver anexo 1).
 - Solicitar que se cubra la ficha para selección de donante de oocitos y de muestra de semen en caso de utilización de semen de donante (ver anexo 5).
 - Preparación endometrial adecuada de la receptora.
 - Informar de que deberá acudir alrededor del 5º-6º día de la regla.
 - Aportar la muestra del semen de su cónyuge en caso de fecundación conyugal.

- Realizar recuperación de oocitos de la donante en el quirófano mediante punción eco-guiada y dar de alta a la donante.
- Remitir oocitos y semen (si no es el conyugal, escoger en las muestras de donantes el que más se adapte a la ficha) al laboratorio (ver anexo 2).
- Valorar por el laboratorio la técnica que se va a utilizar (FIV o ICSI) según parámetros de los gametos (ver anexos 7, 9).
- Valoración a las 24 horas de la fecundación y análisis del desarrollo embrionario (ver anexos 6, 8).
- Realizar transferencia embrionaria, en general, al 2º-3er (ver anexo 10):
 - 1-2 embriones.
- En caso de existir preembriones sobrantes de un ciclo de fecundación in vitro se preservarán mediante congelación. Los posibles destinos de los preembriones criopreservados serán los especificados en el documento de consentimiento.
- Realizar soporte de fase lútea en la receptora.
- Gestionar e informar cita a los 20 días.
- Realizar prueba de β -HCG según resultado:
 - En caso de embarazo: comprobar saco gestacional y latido cardíaco mediante ecografía y remitir a control de embarazo normal.
 - En caso de no embarazo asegurar que llegará la menstruación y que vuelva al 1er día de la regla para nuevo ciclo.
- Informar al banco de semen si se utilizó una muestra de él.
- Registrar en historia clínica.
- Informar el registro en caso de embarazo.
- Repetir técnica hasta dos ciclos.

SUBPROCESO 09: REALIZACIÓN DEL DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL (DGP)

Objetivo del subproceso:

Conseguir un niño recién nacido sano aplicando la técnica de diagnóstico genético preimplantacional (DGP).

Motivo de aplicación de este subproceso:

Mujer a la que se le indicó la técnica de diagnóstico genético preimplantacional (DGP).

Criterios de inclusión en este subproceso:

- Mujer con más de 18 años e igual a 40 años.
- Enfermedades hereditarias graves y de aparición precoz y no susceptibles de tratamiento curativo posnatal.
- Anomalías cromosómicas numéricas y/o estructurales (traslocaciones recíprocas o robertsonianas).
- La aplicación de técnicas de diagnóstico preimplantacional para cualquiera otra finalidad no comprendida en los apartados anteriores, o cuando se pretendan practicar en combinación con la determinación de los antígenos de histocompatibilidad de los preembriones in vitro con fines terapéuticos para terceros, requerirá la autorización expresa, caso a caso, de la autoridad sanitaria correspondiente, previo informe favorable de la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida, que deberá evaluar las características clínicas, terapéuticas y sociales de cada caso.

Criterios de exclusión para la indicación de DGP:

- Casos en que el seguimiento de la hiperestimulación ovárica controlada muestre el crecimiento de menos de 6 folículos de tamaño adecuado.
- Enfermedades que no son producidas por una alteración genética a nivel germinal.
- Enfermedades con patrones de herencia complejos difíciles de predecir (ex. multifactoriales, mitocondriales).
- Enfermedades en las que el diagnóstico no es posible, bien porque no se disponga de marcadores informativos suficientemente fiables o porque sean técnicas no disponibles en un determinado centro.

Indicaciones de DGP:

En base a los avances científicos actuales son aplicables los procedimientos de Diagnóstico Genético Preimplantacional en las siguientes enfermedades de base genética:

- Enfermedades recesivas ligadas a X.
- Fibrosis quística en mutaciones muy graves.
- Distrofia miotónica.
- Beta talasemia.
- X-frágil.
- Enfermedad de Huntington.
- Ataxia espinocerebelosa 2.
- Enfermedad de Machado-Joseph (SCA3).

Actuaciones sanitarias que hay que realizar en el subproceso:

- Revisar la historia clínica e indicación.
- Solicitar preoperatorio y consulta de anestesia.
- Realizar el consentimiento informado según protocolo (ver anexo 1).
- Solicitar que se cubra la ficha para selección de muestra de semen en caso de utilización de semen de donante (Ver anexo 5).
- Informar de que debe acudir el 1er día de la regla para monitorización.
- Realizar monitorización ecográfica y del nivel de estradiol.
- Informar de que debe acudir entre 3er-5º día de la regla para inducción ovárica.
- Realizar un protocolo de inducción ovárica.
- Informar de que debe acudir a las 36 horas y que deberá traer también el semen de su cónyuge en caso de fecundación conyugal.
- Realizar recuperación de oocitos en el quirófano mediante punción eco-guiada.
- Remitir oocitos y semen (si no es el conyugal escoger en las muestras de donantes el que más se adapte a la ficha) al laboratorio.
- Valorar por el laboratorio la técnica que se va a utilizar (FIV o ICSI) según parámetros de los gametos (ver anexo 7 y 9).
- Valoración a las 24 horas de la fecundación y análisis del desarrollo embrionario (ver anexos 6 y 8).
- El tercer día después de la punción se procede a la extracción del corpúsculo polar o de una/dos células del preembrión, de seis o más blastómeros, con el fin de analizarlas según el procedimiento genético apropiado para cada caso, que precisa entre 24 y 48 horas para emitir un diagnóstico.
- Identificar embriones susceptibles de ser transferidos.
- Realizar transferencia embrionaria, en esta técnica se realizará entre el 4º y 6º día postpunción:

- 1-3 embriones, y siempre intentando evitar una gestación múltiple.

- Finalmente los preembriones viables normales para el estudio realizado de un ciclo de DGP, se preservarán mediante congelación. Los posibles destinos de los preembriones criopreservados serán los especificados en el documento de consentimiento.

- Gestionar e informar de cita a los 20 días.

- Realizar prueba de β -HCG según resultado:

- En caso de embarazo: comprobar saco gestacional y latido cardíaco mediante ecografía y remitir a control de embarazo normal y aconsejar hacer una prueba de diagnóstico prenatal.
- En caso de no embarazo asegurar que llegará la menstruación y que vuelva al 1er día de la regla para nuevo ciclo.

- Informar al banco de semen si se utilizó una muestra de él.

- Registrar en historia clínica.

SUBPROCESO 10: CRIOPRESERVACIÓN DE GAMETOS Y TEJIDO OVÁRICO

Objetivo del subproceso:

Conseguir gametos o tejido ovárico y mantenerlo en criopreservación para poder ser utilizado en procesos de reproducción.

Motivo de aplicación de este subproceso:

Para crioconservación de semen:

- Varón que se va a someter a quimioterapia, radioterapia o cirugía con repercusión sobre su fertilidad.
- Dificultad de obtención de muestra seminal destinada a reproducción asistida.
- Tejido de biopsia testicular con funcionalidad y finalidad reproductiva.

Para crioconservación de ovocitos o tejido ovárico:

- Mujer que se va a someter a quimioterapia, radioterapia o cirugía con repercusión sobre su fertilidad.

Actuaciones sanitarias que hay que realizar en el subproceso:

- Para crioconservación de semen:

- Revisar la historia clínica e indicación.
- Realizar el consentimiento informado según protocolo (ver anexo 1).
- Conseguir el semen (ver anexo 2).
- Realizar la criopreservación del semen.

- Para crioconservación de ovocitos o tejido ovárico:

- Revisar la historia clínica e indicación.
- Realizar el consentimiento informado según protocolo (ver anexo 1).
- Conseguir los ovocitos o tejido ovárico.
- Realizar la criopreservación de los ovocitos o tejido ovárico.

9.- SISTEMA DE EVALUACIÓN Y MEJORA DEL PROCESO ASISTENCIAL

El responsable del Proceso en la Comunidad Autónoma deberá presentar anualmente un informe con los siguientes indicadores y una propuesta de mejoras.

- Indicadores de resultados:

- Tasa de embarazo en la RHA total y análisis por las principales variables (tipo de técnica, edad, centro...).

- Indicadores de accesibilidad:

- Tiempo para acercarse a un centro para aplicación de técnica FIV/ICSI.
- Demora para la primera consulta de valoración dentro del programa de reproducción asistida.

- Indicadores de calidad:

- Núm. de ciclos aplicados en cada técnica.
- Ajuste de las técnicas utilizadas a las indicaciones de la guía.

Se diseñarán mediciones del grado de satisfacción de la atención prestada (calidad asistencial, información recibida, apoyo emocional etc.).

10.- BIBLIOGRAFÍA

- Abou-Setta AM Transmission risk of hepatitis C virus via semen during assisted reproduction: how real is it? *Hum Reprod.* 2004 Dec;19 (12): 2711-7.
- Aging and infertility in women *Fertil Steril* 2006; 86 (Suppl 4):S248-52.
- Alemañ M., López L., Cañadas M.C. Diagnóstico genético preimplantacional. ¿Cuándo está indicado? *Rev. Iberoam. Fertil.* 2007; 24 (3): 178-182.
- Belloc S, Cohen-Bacrie P, Benkhalifa M, Cohen-Bacrie M, De Mouzon J, Hazout A, Ménézo. Y Effect of maternal and paternal age on pregnancy and miscarriage rates after intrauterine insemination *Reprod Biomed Online.* 2008 Sep; 17 (3):392-7.
- Bendsdorp A.J., Cohlen B.J., Heineman M.J., Vandekerckhove P. Inseminación intrauterina para la subfertilidad masculina. (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2008 Número 2. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>. (Traducida de The Cochrane Library, 2008 Issue 2. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).
- Blake DA, Farquhar CM, Johnson N, Proctor M. Transferencia del embrión en el estadio de división versus estadio de blastocisto en la concepción asistida. (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2008 Número 4. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>. (Traducida de The Cochrane Library, 2008 Issue 3. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).
- Bujan L, Hollander L, Coudert M, Gilling-Smith C, Vucetich A, Guibert J, Vernazza P, Ohl J, Weigel M, Englert Y, Semprini AE; CREAThE network Safety and efficacy of sperm washing in HIV-1-serodiscordant couples where the male is infected: results from the European CREAThE network *AIDS.* 2007 Sep 12; 21(14):1909-14.
- Cantineau AEP, Heineman MJ, Cohlen BJ. Inseminación intrauterina (IIU) simple versus doble en ciclos con hiperestimulación ovárica para parejas con subfertilidad. (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2008 Número 4. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>. (Traducida de The Cochrane Library, 2008 Issue 3. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).
- Casadei L, Zamaro V, Calcagni M, Ticconi C, Dorrucchi M, Piccione E Homologous intrauterine insemination in controlled ovarian hyperstimulation cycles: a comparison among three different regimens. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006 Dec; 129 (2):155-61.
- Committee Opinion No. 413. American College of Obstetricians and Gynecologists. Age-related fertility decline. *Obstet. Gynecol.* 2008; 112: 409-11.
- De la Cuesta R., Gaitero A., Tasende M., Iglesias E. Inseminación intrauterina homóloga: revisión de 430 ciclos y evaluación de los factores pronósticos. *Rev. Iberoam. Fertil.* 2004; 21 (1): 16-23.
- Endometriosis and infertility *Fertil Steril* 2006; 86 (Suppl 4):S156-60.
- Englert Y, Lesage B, Van Vooren JP, Liesnard C, Place I, Vannin AS, Emiliani S, Delbaere A. Medically assisted reproduction in the presence of chronic viral diseases *Hum Reprod Update.* 2004 Mar-Apr; 10(2): 149-62.
- F. Abellán. Aspectos bioéticos y legales del diagnóstico genético preimplantatorio (DPG) *Rev. Iberoam. Fertil.* 2006; 23 (2): 123-31.
- F.J. Broekmans, E.R. Klinkert. Female Age in ART: When to Stop? *Gynecol Obstet Invest* 2004; 58:225-234.

- Farhi J, Ben-Haroush A, Lande Y, Fisch B Role of treatment with ovarian stimulation and intrauterine insemination in women with unilateral tubal occlusion diagnosed by hysterosalpingography. *Fertil Steril*. 2007 Aug; 88 (2):396-400.
- Garrido N, Meseguer M, Bellver J, Remohí J, Simón C, Pellicer A. Report of the results of a 2 year programme of sperm wash and ICSI treatment for human immunodeficiency virus and hepatitis C virus serodiscordant couples *Hum Reprod*. 2004 Nov;19 (11):2581-6.
- Gil Raga F., Monzó A., Peinado I., Gil Gracia F., Cabo A., Romeu A. Análisis de los resultados de ciclos de FIV-ICSI en parejas que no gestan tras cuatro inseminaciones. *Rev. Iberoam. Fertil*. 2005; 22 (2): 113-120.
- Gilling-Smith C, Emiliani S, Almeida P, Liesnard C, Englert Y. Laboratory safety during assisted reproduction in patients with blood-borne viruses. *Hum Reprod*. 2005 Jun; 20 (6):1433-8.
- Grupo de interés de Centros de Reproducción humana asistida del Sistema Nacional de Salud. Criterios para la utilización de los recursos del Sistema Nacional de Salud Español en técnicas de reproducción humana asistida. *Rev. Iberoam. Fertil*. 2002; 19(1): 5-31.
- Guibert J, Leruez-Ville M, Dulioust E, Launay O, Sogni P, Charlemaine E, Rouzioux C, Jouannet P. Assisted procreation technology and people with HIV *Presse Med*. 2008 Jun;37(6 Pt 2):998-1006.
- Guidelines on number of embryos transferred *Fertil Steril* 2006; 86 (Suppl 4):S51-52.
- Haebe J, Martin J, Tekepety F, Tummon I, Shepherd K Success of intrauterine insemination in women aged 40-42 years. *Fertil Steril*. 2002 Jul; 78 (1):29-33.
- Hammoud AO, Gibson M, Peterson CM, Meikle AW, Carrell DT. Impact of male obesity on infertility: a critical review of the current literature. *Fertil Steril*. 2008 Oct; 90 (4): 897-904.
- Helmerhorst FM, Van Vliet HAAM, Gornas T, Finken MJJ, Grimes DA. Inseminación intrauterina versus coito programado para la hostilidad cervical en parejas subfértiles. (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2008 Número 4. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>. (Traducida de The Cochrane Library, 2008 Issue 3. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).
- Honeck P, Weigel M, Kwon ST, Alken P, Bross S Assisted procreation in cases of hepatitis B, hepatitis C or human immunodeficiency virus infection of the male partner. *Hum Reprod*. 2006 May; 21(5):1117-21.
- Informed Consent to Donate Embryos for Research Purposes *J Obstet Gynaecol Can* 2008; 30 (9):824-829.
- Lebray P Assisted reproductive techniques in hepatitis B or C infection: role of the hepatologist *Gynecol Obstet Fertil*. 2007 Oct; 35 (10):1025-9.
- Legro RS, Shackelford DP, Moessner JM, Gnatuk CL, Dodson WCJ ART in women 40 and over. Is the cost worth it? *Reprod Med*. 1997 Feb; 42 (2):76-82.
- Lim AS, Tsakok MF Age-related decline in fertility: a link to degenerative oocytes? *Fertil Steril*. 1997 Aug; 68(2):265-71.
- M. Albisu, O. Ramón, B. Corcóstegui, V. Aparicio, J.A. Agirregoikoa, J. Burgos, R. Matorras Tasa de embarazo en inseminación artificial conyugal en relación con el número de ciclo *Rev. Iberoam. Fertil*. 2006; 23 (4): 217-221.
- Marchaudon V, Piccardino O, Dufour P, Subtil D, Deruelle P. Being pregnant over 45. After oocyte donation in a foreign country. A wonder of medicine or an ethical transgression? *Gynecol Obstet Fertil*. 2007 Dec; 35 (12):1235-8.

- Marques de Oliveira N., Rodríguez R. Sida y Hepatitis en Técnicas de Reproducción Asistida. Rev. Iberoam. Fertil. 2004; 21 (3): 159-164.
- Matorras R. La reproducción asistida en el sistema sanitario público español. Rev. Iberoam. Fertil. 2002; 19(2)103-108.
- Matorras R., Hernández J. (eds): Estudio y tratamiento de la pareja estéril: Recomendaciones de la Sociedad Española de Fertilidad con la colaboración de la Asociación para el estudio de la Biología de la Reproducción, la Asociación Española de Andrología y la Sociedad Española de Contracepción. Adalia, Madrid 2007.
- Ministerio de Sanidad y Consumo. Centros/ Servicios sanitarios autorizados y homologados relacionados con las técnicas de reproducción humana asistida. Disponible en: <http://www.msc.es/ciudadanos/prestaciones/centrosServiciosSNS/centroReproHumAsist.htm>.
- Muñoz-Núñez M., Giron J., Molina L., Fernández L., Velarde P., Figueroa M.J., Aragón M.J., Vettori P., López E., González A. Enfermedades hereditarias y técnicas de detección preimplantacionales Rev. Iberoam. Fertil. 2005; 22 (5): 343-359.
- Nelen WL, van der Pluijm RW, Hermens RP, Bergh C, de Sutter P, Nygren KG, Wetzels AM, Grol RP, Kremer JA. The methodological quality of clinical guidelines of the European Society of Human Reproduction and Embriology (ESHRE), Hum Reprod. 2008 Aug; 23 (8):1786-92.
- Normativa Francesa sobre Seguridad Biológica en Laboratorios de Reproducción Asistida. Arrêté du mai 2001 modifiant l'arrêté du 12 janvier 1999 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques en assistance médicale à la procréation. J.O. Numéro 112 du 15 mai 2001, page 7735 (Francia). <http://admi.net/jo/20010515/SANP0121721A.html>.
- Ohl J, Partisani M. The desire to become a parent when infected with human immunodeficiency virus, hepatitis C virus or hepatitis B virus Gynecol Obstet Fertil. 2007 Oct; 35(10):1035-8.
- Optimal evaluation of the infertile female Fertil Steril 2006; 86 (Suppl 4): S264-7.
- Osuna C, Matorras R, Pijoan JI, Rodríguez-Escudero FJ. One versus two inseminations per cycle in intrauterine insemination with sperm from patients' husbands: a systematic review of the literature. Fertil Steril. 2004 Jul; 82(1):17-24.
- P. Álvarez Álvarez, T. Pérez Medina. Técnicas endoscópicas en reproducción. Laparoscopia, histeroscopia, hidrolaparoscopia transvaginal: utilidad diagnóstica y terapéutica. Rev. Iberoam. Fertil. 2007; 24 (3): 188-197.
- Pérez-Millan F. Infección por virus de la Hepatitis C y Reproducción asistida. Boletín SEF 2002;10. (<http://nuevo.sefertilidad.com/boletin/2002/vol2/06.php>).
- Ramón O., Donación de ovocitos Ginecología Clínica y Quirúrgica. 2002; 3 (2):72-86.
- Report on management of obstructive azoospermia Fertil Steril 2006; 86 (Suppl 4): S259-63.
- Revised minimum standards for practices offering assisted reproductive technologies Fertil Steril 2006; 86 (Suppl 4): S53-56.
- Rodríguez R., Blanes R., Márques N., Vaca R., Alberto A.J. Donación de ovocitos: Los factores de esterilidad no determinan las tasas de gestación. Rev. Iberoam. Fertil. 2005; 22 (6): 383-391.
- Romeu M., Herrero G., Montañana V., Monzó A., Romeu A. Panorama actual de la reproducción asistida en mujeres lesbianas. Rev. Iberoam. Fertil. 2008; 25 (3): 177-186.
- Rosa Tur, B. Coroleu, M^aJ. Torelló, M. Boada, A.Veiga, PN. Barri. Prevención del embarazo

- múltiple en fecundación in vitro en España. Rev. Iberoam. Fertil. 2005; 22 (5): 315-322.
- Ruiz-Salgueiro M.T. Aspectos demográficos de la infecundidad, la infertilidad y la esterilidad en España. Comunicación presentada en la 1ª Reunión Paramédica de la Sociedad Española de Fertilidad, Atención centrada en el paciente: consejo y apoyo emocional en reproducción humana. Madrid, 20 de abril de 2001. Centre d'Estudis Demogràfics 2001.
 - Sauer MV, Paulson RJ, Lobo RA. Reversing the natural decline in human fertility. An extended clinical trial of oocyte donation to women of advanced reproductive age. JAMA. 1992 Sep 9; 268(10):1275-9.
 - Smoking and infertility Fertil Steril 2006; 86 (Suppl 4): S172-7.
 - Sociedad Española de Fertilidad. Disponible en www.sefertilidad.com/.
 - Sullivan E, Wang Y, Chapman M, Chambers G Success rates and cost of a live birth following fresh assisted reproduction treatment in women aged 45 years and older, Australia 2002-2004. Hum Reprod. 2008 Jul; 23 (7):1639-43.
 - Técnicas de Reproducción asistida y VIH. Comisión asesora sobre técnicas de reproducción humana asistida en Cataluña.
 - The ESHRE Capri Workshop. Infertility revisited: The state of the art today and tomorrow*. Hum Reprod. 1996; 11: 1779-807.
 - The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine and the Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology Fertil Steril : 2006 Guidelines for gamete and embryo donation. ©2006; 86 (Suppl 4):S38 –50.
 - The preimplantational Genetic Diagnosis International Society: guidelines for good practice in PGD. Reprod Biomed Online 2004; 9: 430-4.
 - Van den Eede B. Investigation and treatment of infertile couples: ESHRE guidelines for good clinical and laboratory practice. European Society of Human Reproduction and Embryology. Hum Reprod. 1995 May; 10 (5):1246-71.
 - Verhulst SM, Cohlen BJ, Hughes E, Te Velde E, Heineman MJ. Inseminación intrauterina para la subfertilidad de causa desconocida (Revisión Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2008 Número 4. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>. (Traducida de The Cochrane Library, 2008 Issue 3. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).
 - Werbrouck E, Spiessens C, Meuleman C, D'Hooghe T No difference in cycle pregnancy rate and in cumulative live-birth rate between women with surgically treated minimal to mild endometriosis and women with unexplained infertility after controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination. Fertil Steril. 2006 Sep; 86(3): 566-71.
 - Zapardiel Gutiérrez I., De la Fuente Valero J., Álvarez Álvarez P., Martínez-Lara A., Herrero Gámiz S. Morfología espermática, edad materna y niveles hormonales como predictores de éxito en inseminación artificial conyugal. Rev. Iberoam. Fertil. 2007; 24 (6): 357-362.

11.- ANEXO 1: REGLAS BÁSICAS DE APLICACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO EN ESTE TIPO DE TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA

Formalidad y alcance de la información general sobre las técnicas:

Por los motivos aludidos en el párrafo anterior, en la Ley de Reproducción las previsiones en materia de información a los usuarios son extraordinariamente exigentes si las comparamos con la práctica habitual en otro tipo de especialidades médicas. De entrada, se condiciona la realización de las técnicas a la aceptación libre y consciente de su aplicación por la mujer usuaria, que deberá haber sido anterior y debidamente informada de sus posibilidades de éxito, así como de sus riesgos y de las condiciones de dicha aplicación. Lógicamente, dentro de los riesgos, deben tenerse en cuenta de manera muy especial los derivados de la medicación (por ejemplo, del tratamiento hormonal mediante gonadotropinas), con mención expresa desde luego a la posibilidad de padecer una hiperestimulación ovárica.

En esta misma línea, la norma de reproducción dispone expresamente que entre la información que se le proporcione a la mujer, antes de recabar su consentimiento, tendrá que incluirse en todo caso la de los posibles riesgos, para ella misma durante el tratamiento y embarazo y para la descendencia, que se pudiesen derivar de acceder a la maternidad a una edad clínicamente inadecuada. Hay que tener en cuenta que normalmente los embarazos amplifican las patologías previas que pudiese tener la mujer, y que hay que valorar en profundidad su salud física y psicológica para afrontar la situación con unas garantías mínimas.

De igual forma, habrá que prevenirla de que puede pedir que se suspenda la aplicación de las técnicas en cualquier momento de su realización anterior a la transferencia embrionaria, lo que supone un derecho de revocación del consentimiento informado.

Pero, además, proclama la ley mencionada que deberá realizarse una información y un asesoramiento suficientes a quien desee recurrir a estas técnicas, o vayan a ser donantes, sobre los distintos aspectos y las implicaciones posibles de aquéllas, así como sobre los resultados y los riesgos previsibles. Prescribe también esta norma que la información se extenderá a las consideraciones siguientes: las de carácter biológico, los aspectos jurídicos, los aspectos éticos y las condiciones económicas de los tratamientos.

Por otro lado, la Ley de Reproducción afirma que los equipos médicos recogerán en una historia clínica, custodiada con la debida protección y confidencialidad, todas las referencias sobre los donantes y usuarios, así como los consentimientos firmados para la realización de la donación o de las técnicas, y finaliza configurando como infracción grave la omisión de la información o los estudios previos necesarios para evitar lesionar los intereses de donantes o usuarios o la transmisión de enfermedades congénitas o hereditarias.

¿Quién es el responsable de la información? ¿Cuándo se debe prestar la información al paciente?:

Precisa la Ley de Reproducción que la obligación de que se proporcione la información a los usuarios de las técnicas en condiciones adecuadas que faciliten su comprensión, incumbe a los responsables de los equipos médicos que lleven a cabo su aplicación en los centros y servicios autorizados para su práctica, lo que no obsta la muy conveniente colaboración en dicho proceso por parte de otros profesionales como los psicólogos clínicos, los biólogos o las enfermeras que formen parte del equipo asistencial.

De forma expresa, dice la ley que la aceptación de las técnicas tiene que reflejarse en un formulario de consentimiento informado, de contenido uniforme, en el que se expresen todas las circunstancias que definan la aplicación de aquéllas. También, que los equipos biomédicos y la dirección de los centros o servicios en que trabajen incurrirán en responsabilidad si, por omitir información, se lesionasen los intereses de los donantes o usuarios, o se transmitiesen a

los descendentes enfermedades congénitas o hereditarias, evitables con dicha información.

Sobre este aspecto de la responsabilidad por la información, hay que detenerse en la obligación contenida en la ley de que la utilización de los preembriones o, en su caso, del semen, los ovocitos o el tejido ovárico crioconservados, para cualquiera de los fines legales incluidos en la norma (es decir, su utilización por la propia mujer o su cónyuge, la donación con fines reproductivos, la donación con fines de investigación o el cese de su conservación sin otra utilización) requiere del consentimiento informado correspondiente debidamente acreditado. Y matiza, además, que en el caso de los preembriones, el consentimiento deberá haber sido prestado por la mujer o, en el caso de la mujer casada con un hombre, también por el marido, con anterioridad a la generación de los preembriones. Esto último constituye una llamada a la reflexión de las parejas a la hora de generar preembriones sobrantes y, al mismo tiempo, una responsabilidad para los profesionales sanitarios y centros en esta materia, que no deben descuidar el momento de llevar a cabo la labor de ilustración a los usuarios de las técnicas acerca de estas cuestiones.

Ni que decir tiene también la importancia de ilustrar a las parejas o mujeres solas acerca del mecanismo de actualización de su consentimiento sobre los preembriones congelados, previniéndolas de las consecuencias de no contestar a las solicitudes de los centros y de no firmar el correspondiente documento de renovación o modificación del consentimiento informado. En este punto consideramos que el citado mecanismo puede resultar también aplicable, por analogía, cuando se trata de ovocitos congelados, pues no tendría sentido permitirlo respecto de los preembriones y no reconocerlo en cuanto a los ovocitos. Esta laguna del legislador se puede deber a que no contaba con la eficacia y generalización actual de los procesos de vitrificación de ovocitos.

El consentimiento informado de las parejas casadas y de las parejas de hecho, incluidas las parejas de lesbianas:

La Ley de Reproducción establece claramente que cuando la mujer estuviese casada se precisará, además de su consentimiento personal, el de su marido, salvo que estuviesen separados legalmente o de hecho y así conste de manera fehaciente. Esta previsión implica, en la práctica, que los centros tienen que recabar necesariamente el dato del estado civil de los usuarios de las técnicas, con el objeto de poder solicitar a las parejas o mujeres solas los consentimientos informados adecuados a cada situación.

En el supuesto de parejas de hecho no casadas, de la ley se desprende que el consentimiento del varón prestado antes de la realización de las técnicas, tanto si se emplearon sus propios gametos como si se usaron otros procedentes de un banco de donantes, implica la determinación de la filiación respecto de la descendencia que se origine. De ahí la importancia de advertir al interesado la trascendencia de su firma del documento, que equivale a la asunción de la paternidad sobre el futuro hijo. Obviamente, si el varón no casado no está dispuesto a firmar el consentimiento, tampoco podrán utilizarse sus gametos para la fecundación de su compañera, dada la prohibición legal de constituirse en un donante a la carta. En este supuesto habría que reconducir a la mujer al protocolo de la mujer sola.

Por lo que se refiere a las parejas de lesbianas, hay que comenzar recordando que la Ley de 2005 de Equiparación del Matrimonio Homosexual (que habilitó la posibilidad de que se realizase entre parejas del mismo sexo), estableció expresamente que las disposiciones legales y reglamentarias del resto del ordenamiento jurídico que contuviesen alguna referencia al matrimonio tendrían que entenderse en lo sucesivo aplicables con independencia del sexo de sus integrantes.

Llevado este precepto al contexto de la Ley 14/2006, sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida, nos encontramos con que cuando en ella se establece, como en materia de contraer matrimonio, comprobamos que si la mujer estuviese casada se precisará además el consentimiento del marido (a menos que estuviesen separados legalmente o de hecho y así conste fehacientemente), esta alusión debe entenderse, *mutatis mutandi*, como referida al

otro cónyuge, sea éste varón o mujer. De este modo, si el matrimonio está integrado por dos mujeres, se requiere, además del consentimiento informado de la mujer directamente usuaria de las técnicas, el consentimiento informado de la otra mujer no usuaria, en este último caso, en iguales términos que se venía haciendo hasta ahora con el marido.

En definitiva, cuando se trata de parejas de lesbianas es obligado el consentimiento del otro cónyuge femenino, aunque no sea usuario de las técnicas, y su prestación origina que la filiación del futuro hijo pueda ser matrimonial (será hijo de dos madres).

El consentimiento informado de los donantes:

En materia de donantes ya explicamos que la ley obliga a que reciban una información completa, aunque en este caso hay que destacar la exigencia complementaria de proceder a una evaluación psicológica, donde puedan ser informados de las consecuencias de su actuación en el citado plano.

También, con motivo de la recaudación del consentimiento informado, resulta importante exponer a los donantes todo lo referente a la preservación del anonimato y sus excepciones en caso de peligro cierto para la vida o la salud del hijo (o cuando proceda según las normas procesales penales), así como la cuestión de la gratuidad de su donación y del alcance de la compensación económica resarcitoria. Igualmente, habrá que advertirles de la posibilidad de revocación de su consentimiento en el supuesto de que precisasen para sí los gametos y aunque estuviesen disponibles (incluyendo la advertencia de devolución de gastos), así como de las pruebas que se les van a realizar, lo que conecta con el Real Decreto de normas de calidad y seguridad para la donación, de 2006.

Consentimiento informado en el diagnóstico genético preimplantacional:

En el DGP tenemos que explicar a los usuarios el régimen legal de autorización previsto en la ley. Además hay que resaltar dos cuestiones:

- La importancia de llevar a cabo un consejo genético en debidas condiciones con la pareja o mujer sola que desea someter sus embriones a esta técnica, ilustrándolos ampliamente, entre otros aspectos, sobre las posibilidades diagnósticas reales con referencia al estado de conocimiento de la ciencia. Esta información será mucho más completa, incluyendo las repercusiones de todo tipo, si se tratase de un DGP con finalidad terapéutica para tercero.
- En caso de que fuese preciso llevar a cabo pruebas genéticas previas en los propios progenitores, entonces el consentimiento informado correspondiente deberá ser respetuoso con las exigencias legales de la mencionada Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, e incluir la serie de puntos de información que allí se mencionan. En consecuencia, en este segundo supuesto se hace preciso complementar las previsiones de la Ley de Reproducción con lo establecido en la Ley de Investigación Biomédica.

11.- ANEXO 2: NORMAS DE RECOGIDA DE SEMEN

- Deberá guardar abstinencia sexual entre 2 y 7 días previos a la recogida de la muestra.
- No debe pasar más de una hora entre la recogida de la muestra y su entrega en el laboratorio, la muestra deberá venir a temperatura corporal.
- La recogida de muestra se hará por masturbación.
- No usar cremas, lubricantes o preservativos para la recogida de la muestra.

Procedimiento:

- Micción previa (orinar).
- Lavar bien las manos y los genitales.
- Enjuagar bien para que no queden residuos de jabón.
- Secarse con toallas de papel desechables o gasas estériles.
- Masturbación.
- Eyacular directamente en el envase, evitando tocar con el pene o con los dedos las paredes internas del envase.
- Cerrar el envase y mantenerlo en posición vertical.
- Poner el nombre, la hora y minutos de la recogida de semen.
- En caso de que parte de la muestra se pierda (caiga fuera del frasco) deberá comunicarse al laboratorio.
- Si el paciente está tomando alguna medicación o tuviese algún proceso febril en los dos meses previos al análisis deberá comunicarlo al laboratorio.

Recogida fraccionada:

- En pacientes con esterilidad de origen inmunitario algunos autores establecen la conveniencia de recoger la muestra en dos fracciones.
- Si se utilizan dos frascos, el primer frasco debe contener medio de cultivo tamponado, 2-3 ml, para diluir lo más posible los anticuerpos.
- Fracción inicial o split que corresponde a la primera porción de lo eyaculado en el que se recogería el 90% del total de los espermatozoides y poco plasma seminal.
- Una segunda fracción con menor proporción de espermatozoides y de menor calidad.

11.- ANEXO 3: SEMINOGRAMA

Análisis macroscópica

- Incubación de la muestra tras recepción:
 - Si el análisis microscópico se realiza a 37°C debe incubarse a 37°C, si el análisis se realiza a temperatura ambiente, incubar a temperatura ambiente.
 - Homogeneizado de la muestra: siempre en el propio bote de recogida de la muestra, lo ideal mezclado con un agitador orbital de dos dimensiones durante 25-30 minutos, opcional es una agitación suave con cierta frecuencia, nunca usar un vortex.
 - Inicio de la valoración:
 - Licuefacción:
 - Esperar 30-60 minutos para que se licúe a 37°C y si es posible en incubador.
 - No esperar más de una hora. Si tarda más de una hora en licuar se considera anormal.
 - En licuefacción anormal se anota como comentario la presencia de abundantes / escasos grumos gelatinosos en el frasco.
 - La presencia de hilos de moco, signo de licuefacción incompleta, puede dificultar el recuento.
 - Las muestras que no licúan requerirán tratamiento mecánico o químico:
 - Mesturado mecánico con aguja de punta gruesa, punta roma de calibre 18G-19G.
 - Mezclado mecánico con aguja de punta gruesa punta roma de calibre 18G-19G.
 - Dilución 1+1 con medio de cultivo y pipeteo suave.
 - Método enzimático con bromolina (enzima proteolítica) diluir 1+1 con semen, mezclar, dejar incubar 10 minutos y mezclar de nuevo.
 - Se ha de corregir la dilución 1+1 en la evaluación, concentración...
 - Viscosidad:
 - Debe evaluarse tras la licuefacción.
 - Método 1: se aspira suavemente la muestra con una pipeta de boca ancha y se deja gotear.
 - Normal: normal si caen gotas sueltas o si deja un hilo <2cm.
 - Anormal: si el hilo es mayor.
 - Método 2: se introduce una varilla de cristal en la muestra y se eleva.
 - Normal si deja un hilo <2cm.
 - Anormal si el hilo es mayor.
- La viscosidad ha de ser homogénea. Los métodos para reducirla son los mismos que para la licuefacción.
- Apariencia:
 - Debe evaluarse tras la viscosidad, se valora el color y la opacidad:
 - Color:
 - Normal: gris opalescente.
 - Variaciones anormales:
 - Marrón rojizo: presencia de hematíes.
 - Amarillento: paciente con ictericia, tratamiento con algunas vitaminas.
 - Otras variaciones:
 - Tendencia al blanco → predominio prostático.

- Tendencia al amarillento → predominio a vesículas seminales.
- Opacidad → el semen ha de ser opaco, si es traslúcido ha de sospechar baja celularidad.

Volumen:

- Su medida ha de ser precisa:
 - Método 1:
 - Recoger la muestra seminal en un contenedor prepesado.
 - Pesar el contenedor con la muestra.
 - Asumir que la densidad del semen es 1g/ml (oscila entre 1,043 a 1,102g/ml).
 - Método 2:
 - Recoger la muestra en un vaso modificado de boca ancha graduado y leer directamente.
- Valor de referencia: volumen 1,5 ml.
 - Hipospermia: Volumen < 1,5 ml: Hipospermia (término extendido aunque no figura en el manual de la OMS2010).
 - Aspermia: Ausencia de eyaculado.

pH

- Evalúa el balance entre los diferentes pH de las diferentes secreciones del eyaculado, deberá ser evaluado a los 30 minutos de eyaculado y nunca más de 1 hora.
 - Mezclar bien el semen.
 - Verter una gota de semen en el papel indicador (rango de 6.0 a 10.0).
 - Esperar 30 segundos y comparar con el patrón conocido.
- Muestras viscosas: evaluar en una alícuota el pH con pHmetro.
- Valor de referencia pH 7,2 (consenso).

Análisis macroscópica

Concentración

Protocolo:

1. Determinar la dilución adecuada para el contaje.
 - Poner 6 uL de semen bien mezclado sobre un portaobjetos y encima un cubre de 18x18 mm:
2. Preparar la dilución.
3. Cargar cámara de contaje (hemocitómetro de Neubauerd).
4. Dejar reposar en cámara húmeda 10-15 min.
5. Contar por lo menos 200 espermatozoides/ duplicado.
6. Comparar valores y establecer si se aceptan o no.

Diluyente o fijador: Bicarbonato al 5% (50 gr. NaHCO (bicarbonato sódico) + 10 ml de solución de formaldehido al 35% (v/v) en agua destilada hasta 1000mL), filtrar, se conserva a 4°C hasta 12 meses.

- Tomar primero el volumen de diluyente en un tubo y luego añadir sobre éste el volumen adecuado de semen previamente homogeneizado, mezclar durante 10 seg. e inmediatamente llenar la cámara del hemocitómetro con 10 µl, dejar reposar por lo menos 4 minutos en cámara húmeda.

Table 2.3 Semen dilutions required, how to make them, chambers to use and potential areas to assess:

Spermatozoa per x 400 field	Spermatozoa per x 200 field	Dilution required	µl of semen	µl of fixative	Chamber	Area to be assessed
>101	>404	1:20 (1+19)	50	950	Improved Neubauer	grids 5,4,6
16-100	64-400	1:5 (1+4)	50	200	Improved Neubauer	grids 5,4,6
2-15	8-60	1:2 (1+1)	50	50	Improved Neubauer	grids 5,4,6
<2	<8	1:2 (1+1)	50	50	Improved Neubauer or large volume	all 9 grids entire slide

Contaje

- Cámara Makler solo para IAC/FIV/ICSI: (Cargar una gota de 10 µL).
- Cámara Neubauer (Seminogramas y test diagnósticos de capacitación).
- Contar por lo menos 200 espermatozoides.
 - Empezar por el cuadrado central fila por fila hasta 200 espermatozoides.
 - Contar filas completas.
 - Si fuese necesario seguir contando en celdas adyacentes.
- Anotar el número de filas usadas para conseguir los 200 espermatozoides, anotar el núm. de espermatozoides contados.
- Volver a contar otros 200 espermatozoides, calcular la suma y la diferencia entre los dos contajes y comparar los resultados con las tablas (Manual OMS 2010), si la diferencia entre los dos es menor que el valor de la tabla se acepta el resultado, si es mayor se descarta y se comienza de nuevo.

Table 2.4 Acceptable differences between two replicate counts for given suma:

Sum	Acceptable difference*
144-156	24
157-169	25
170-182	26
183-196	27
197-211	28
212-226	29
227-242	30
243-258	31
259-274	32
275-292	33
293-309	34
310-328	35
329-346	36
347-366	37
367-385	38
386-406	39
407-426	40
427-448	41
449-470	42
471-492	43
493-515	44
516-538	45
539-562	46
563-587	47

* Based on the rounded 95% confidence interval

Table 2.5 Acceptable differences between two counts for a given sum: low concentrations

Sum	Acceptable difference*
35-40	12
41-47	13
48-54	14
55-62	15
63-70	16
71-79	17
80-89	18
90-98	19
99-109	20
110-120	21
121-131	22
132-143	23
144-156	24
157-169	25
170-182	26
183-196	27
197-211	28
212-226	29
227-242	30
243-258	31
259-274	32
275-292	33
293-309	34
310-328	35
329-346	36
347-366	37
367-385	38
386-406	39
407-426	40
427-448	41
449-470	42
471-492	43
493-515	44
516-538	45
539-562	46
563-587	47

* Based on the rounded 95% confidence interval

Cálculo de la concentración espermática:

- Anotar el núm. de filas usadas para alcanzar los 200 espermatozoides.
- Anotar el núm. de espermatozoides contados.
- $C = (N/n) \times 1/v \times \text{factor de dilución}$.
- C= concentración (millones espermatozoides/ml).
- N= núm. espermatozoides contados en las dos cámaras de contaje.
- n= núm. de filas contadas entre las dos cámaras de contaje.
- v= volumen del total de filas contadas.
- Factor de dilución = factor de dilución empleada Normal $\geq 15 \times 10^6$ espermatozoides / mL.

Normal $\geq 15 \times 10^6$ espermatozoides / mL.

Núm. total espermatozoides: $\geq 39 \times 10^6$ espermatozoides / mL.

Muestras con bajo o nulo contaje: oligozoospermia

- Preparación en fresco: · 6µl de semen en porta + cubre de 18 x 18 mm (profundidad de volumen de 20 µm).
 - Si no es necesario determinar la concentración precisa en muestras con baja concentración:
 - No hacer nada adicional.
 - $C < 2 \times 10^6$ /mL (indicar si se encuentran espermatozoides móviles o no).
 - Si no se encuentran espermatozoides en la preparación en fresco centrifugar una alícuota de 1mL a 3000 g 15 minutos, rechazar el sobrenadante y volver a suspender en 50 µL de plasma seminal, poner 10 µL en un porta + cubre de 22x22 mm, examinar al microscopio con objetivo 20x, contar todo el cubre campo por campo.
 - Criptozoospermia: si se encuentran espermatozoides.
 - Azoospermia: si no se encuentran espermatozoides.
 - Si se encuentran espermatozoides a baja concentración y es necesario determinar una concentración exacta.
 - Contar en toda la cámara de Neubauer.
 - Sin centrifugar la muestra.
 - Con dilución 1:2.

Protocolo igual a las muestras normales, varía la dilución y las tablas de aceptación.

$C = (N/n) \times 1/100 \times \text{factor de dilución}$.

CASA: computer- aided sperm analysis son equipos automáticos útiles para valores entre $2-50 \times 10^6/\text{mL}$ (valores $>$ de 50 diluir la muestra).

Vantajas: alta precisión, proporciona datos cuantitativos de parámetros cinéticos.

Concentración de otras células

- Células redondas (células germinales o leucocitos).
- Células epiteliales.
- Cabezas o colas aisladas.
- Contar en cámara de Neubauer sin diluir la muestra:
 - $C = \text{Concentración de células redondas (mill/mL)} = S \times (N / 400)$.

- S= concentración de espermatozoides (mill. mL).
- N= núm. de células encontradas.
- Se pueden encontrar algunos hematíes sin que esto implique patología.
- Bacterias y protozoos no se encuentran habitualmente, si hay signos de microorganismos debe anotarse en el informe.
- Para diferenciar los leucocitos de las células espermáticas se usa la tinción de la peroxidasa.

Morfología Espermática

- Deben prepararse por lo menos dos extensiones para evaluar por duplicado.
- Usar portaobjetos limpios, lavados con etanol al 70% y secados.
- Identificar los portas.
 - Preparar la extensión: necesitamos dos portas por extensión.
 - A: Método de arrastre para semen sin diluir: la gota de semen se distribuye sobre el hilo inferior del portaobjeto inclinado y se arrastra sobre el otro portaobjeto para formar una extensión.
 - B: Método para muestras lavadas: la gota de suspensión se distribuye sobre la superficie del portaobjeto con una pipeta mantenida en horizontal.
- Mostras de seme normal:
 - Poner 5-10 μ L de semen sobre un extremo, extender la muestra con ayuda de otro porta según el método A, secar al aire y teñir.
- Muestras con baja concentración espermática < de 2×10^6 concentrar la muestra:
 - Centrifugar a 2000 rpm durante 10 min.
 - Eliminar la mayor parte del sobrenadante.
 - Volver a suspender el Pellet con pipeta, obtener la mayor concentración posible no superando 50×10^6 /mL.
 - Tratar como una muestra normal.
- Muestras de semen viscosas:
 - Deben lavarse para evitar extensiones no homogéneas. Usar método B de extensión.
 - Tinción: Papanicolau es la recomendada por la OMS.
 - Contaje:
 - Objetivo de inmersión de 100 x de campo claro y un ocular de por lo menos 10 x.
 - Evaluar en varias áreas del porta.
 - Clasificar cada espermatozoide contado.
 - Es esencial emplear un ocular micrométrico para estimar el tamaño de los espermatozoides.
 - Contar 200 espermatozoides consecutivos y si el diagnóstico y tratamiento del paciente depende del porcentaje de morfología, evaluar 200 veces más (total 400).
 - Cabeza teñida de azul claro es la región acrosomal, azul oscuro es la zona post acrosomal, pieza media aparece color rojizo, la cola se tiñe de azul o rojo, las gotas citoplasmáticas situadas en la pieza media se tiñen de verde.
- Índice de teratozoospermia = núm. de defectos / núm. de espermatozoides defectuosos.
 - Valor entre 1 y 3 <1.6 menores tasas de gestación sin trato.
- Índice de deformidad de los espermatozoides = núm. de defectos / núm. total de

espermatozoides.

- Valor <1.6 predice fracaso de la FIV.
- Existen algunas compañías que ofrecen paquetes para examinar la morfología por ordenador:
 - lavar la muestra con suero salino.
 - centrifugar, decantar, volver a suspender.
 - hacer la extensión con 5-10 μ l.
 - contraste de fases 400x40 espermatozoides.
 - asegurarse de que por lo menos hay por campo.
- Teratozoospermia: < 4% de formas normales (Manual de la OMS 2010).

Vitalidad espermática:

- Debe realizarse en muestras con más de 50% de espermatozoides inmóviles para diferenciar el % de las formas vivas de las muertas. Indican la permeabilidad de la membrana celular. Las células con membrana intacta no se tiñen.
- Se realizará tan pronto como sea posible tras la licuefacción de la muestra.
- Antes de que transcurra 1 hora posterior a la eyaculación.
- Técnicas por tinción:
 - Test de eosina / nigrosina: 10 g nigrosina + 100mL solución de eosinaY, calentar la suspensión y dejar enfriar a temperatura ambiente, filtrar y almacenar en recipiente oscuro.
 - Test de eosina: 0.69 g eosinaY+ 0.9g NaCL en 100 mL H₂O d.
- Tomar 50 μ l de semen (previamente homogeneizado) y mezclar con otros 50 μ l de eosina - nigrosina. Dejar actuar 30 seg. Tomar una 2^a muestra para hacer por duplicado.
- Hacer una extensión en porta, secar al aire.
- Examinar al microscopio con objetivo 100 x y aceite de inmersión, y contar el núm. de células teñidas (muestras) de las no teñidas (vivas). Evaluar 200 espermatozoides en cada porta.
- Calcular la media y mediana entre ambos resultados y determinar si se aceptan los valores en las tablas (Manual OMS 2010), aceptar o rechazar los resultados.
 - Test de hinchazón hiposmótica (test de HOS): preparar una solución hiposmótica:
 - 0,735 g citrato sódico + 1,351 g D -fructosa en 100mL H₂O d. Alicuotar y congelar a -20°C. Se consideran espermatozoides vivos aquellos que presentan algún engrosamiento por pequeño que sea de la cola. Se usa para técnicas de TRA.
- Núm. total de espermatozoides con membrana intacta en eyaculado=
 - Volumen x concentración x % vitalidad.
 - mL x mill.espermatozoides/ml x % = mill.espermatozoides vivos.
 - Normal > 58% vivos (5th centil,95 % CI 55-63).

Aglutinaciones:

- Espermatozoides móviles unidos entre si, cabeza-cabeza, cola-cola, ou combinados.
- Calquera presenza de espermatozoides aglutinados debe ser anotada.
 - Grado 1: illados; < de 10 espermatozoides/aglutinados. Moitos libres.

- Grado 2: moderado; 10-50 espermatozoides /aglutinados. Moitos libres.
 - Grado 3: maior; > de 50 espermatozoides/aglutinados. Algúns libres.
 - Grado 4 (severo); todos aglutinados ou os aglutinados interconectados.
- Segundo localización:
- A: Cabeza con cabeza.
 - B: Flaxelo con flaxelo, as cabezas claramente libres.
 - C: Flaxelos aglutinados en toda a súa lonxitude.
 - D: Mixto; cabeza-cabeza e flaxelo con flaxelo.
 - E: Cabeza e flaxelo enmarañados.

Agregaciones no específicas:

- La adhesión entre espermatozoides inmóviles o móviles a hilos de moco o a otras células no espermáticas o a residuos. Su presencia debe ser anotada.

Anticuerpos antiespermatozoides:

- Los anticuerpos antiespermatozoide (AAE) interfieren en la función espermática:
 - Citotoxicidad: muerte del espermatozoide y movilidad disminuida.
 - Aglutinación – agregación de espermatozoides.
 - Deterioro de la interacción espermatozoide – moco cervical: “shaking”: movilidad vibratoria.
 - Bloqueo de la unión a la zona pelúcida; deterioro de los eventos de la reacción acrosómica.
 - Inhibición de la fusión espermatozoides - ovocito.
- Indicaciones:
 - Varicocele, infecciones víricas/bacterianas, procesos oncológicos, obstrucción parcial de vías seminales, contusión o lesión grave, vasectomías, fallos de inseminación, movilidad muy baja, test post-coital con mal resultado, aglutinación de espermatozoides.
 - Pruebas diagnósticas:
 - Directas: en el espermatozoide.
 - Reacción mixta de inmunoglobulinas (MAR-Test) (SpermMar).
 - Prueba de inmunopartículas (IBT –Test) (Inmunobead).
 - Indirectas: en el plasma seminal o en el suero:
 - Suero / plasma seminal + espermatozoide de donante ► Test directo.
- Resultados:
 - Realizar un conteo de por lo menos 200 espermatozoides móviles y por duplicado.
 - Calcular el porcentaje de espermatozoides móviles con partículas adheridas.
 - Determinar el isotipo de anticuerpo utilizado (IgA o IgG).determinar el lugar preferente de unión de las partículas de látex en el espermatozoide (cabeza, segmento intermedio, cola)
 - Si el espermatozoide lleva anticuerpos en su superficie, las partículas de latex e uniran a ellos : espermatozoide positivo
 - Los espermatozoide moviles que no llevan anticuerpos en su superficie, nadan libremente sin las partículas de latex adheridas: espermatozoide negativo.
 - Los espermatozoides inmoviles no se cuentan

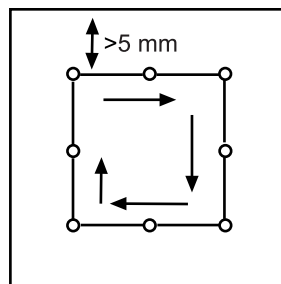
- Si > 50% de espermatozoides móviles tiene anticuerpos, es probable un problema inmunológico.
 - En FIV disminuyen las tasas de gestación y aumentan las tasas de aborto.
 - La ICSI es la mejor opción de tratamiento.

Movilidad espermática:

- Evaluación inicial a los 30 min. tras el eyaculado a 100x
- Se realiza a 200x ó 400x en contraste de fases esperar a que la muestra deje de desplazarse(60").
- Evaluar sólo en la zona central del cubre, dejando un margen de 5mm.

Fig A7.3 Aid to assessing sperm motility.

Systematic scanning of fields for video-recording of sperm motility at least 5mm from the edges of the coverslip.



- Contar por duplicado en dos portaobjetos 200 espermatozoides por porta en al menos cinco campos. Comparar duplicados según las tablas si la diferencia es inaceptable volver a preparar nuevos portaobjetos
- Solo evaluar espermatozoides completos, no contar cabezas sueltas, no se evalúan espermatozoides agregados o aglutinados.
- Categorías:
 - .Movilidad progresiva (PR) : cualquier movilidad activa, ya sea lineal o en gran círculo, independiente de su velocidad.
 - .Movilidad no progresiva(NP):
 - Cualquier forma de movimiento sin progresión, pequeños círculos
 - Batido de cola que apenas mueve la cabeza.
 - Movimiento sólo del flagelo.
 - Inmóviles(IM) : sin movimiento.
- Calcular el porcentaje de móviles: PR +NP.

Valores de referencia:

- Movilidad total: (PR)+(NP) ; 40% (IC38 a 42).
- Movilidad progresiva (PR); 32% (IC 31a 34).

Están los sistemas automáticos CASA (análisis seminal asistido por ordenador) para evaluación de la movilidad para muestras > de 2×10^6 y < de 50×10^6 . Muestras $> 50 \times 10^6$ deben ser diluidas

con plasma seminal.

Seminograma. Valores De Referencia (Manual Oms 2010):

- Volume $\geq 1,5$ mL
- pH 7,2 ou máis
- Concentración de espermatozoides: 15 millóns ou máis /ml
- Reconto total: 39 millóns ou máis por exaculado
- Mobilidade MP+NP $\geq 40\%$
- Morfoloxía ≥ 4 % de formas normais
- Leucocitos < 1 millón/ml
- Anticorpos antiespermatozoide en seme $< 50\%$ de espermatozoides con partículas unidas
- Vitalidade 75% ou máis

Table A1.1 Lower reference limits (5th centiles and their 95% confidence intervals) for semen characteristics

Parameter	Lower reference limit
Semen volume (ml)	1.50 (1.4-1.7)
Total sperm number (10^6 per ejaculate)	39 (33-46)
Sperm concentration (10^6 per ml)	15 (12-16)
Total motility (PR+NP, %)	40 (38-42)
Progressive motility (PR, %)	32 (31-34)
Vitality (live spermatozoa, %)	58 (55-63)
Sperm morphology (normal forms, %)	4 (3.0-4.0)
Other consensus threshold values	
pH	≥ 7.2
Peroxidase-positive leukocytes (10^6 per ml)	< 1.0
MAR test (motile spermatozoa with bound particles, %)	< 50
Immunobead test (motile spermatozoa with bound beads, %)	< 50
Seminal zinc (μmol /ejaculate)	≥ 2.4
Seminal fructose (μmol /ejaculate)	≥ 13
Seminal neutral glucosidase (mU/ejaculate)	≥ 20

Nomenclatura Empregada Para A Clasificación Do Seme

- Normozoospermia: dentro valores de referencia.
- Oligozoospermia: concentración < 15 mill/ml.
- Astenoospermia: mobilidade PR $< 32\%$.
- Teratoospermia: $< 4\%$ formas normais.
- Azoospermia: non se observan espermatozoides en el eyaculado despois de centrifugar toda a mostra a 3000 rpm 15 minutos.

- Aspermia: Ausencia de exaculado.

Table A1.3 Nomenclatura related to semen quality

Aspermia	No semen (no or retrograde ejaculation)
asthenozoospermia	percentages of progressively motile (PR) spermatozoa below the lower reference limit
asthenoteratozoospermia	percentages of both progressively motile (PR) and morphologically normal spermatozoa below the lower reference limits
azoospermia	no spermatozoa in the ejaculate (given as the limit of quantifications for the assessment method employed)
cryptozoospermia	spermatozoa absent from fresh preparations but observed in a centrifuged pellet
haemospermia (haemospermia)	presence of erythrocytes in the ejaculate
leukospermia (leukocyto-spermia,pyospermia)	presence of leukocytes in the ejaculate above the threshold value
necrozoospermia	low percentage of live, and high percentage of immotile, spermatozoa in the ejaculate
normozoospermia	total number (or concentration, depending on outcome reported)* of spermatozoa, and percentages of progressively motile (PR) and morphologically normal spermatozoa, equal to or above the lower reference limits
oligoasthenozoospermia	total number (or concentration, depending on outcome reported)* of spermatozoa, and percentage of progressively motile (PR) spermatozoa, below the lower reference limits
oligoasthenoteratozoospermia	total number (or concentration, depending on outcome reported)* of spermatozoa, and percentages of both progressively motile (PR) and morphologically normal spermatozoa, below the lower reference limits
oligoteratozoospermia	total number (or concentration, depending on outcome reported)* of spermatozoa, and percentage of morphologically normal spermatozoa, below the lower reference limits
oligozoospermia	total number (or concentration, depending on outcome reported)* of spermatozoa below the lower reference limits
teratozoospermia	percentage of morphologically normal spermatozoa below the lower reference limit

Control de calidad interno

- Una de las funciones básicas de un laboratorio es la producción de resultados fiables y de alta calidad con el fin de establecer correctamente :diagnostico, pronostico, seguimiento.
 - Objetivo: conocer los errores y diseñar mecanismos para corregirlos para así mejorar los resultados del laboratorio.
 - Necesitamos:
 - 1.Preparar y mantener una documentación específica.
 - Elaboración de Manuales:
 - Procedimientos generales y protocolos
 - Métodos de trabajo
 - Inventario del equipo y material
 - Normas de seguridad en el laboratorio

- Normas de manejo del material biológico
- Procedimientos de limpieza
- Mantenimiento y calibración de aparatos.
- Libro de Registros:
 - Actividad diaria e incidencias
 - Periodos y recepción de material
 - Consumo de reactivos
 - Mantenimiento y calibración de equipos
 - Controles internos de calidad.
 - Controles externos de calidad
- 2. Modificar métodos de trabajo.
- 3. Controles periodicos entre los miembros del laboratorio
- 4. Analizar las desviaciones encontradas.
- 5. Adoptar medidas correctoras.

10.- ANEXO 4: PRUEBAS DE CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA

- Tienen como finalidad separar los espermatozoides más móviles de: plasma seminal, espermatozoides muertos, células y detritus.
- Concentrar y separar los espermatozoides normales y con mejor movilidad en un pequeño volumen de medio=REM (recuperación de espermatozoides móviles).
- Reproduce la capacitación fisiológica, induce los procesos activación espermática.
- La muestra de semen se recoge la mañana de la punción folicular.
- El tiempo transcurrido entre la recogida de la muestra de semen y el inicio de la capacitación no debe exceder de los 60 minutos.
- Colocar el colector sobre la platina calefactada.
- Esperar 30-60 minutos para que se licúe.
- Identificar los tubos que se vayan a emplear para capacitación con el/los apellido/s de la paciente.
- Valorar contaje, motilidad, volumen, consistencia, presencia de agregados.
- Los espermatozoides sobreviven con movilidad 48 horas en semen capacitado.
- Siempre se guardan los sobrenadantes en el colector de semen correspondiente al paciente.
- El semen capacitado se deja en el bloque térmico hasta su utilización.
- El semen capacitado se valora en 1 ml.
- Métodos disponibles:
 - Lavado simple.
 - Métodos de migración: swim-up.
 - Métodos de centrifugación.
 - Métodos de filtración.
- Lavado simple: concentración espermática por centrifugación.
 - Muestras de semen con contaje < 100.000 espermatozoides móviles progresivos/mL
 - Sencillo y barato de realizar.
 - No se realiza una mejora del semen, solo si apacita y se concentra, no hay pérdida de espermatozoides pero tampoco hay una selección de ellos.

Método:

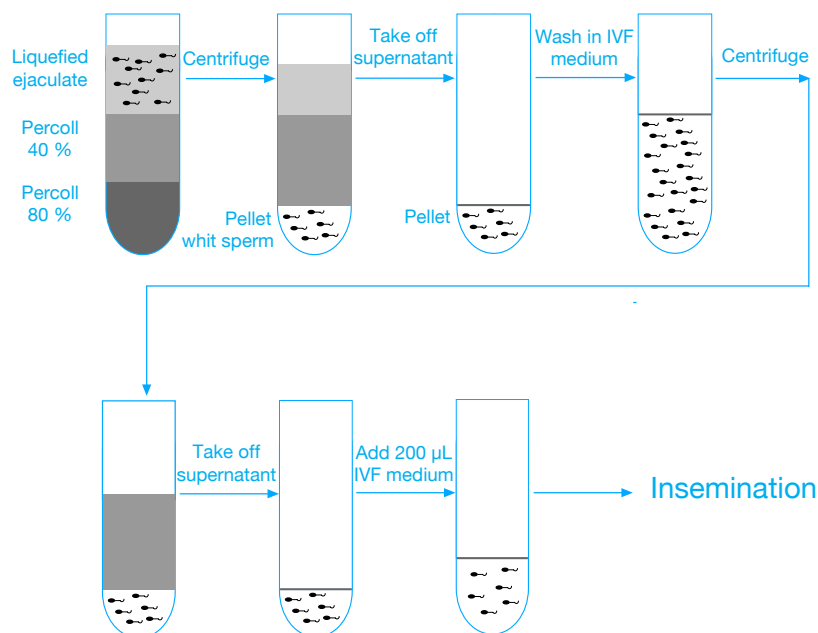
- Se pone en un tubo el semen licuado y se añade medio de cultivo 1:1.
- Homogeneizar y centrifugar a 500 g durante 5-10 min.
- Retirar el sobrenadante y añadir 0,3-0,5mL de medio fresco.
- Incubar 20-30 min (inducción espermática).
- Si en la muestra en fresco no se observan espermatozoides, centrifugar toda la muestra. Eliminar sobrenadante, añadir 0.5 mL de medio de cultivo. Si no se ven espermatozoides centrifugar el sobrenadante a 3000 g 10 minutos.

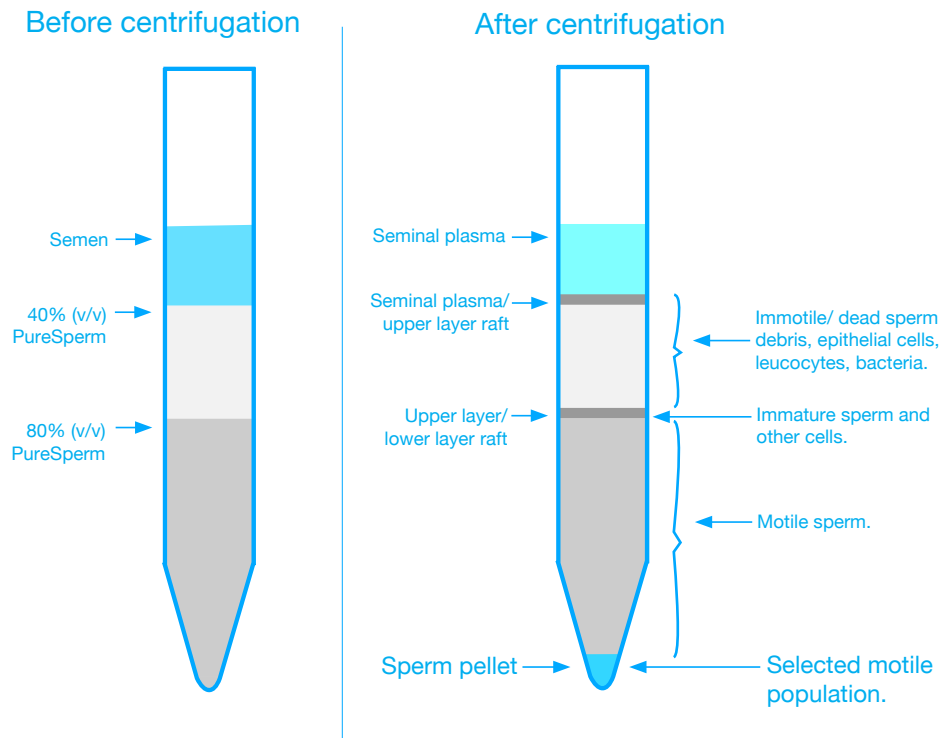
Gradientes de densidad

- Objeto: Descripción de la técnica de capacitación de semen.
- Campo de aplicación: Muestra de semen.
- Contenido:
 - Principio de medida:
 - Se basa en que solo los espermatozoides de mejor calidad vencen la dificultad que representan los gradientes y llegan al fondo del tubo.
 - Seleccionar los espermatozoides por su densidad, idealmente quedarían en el fondo del tubo solo espermatozoides móviles en su estadio final de madurez. (Los espermatozoides con DNA compacto tienen densidad mayor que la del gradiente de 90%).
 - La eficacia de la separación de espermatozoides móviles depende de las características del semen: volumen, conteo, movilidad, presencia de agregados o de células.
 - Para las técnicas de reproducción asistida se puede variar la velocidad de centrifugación, el tiempo de centrifugación, el tamaño de los gradientes o el volumen de muestra para capacitar con el fin de obtener espermatozoides suficientes.
 - Los gradientes habituales son 80 y 40.
 - Características de la técnica de gradientes:
 - Es la técnica más utilizada y la aconsejable en muestras de semen de mala calidad.
 - Remueven mejor las bacterias, células, detritus y otros posibles contaminantes que se encuentren en la muestra de semen.
 - Previenen el daño al DNA de los espermatozoides causado por las especies oxígeno reactivas al remover los espermatozoides inmaduros y linfocitos, principales generadores de especies oxígeno reactivas.
 - Con este método se recupera un mayor número de espermatozoides.
 - Orden de como quedan las fracciones después de la centrifugación:
 - Plasma seminal.
 - Espermatozoides inmóviles, muertos, células epiteliales, leucocitos, bacterias.
 - Espermatozoides inmaduros.
 - Espermatozoides móviles (sedimento).
 - Cuando el volumen de muestra de semen es mayor de 2 ml con el conteo y movilidad normal preparar más tubos de gradientes.
 - Con conteo de espermatozoides móviles < 5 millones de espermatozoides móviles utilizar un solo tubo con 0.75 de gradientes y un solo lavado.
 - Cuando solo se observa algún espermatozoide móvil en la zona de conteo de la cámara se utiliza un solo tubo y solo 0.5 ml de cada uno de los gradientes y un solo lavado.
 - Cuando solo se observa algún espermatozoide fuera de la zona de conteo hacer solo lavado.
 - Cuando no se ve ningún espermatozoide centrifugar a 3500 rpm 10 min.
 - Las muestras que proceden de congelación utilizar 0.5 de gradientes y hacer un solo lavado.
 - Material:
 - Tubos de pico de 14 ml con tapa, pipetas de plástico estériles, pinzas, centrífuga.
 - Medios:

- Medios de cultivo (HTF, Puresperm).
- Preparación, conservación y estabilidad:
 - Los gradientes son estables una semana en nevera.
- Control de calidad:
 - En la hoja de trabajo se habrá recogido el nombre del varón, (o datos del donante) y datos de anteriores seminogramas.
 - Las muestras y los tubos deben estar debidamente identificados.
 - Es importante que las tres fases estén bien definidas (no mover mucho).
- Procedimiento operativo:
 - Esperar 30-60 minutos para que se licúe el semen.
 - Identificar los tubos que se vayan a emplear con el/los apellido/s de la paciente.
 - Poner 1 ml del gradiente de 80 % por las paredes del tubo.
 - Poner 1 ml del gradiente de 40 % por las paredes del tubo.
 - Poner hasta 2 ml de semen también por las paredes del tubo.
 - Centrifugar a 300 g 20 minutos .
 - Recoger el sobrenadante para el colector de semen del paciente.
 - Lavados del pellet: añadir al sedimento 1 ml de medio de lavado), volver a suspender y centrifugar a 400 g 5 minutos (1860 rpm).
 - Volver a suspender el sedimento en 1 ml de medio fresco.
 - Valorar contaje y motilidad de semen capacitado.
 - Conservar la muestra capacitada en el bloque térmico hasta su uso.
 - Lavados do pellet: Engadir ao sedimento 1 mL de medio de lavado, volver a suspender e centrifugar a 400 g 5 minutos (1860 rpm).
 - Volver a suspender o sedimento en 1 mL de medio fresco.
 - Valorar reconto e motilidade de seme capacitado.
 - Conservar a mostra capacitada no bloque térmico ata o seu uso.

Sperm preparation whit the Percoll technique





Swim-up:

- Con este método se pierde un mayor número de espermatozoides, solo se recomienda en muestras de semen normal o muy buenas.
- Se basa en la movilidad de los espermatozoides, solo los móviles serán capaces de ascender al sobrenadante desde el sedimento.
- No utilizar en semen muy viscoso o con conteo muy bajo, no utilizar en muestras recogidas en medio de cultivo y no utilizar en biopsias.
- Diluir la muestra de semen en medio en proporción 1:1 o 1:2 en un tubo, mezclar.
- Centrifugar a 500-600 g 10 minutos.
- Descartar el sobrenadante para el colector, al sedimento se le añade cuidadosamente y resbalando por la pared del tubo 0.5 ml de medio de cultivo equilibrado a 37° y CO₂.
- Incubar 30-45 minutos a 37° y 5 % de CO₂ y una inclinación de 45°.
- Pasar el sobrenadante a un tubo (por lo menos 0.4 ml para IAC).
- Valorar conteo y motilidad.
- Conservar en el bloque térmico hasta su uso.

Muestras con HIV/HCV: Protocolo.

- Lavado 1: Eliminación del plasma seminal.
 - Dilución 1:1 en medio de cultivo → centrifugar a 400 g 10 min. → retirar el sobrenadante y volver a suspender en medio de cultivo.
- Lavado 2: Primero purificado de células no espermáticas, espermatozoides inmóviles y anormales.
 - Preparar en gradientes de 45%, 70%, 90% → centrifugar a 300 g 20 min → eliminar las tres fracciones superiores → volver a suspender en 2 ml de medio de cultivo repartidos

en 4 tubos.

- Lavado 3: selección de espermatozoides de mejor movilidad.
 - Centrifugar 200 g 10 min → eliminar sobrenadante → añadir 1ml de medio de cultivo → incubar 1 hora 37° C, 5% CO₂, 45° de inclinación → recoger 0,35 ml de la parte superior.
- Congelación a la espera del resultado del análisis de carga viral.
 - ½ del lavado + ½ del crioprotector → congelación → almacenamiento en criotubos sistema hermético → almacenamiento en banco único.
 - ½ ml si congela ultrarrápida → mantenimiento a -80°C hasta su análisis evitando la degradación del ARN vírico y ADN provírico.

Control de calidad externo en el análisis de semen.

- Porque los resultados están influenciados por limitaciones técnicas y humanas (errores) que hacen que nos alejemos del valor verdadero, nos permite detectar fuentes de error que conducen a una falta de exactitud (inexactitud) se estima mediante el Sesgo.
- Sesgo (Bias, error total) = valor dado por un laboratorio – el valor verdadero.
- En España existe un programa de control de calidad externo del Centro de Estudios e Investigación de la Fertilidad (CEIFER) que recomienda su aplicación práctica cada 6 meses.

10.- ANEXO 5. FICHA DE CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DEL DONANTE.

	HOMBRE	MUJER
Talla		
Peso		
Grupo y RH		
Complexion	Normal Delgada Algo obesa Obesa	Normal Delgada Algo obesa Obesa
Color piel	Pálida Morena Muy morena Negro Otros	Pálida Morena Muy morena Negro Otros
Color ojos	Ámbar Azul Marrón Negro Otro	Ámbar Azul Marrón Negro Otro
Color pelo	Cano Castaño Pelloirojo Negro Rubio	Cano Castaño Pelloirojo Negro Rubio
Textura pelo	Liso Afro Ondulado Rizado	Liso Afro Ondulado Rizado

10.- ANEXO 6: VALORACIÓN DE LA FECUNDACIÓN

- Objeto: Descripción de los parámetros que indican fecundación normal.
- Campo de aplicación:
 - Ovocitos inseminados por FIV o ICSI.
 - Valorar a las 14-18 horas tras ICSI o 16-20 h post-inseminación por FIV (desde las tres de la tarde a las 9 de la mañana van 18 horas).
 - (Con ICSI aparecen los PN unas 2-4 horas antes que después de inseminación por FIV).
- Contenido:
 - Principio de medida.
 - La fecundación supone la fusión del espermatozoide y el ovocito para producir una nueva entidad genética, procede de una serie de sucesos bioquímicos y físicos, en la etapa final se forman dos pronúcleos, uno a partir de la cromatina del espermatozoide y otro del ovocito. El PN masculino aparece cerca del sitio de entrada del espermatozoide y el femenino se origina en el polo ovoplásmico de huso meiótico. El PN masculino es más grande, entre las 15 y 17 horas después de la inseminación los PN pueden verse casi siempre uno al lado de otro y una zona más clara sin gránulos próxima a la corteza celular.
 - Criterios para evaluar la fecundación:
 - La presencia de dos pronúcleos entre las 16-19 horas después de la inseminación.
 - Visualización de dos corpúsculos polares en el espacio perivitelino.
 - Los ovocitos no fecundados no se observa PN ni CP.
 - No se puede asegurar que de los dos pronúcleos uno sea de origen paterno y otro materno.
 - Los ovocitos con 1 PN pueden ser de activación partenogenética no de fecundación (9% en ICSI, 90% en FIV), la activación resulta favorecida con el tratamiento con hialuronidasa y por el proceso de microinyección.
 - La evaluación del segundo corpúsculo polar puede inducir a error, ya que el primero puede fragmentarse.
 - La presencia de más de 2 PN puede ser por polipenetración (ovocitos inmaduros, de mala calidad, en ICSI que se microinyecten dos espermatozoides) por no extrusión del segundo corpúsculo polar (es lo más frecuente, en mujeres de bastantes años en ovocitos de mala calidad), por degeneración del ovocito que fragmentan los cromosomas, se dispersan en pequeños grupos y forman múltiples micronúcleos (en la ICSI cuando se pincha se orienta el corpúsculo polar a las 6 h o a las 12 h, aunque no se ve, se supone que la placa metafásica se encuentra debajo del corpúsculo polar, si se atraviesa esta placa se dispersan los cromosomas del ovocito).
 - Muestra:
 - Ovocitos inseminados en cultivo, en DIA + 1 (16 – 20 horas después de la inseminación).
 - Conservación y estabilidad.
 - La valoración debe hacerse en el menor tiempo posible, de manera que los cigotos estén el menor tiempo posible fuera del incubador.
 - Decumulación FIV convencional:
 - Para poder visualizar los ovocitos hay que decumular.
 - Se decumula lo necesario para la observación de los PN.

- Procedimiento decumulación FIVconvencional:
 - Localizar los ovocitos en cada gota.
 - Empezar con la pipeta de mayor grosor.
 - Decumular cada uno en su gota y pasarlo lo más limpio posible a la gota central.
 - Una vez decumulados todos pasarlos a una placa con G1, primero al centro y después uno a cada gota, anotar con una raya donde empieza la numeración, generalmente a partir del nombre.

10.- ANEXO 7: VALORACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS CIGOTOS

- Objeto: Descripción de los parámetros de valoración de la calidad de los cigotos.
- Campo de aplicación: Cigotos en cultivo.
- Contenido: Principio de medida.
 - Observación de las características morfológicas de los cigotos.
 - Muestra.
 - Cigotos en cultivo.
 - Conservación y estabilidad: realizar la valoración lo más rápido posible, evitar que estén fuera del incubador mucho tiempo.
 - Material: microscopio invertido con pletina templada a 37°.
 - Procedimiento operativo.
 - Criterios de calidad en los cigotos que predicen una mejor implantación:
 - Según la posición de los pronúcleos, los nucléolos y las características del citoplasma. Predicen una peor implantación:
 - pronúcleos muy distantes.
 - nucléolos repartidos de forma desigual y no alineados en la línea de unión de los pronúcleos.
 - citoplasma oscuro y homogéneo.
 - un número bajo (menor de 3) o muy elevado (mayor de 7) de nucléolos.
 - una gran diferencia del número de nucléolos entre los dos pronúcleos.

10.- ANEXO 8: VALORACIÓN DE LA CALIDAD EMBRIONARIA

- Objeto: descripción de los parámetros para valorar la calidad embrionaria, con el objetivo de transferir los embriones seleccionados como de mejor calidad y congelar los embriones excedentes.
- Campo de aplicación: embriones en cultivo día +2 o +3.
- Contenido:
 - Principio de medida.
 - Criterios que predicen una mejor implantación:
 - Morfología embrionaria (las anomalías cromosómicas solo se detectan por DGP):
 - Número de blastómeras.
 - Grado de fragmentación.
 - N° Blastómeras:
 - Mide la velocidad de división embrionaria.
 - En día +2 tienen 4 o más blastómeras (más de 6 es anómalo).
 - En día +3 tienen 6 o más blastómeras (no más de 10).
 - Fragmentación:
 - Grado 1: Blastómeras íntegras sin fragmentación (<11%).
 - Grado 2: Blastómeras con escasa fragmentación (12-25%).
 - Grado 3: Embrión con 26-35% de las blastómeras fragmentadas.
 - Grado 4: Embrión con >35 % de sus blastómeras fragmentadas.
 - Otros parámetros:
 - Aspecto del citoplasma: normal, presencia de anomalías como granulación gruesa, vacuolas, cuerpos refractantes.
 - Blastómeras de igual tamaño.
 - La presencia de blastómeras multinucleadas es un factor indicativo de embrión no viable debido a alteraciones cromosómicas (en menos de la mitad de los casos se ven con el microscopio invertido).
 - La adherencia entre blastómeras es indicativo de inicio de compactación, que se realiza en estadios avanzados (mórula), la aparición de adherencia en estadio de cuatro células se considera un hecho anormal, no puede ser valorado como buen predictor de implantación del embrión.
 - Expansión blastomérica, aquellos embriones que sus blastómeras tienen un contacto íntimo con la zona pelúcida a la que parecen empujar dejando un espacio perivitelino mínimo, los embriones con blastómeras expandidas tienen mejor pronóstico.

10.- ANEXO 9: CULTIVO SECUENCIAL A BLASTOCISTO

- Objeto: descripción del cultivo de embriones hasta estadio de blastocisto.
- Campo de aplicación: embriones en cultivo.
- Contenido:
 - Principio de medida:
 - Se realiza cultivo secuencial.
 - En pacientes con fallos de implantación repetidos.
 - Para evitar gestación múltiple.
 - Para congelar embriones en estadio de blastocisto.
 - El desarrollo embrionario desde la fecundación hasta que alcanza el estadio de blastocisto dura 5-6 días.
 - Día +1. Se observa si hubo fecundación.
 - Día +2. Se observan las primeras divisiones embrionarias. Embriones con 2-4 blastómeras.
 - Día +3. El embrión aumenta el número de blastómeras 6-10, variar el plano focal, las blastómeras están en distinto plano.
 - Día +4. Embrión en estado de mórula (embrión de 12-16 blastómeras), las blastómeras empiezan a compactarse.
 - Día +5. Embrión en los primeros estadios de blastocisto. Blastocisto temprano: empieza a formarse la cavidad, el blastocele (no confundir con una vacuola). Blastocisto cavitado, la cavidad ocupa más del 50 % del volumen, se observa la masa celular interna que dará lugar al embrión, el trofoectodermo que dará lugar a la placenta. Blastocisto expandido: se observa la masa celular interna, el trofoectodermo y el blastocele. El embrión aumenta de tamaño, lo que hace que la zona pelúcida sea más delgada, la mayor parte del volumen del embrión en este estadio está ocupada por la cavidad.
 - Día +6. Se observa si el embrión se encuentra en estadio de blastocisto expandido.
 - En el día +6 se transfieren o se congelan los embriones que alcanzan el estadio de blastocisto expandido.
 - Diariamente se anotan en la hoja del laboratorio las características de desarrollo del embrión.
 - Valoración de la calidad de blastocisto:
 - Grado de expansión.
 - Morfología de la masa celular interna y del trofoectodermo.
 - Blastocisto temprano cuando el blastocele es menor que la mitad del volumen total.
 - Blastocisto cuando el blastocele es mayor que la mitad del volumen total que aunque no aumentó con respecto a estadios anteriores y la zona pelúcida sigue siendo gruesa.
 - Blastocisto expandido cuando el blastocele ocupa prácticamente todo el volumen del blastocisto cuyo tamaño es superior al correspondiente a estadios anteriores y la zona pelúcida es de menor grosor.
 - El blastocisto expandido en el día +6 de cultivo se considera el de mejor calidad.
 - La morfología de un blastocisto es correcta cuando: existe un único blastocele que ocupa prácticamente todo el volumen del embrión, la masa celular interna está bien definidamente estructurada y formada por numerosas células, las células del trofoectodermo se disponen en una sola capa formando un epitelio cohesivo, la zona pelúcida está afinada antes de iniciarse la eclosión.

10.- ANEXO 10: TRANSFERENCIA EMBRIONARIA.

- Objeto: descripción del procedimiento de la transferencia de embriones.
- Campo de aplicación: embriones en células o en estadio de blastocisto, embriones descongelados.
- Contenido:
 - Principio de medida:
 - La transferencia de los embriones puede realizarse en diferentes estadios de desarrollo embrionario: cigoto, embriones de 2-8 células o embriones en estadio de blastocisto.
 - Se tendrá en cuenta para el número de embriones que hay que transferir: la edad de la paciente, historia previa y la calidad de los embriones disponibles.
 - Se transfiere hasta un máximo de 3 embriones.
 - La transferencia de embriones congelados se realiza el día de la descongelación o al día siguiente.
 - Embriones para transferir:
 - Solo se transfieren embriones procedentes de cigotos con 2PN.
 - Se transfieren los embriones de mayor calidad, los más divididos y menos fragmentados.
 - En algunas indicaciones se transfieren embriones en estadio de blastocisto, pacientes con fallo de implantación repetidos, transferencia de embriones congelados en estadio de blastocisto, se transfieren hasta un máximo de 3 blastocitos.
 - La transferencia de embriones congelados en estadio de PN, 2-4 células se realiza el día de la descongelación.
 - Muestra: embriones en cultivo.
 - Conservación y estabilidad: los embriones deben permanecer fuera del incubador el menor tiempo posible.
 - Materiales: cabina de flujo laminar, máscara, guantes, placa de transferencia, catéter de transferencia, pipetas de plástico estériles.
 - Medios: IVF, G1 o G2.
 - Procedimiento operativo:
 - En campana con guantes sin talco, gorro y máscara, gasa y aguja.
 - A veces se angula la cánula para facilitar su penetración al útero, otras se mueve el tope hasta un cm. más adelante.
 - Colocar en el extremo del catéter una jeringa de insulina con una pequeña cantidad de aire (+/- 3 ul) de dentro de la campana, pasar todo el aire por dentro de la cánula (se eliminan restos tóxicos de ella), sin sacar la jeringa aspirar hasta 0,3 de aire (volumen que facilita la expulsión de los embriones).
 - Para cargar los embriones, sacar el tope de la guía, mover la guía unos tres cm., quedarán libres unos tres cm. de cánula, con una mano en el extremo de la guía y la otra en el émbolo de la jeringa cargar los embriones.
 - Cargar:
 - 300 microlitros de aire (que ya pusimos), medio y medio con los embriones seguido de aire.
 - Se considera que los embriones deben ir en el extremo del catéter y en un volumen de 3uL como máximo.
 - Cerrar el catéter con la guía.



- Los embriones deben estar poco tiempo en la cánula de transferencia, si hay algún problema en la transferencia, se vacía la cánula en la placa y cuando se resuelva se vuelve a cargar.
- Mirar en la placa que no quede ningún embrión sin cargar.
- Llevar el catéter al quirófano sujetando por la zona entre la guía y el catéter o con una mano en el extremo de la guía y la otra en la jeringa.
- Cuando está colocado empujar el émbolo, observar que el émbolo no retroceda (obstrucción), sacar el catéter con el émbolo en el fondo.
- El catéter se puede taponar con moco al pasar por el cuello cervical.
- Después de la transferencia, con la cánula dentro de la guía, sacar la jeringa, poner unos 300uL de medio, vaciar sobre la placa, con unos 3 cm. de catéter dentro de la placa y después limpiar dentro de la placa la punta del catéter y de la guía, cogiendo y sacando medio.
- Deshacer con una aguja las burbujas de aire.
- Observar en la placa que no quedase ningún embrión dentro del catéter sin transferir.
- Cuando hay estenosis en el cuello cervical, útero bicorne o anómalo de forma, puede ser difícil introducir la guía, a veces hay que vaciar el catéter en el laboratorio en la placa de transferencia e intentar de nuevo con otro catéter.
- Si quedó algún embrión repetir el proceso.
- Anotar en la hoja del laboratorio: número de embriones transferidos, su calidad, facultativos que realizan la transferencia, fecha de la transferencia, así como cualquier observación relacionada con la transferencia.

10.- ANEXO 11: BIOPSIA DE TESTÍCULO.

- Objeto: descripción de la preparación de la biopsia testicular para su uso en TRA.
- Campo de aplicación: biopsia testicular.
- Contenido:
 - Principio de medida
 - Separación de los espermatozoides del tejido por fragmentación.
 - Es probable que no se observe movilidad, o solo movilidad de latido.
 - No hay ningún parámetro fiable (FSH, Inhibina, volumen testicular, biopsia previa) para conocer si un paciente tendrá espermatozoides.
 - En las azoospermias no obstructivas se encuentran menos espermatozoides.
 - Las biopsias son múltiples ya que en individuos azoospermicos no produce todo el tejido testicular sino que solo hay focos en los que se conserva la espermiogénesis.
 - Las zonas blancuzcas fibrosas no contienen espermatozoides, las zonas más blandas y con más color tienen más posibilidades.
 - Muestra: biopsia testicular múltiple.
 - Conservación y estabilidad:
 - La fragmentación se va realizando al mismo tiempo que el urólogo va obteniendo nuevos fragmentos, cuando se observen espermatozoides avisar para que cierren.
 - Los fragmentos pueden conservarse con MOPS en el bloque térmico.
 - Materiales: cabina flujo laminar, placas, agujas, jeringa, tubos de pico, lupa, microscopio invertido, portas, cubres, pipetas plástico.
 - Medios:
 - medio de cultivo suplementado con HSA y templado a 37°C.
 - medio de cultivo suplementado, templado a 37°C y gasificado con 6% de CO₂.
 - Control de calidad:
 - Mantener siempre la muestra hidratada y templada.
 - Deshacer la muestra lo más posible.
 - Colocar sobre el porta para su observación muestra bien fragmentada y no muy diluida.
 - Recuperar espermatozoides móviles con el mínimo resto de tejido (valorar contaje y velocidad de centrifugación).
 - Procedimiento operativo:
 - Rotular tubos en pico con el nombre de la paciente.
 - Angular dos agujas y esterilizar en el mechero, colocarlas sobre una placa grande estéril y dejar enfriar.
 - Se recoge la pieza en una placa pequeña con MOPS.
 - Se fragmenta un poco la pieza con las agujas en ángulo recto.
 - Colocar sobre un porta algo del fragmentado, cubrir, mirar en microscopio si contiene espermatozoides.
 - Colocar las biopsias fragmentadas en un tubo de pico núm. 1 en la placa calefactora.
 - Pasar por una jeringa con una aguja de mayor calibre.
 - Dejar la muestra preparada en la placa calefactora para que salgan los espermatozoides de los túbulos seminíferos (en la lupa se ven como una madeja).
 - Poco antes de utilizar centrifugar 8 minutos a 800 rpm.

- Retirar el sobrenadante para otro tubo rotulado núm. 2.
- Volver a suspender el sedimento.
- Valorar contaje y motilidad.
- Si no se encontrasen espermatozoides centrifugar tubo núm. 1 a mayor rpm, centrifugar también el tubo núm. 2 con el sobrenadante.
- Las placas de ICSI llevan múltiples gotas de MOPS con pequeñas gotas de muestra de biopsia preparada y dos gotas alargadas de PVP, una sin nada y la otra con una ligera cantidad de biopsia preparada.

10.- ANEXO 12: SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DEL DONANTE DE CÉLULAS REPRODUCTORAS ANEXO IV DEL (REAL DECRETO 1301/2006)

- 1. Donación entre miembros de la pareja para su uso directo.

Los criterios de evaluación clínica o de laboratorio no se aplicarán a los casos de donación de células reproductoras entre miembros de una pareja para su uso directo.

- 2. Donación entre miembros de la pareja para su uso diferido.

Cuando las células reproductoras vayan a ser almacenadas o procesadas, se deberán cumplir los siguientes criterios:

- 2.1. El facultativo responsable del proceso de donación de gametos debe determinar y documentar, sobre la base de la historia clínica y la indicación terapéutica, la justificación para la obtención y los criterios de seguridad para la madre y los hijos que pudiesen resultar del proceso.
- 2.2. Se realizarán los siguientes tests serológicos para evaluar el riesgo de contaminación cruzada:
 - HIV 1 y 2: Anticuerpos Anti HIV-1, 2.
 - Hepatitis B: Antígeno HBs / Anticuerpos anti HBC.
 - Hepatitis C: Anticuerpos Anti VHC.

Cuando los resultados de los tests para HIV 1 y 2 o de la hepatitis B o C sean positivos o no estén disponibles, o cuando se sabe que el donante tiene algún factor de riesgo de transmisión de estas infecciones, se debe programar un sistema de almacenamiento aislado.

- 2.3. Los tests de determinación de anticuerpos anti HTLV I y II se realizarán en donantes que viven o vienen de áreas con una elevada incidencia de enfermedad o cuyas parejas sexuales o progenitores vengan o vivan en áreas de elevada incidencia de enfermedad.
- 2.4. En algunas circunstancias se requerirán tests adicionales (malaria, toxoplasma, Tripanosoma cruzi, dengue, CMV, VEB, RhD) dependiendo de la existencia de viajes, o exposición a riesgo de contagio, o de las características de las células obtenidas.
- 2.5. El hecho de que los tests sean positivos no impide necesariamente que se puedan utilizar las células obtenidas, o los productos derivados, en casos de donación entre personas de la misma pareja, siempre de acuerdo con la normativa vigente.
- 2.6. Cuando los test de HIV 1 y 2 o de la hepatitis B o C sean positivos o no se disponga de los resultados, o cuando el donante presente algún criterio de riesgo de infección, se empleará un sistema de almacenamiento aislado.

3. Donaciones fuera de la pareja.

El uso de células reproductoras de donantes diferentes a la pareja habitual deberá cumplir los siguientes criterios:

- a) Los donantes se seleccionarán sobre la base de su historia clínica, que debe hacer el facultativo responsable. Esta evaluación incluirá cualquier factor que pueda resultar relevante en la identificación y selección de aquellas personas cuya donación pueda representar un riesgo para la salud de terceros, como la posibilidad de transmitir una enfermedad, o para sí mismos (i.e. inducción y/o estimulación de la ovulación, sedación, riesgos asociados a la extracción de óvulos o consecuencias de índole psicológica).
- b) Los donantes deben de tener marcadores serológicos negativos para HIV 1 y 2, HVC y HVB y sífilis. Los donantes de espermatozoides deben de tener, además, marcadores negativos para clamidia en una muestra de orina y por determinación mediante PCR.
- c) Se realizarán tests de determinación de anticuerpos anti HTLV I y II en aquellos

donantes que viven o provienen de zonas con elevada incidencia de enfermedad o cuyas parejas sexuales o progenitores viven o provienen de áreas con elevada incidencia de la enfermedad.

- d) En algunas circunstancias se requerirán tests adicionales dependiendo de la historia clínica del donante o de las características de las células o tejidos (i.e. malaria –CMV- Tripanosoma cruzi, RhD).
- e) En el caso de donaciones autólogas se aplicará lo establecido en el anexo II punto 2.1 del Real decreto 1301/2006.
- f) Se llevará a cabo una evaluación de la carga genética en relación con la existencia de genes autonómicos recesivos de acuerdo con el conocimiento científico y la prevalencia conocida en la etnia del donante.
- g) Se llevará a cabo una evaluación del riesgo de transmisión de enfermedades hereditarias conocidas y presentes en la familia. Se informará a los implicados de los resultados obtenidos de acuerdo con lo dispuesto en la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica y la Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida. Esta información deberá ser lo más completa posible en relación con los riesgos asociados y las medidas adoptadas o que se puedan adoptar, y debe ser transmitida y explicada claramente al receptor.
- h) Requerimientos básicos para la realización de tests biológicos. Los test biológicos se realizarán de acuerdo con lo especificado en el Real decreto 1301/2006.

- Anexo II do Real decreto 1301/2006 punto 2.1. Donante vivo autólogo.

El médico responsable del procedimiento terapéutico debe determinar, sobre la base de la historia clínica, la indicación terapéutica y la documentación disponible, la justificación para la donación y los criterios de seguridad.

Si las células o tejidos obtenidos van a ser almacenados, cultivados o sometidos a algún proceso de transformación «ex vivo» se realizarán los mismos tests biológicos que los requeridos para los donantes alogénicos. Los resultados positivos de cualquiera de los tests no impedirán el reimplante de las células, los tejidos o los productos derivados.

Ambos, paciente o su representante legal y el médico responsable, deben firmar el documento de donación con arreglo a las disposiciones legales vigentes y a lo establecido en el artículo 7:

En dicho documento, el paciente deberá reconocer que la información que ha facilitado se ajusta a lo cierto dentro de su margen de conocimiento.

- Artículo 7. Donación y obtención de células y tejidos en donantes vivos.

- 1. La obtención de células y tejidos de una persona viva para su ulterior aplicación alogénica en seres humanos podrá realizarse si el donante es mayor de edad, cuenta con plena capacidad de obrar y estado de salud adecuado y ha prestado por escrito su consentimiento informado.

La información que recibirá el donante del médico que haya de realizar la extracción o sea responsable de esta, debe cubrir el objetivo y la naturaleza de la obtención de las células y tejidos; sus consecuencias y riesgos; las pruebas analíticas que se han de realizar; el registro y protección de los datos; y los fines terapéuticos. Asimismo se informará de las medidas de protección aplicables al donante y de los beneficios que con el uso del tejido o grupo celular extraído se espera que haya de conseguir el receptor.

El consentimiento podrá ser revocado en cualquier momento antes de la obtención de la célula y/o el tejido, excepto en los casos de obtención de progenitores hematopoyéticos

de sangre periférica o de médula ósea, en que la revocación sólo podrá producirse antes del inicio del tratamiento de acondicionamiento en el receptor.

- No podrán obtenerse células y tejidos de personas menores de edad o de personas que por deficiencias psíquicas, enfermedad mental, incapacitación legal o cualquier otra causa, no puedan otorgar su consentimiento, salvo cuando se trate de residuos quirúrgicos o de progenitores hematopoyéticos u otros tejidos o grupos celulares reproducibles cuya indicación terapéutica sea o pueda ser vital para el receptor. En estos casos, el consentimiento será otorgado por quien ostente la representación legal.
- 2. La obtención de células y tejidos de una persona viva para su procesamiento y posterior uso autólogo o para su uso autólogo eventual se realizará según lo dispuesto en los párrafos primero a tercero del apartado anterior.

En el supuesto de uso autólogo eventual, el contenido de la información facilitada con anterioridad a la obtención deberá incluir, además de lo previsto en el apartado anterior, la indicación de que las células y tejidos así obtenidos estarán a disposición para su uso alogénico en otros pacientes en el caso de existir indicación terapéutica; la información actual, veraz y completa sobre el estado de los conocimientos científicos respecto de los usos terapéuticos o de investigación; las condiciones de procesamiento y almacenamiento en los establecimientos autorizados; y cualquier otra cuestión relacionada con la utilidad terapéutica de la obtención de células y tejidos sin indicación médica establecida en el momento de la obtención e inicio de la preservación.

En el caso de personas menores de edad o de personas que por deficiencias psíquicas, enfermedad mental, incapacitación legal o cualquier otra causa, no puedan otorgar su consentimiento, este será prestado por su representante legal.

- 3. En todo lo no dispuesto en este artículo, la obtención de células y tejidos de un donante vivo se regirá por lo dispuesto en el capítulo IV de la Ley 41/2002, de 14 de noviembre.

10.- ANEXO 13: CONTRAINDICACIONES ABSOLUTAS PARA EL TRATAMIENTO DE REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA O GESTACIÓN .

Cardiovascular:

- Cardiopatías congénitas cianóticas.
- Lesiones valvulares izquierdas obstructivas severas (Clase F. III-IV de NYHA).
- Hipertensión Pulmonar Severa.
- Miocardiopatías con insuficiencia cardíaca y gran deterioro funcional.
- Coartación aórtica y S. de Marfan con dilatación aórtica > 4 cm.

Hematológica:

- Coagulopatía congénita. En mujeres con antecedente personal de fenómenos trombóticos recurrentes a pesar de tratamientos con heparina ou warfarina.

Digestiva:

- Hepatopatías crónicas y cirrosis hepática. Grados B y C de Child. En el grado A evaluar posible descompensación durante el embarazo y el potencial teratogénico de los fármacos empleados.

Respiratoria crónica:

- Fibrosis quística. Se contraindican la gestación y las técnicas de reproducción asistida en mujeres con mala función pulmonar previa, malnutrición(IMC< 19Kg/m2), cor pulmonale, disfunción hepática, diabetes mellitus y en mujeres con trasplante pulmonar. Se realizará evaluación preconcepcional del riesgo de la gestación y se solicitará cribado de portadores.

Reumática:

- Enfermedades reumatológicas activas.
- Necesidad de uso continuado de agentes con riesgo teratogénico.

Neurológica:

- Epilepsia en mujeres que precisen politerapia para el control de la enfermedad.

Endocrina y del metabolismo:

- Diabetes mellitus con retinopatía proliferativa no tratada, nefropatía diabética severa, cardiopatía isquémica o gastroparesia.

Fuente: Criterios para la utilización de recursos del Sistema Nacional de Salud en la aplicación de tratamientos de reproducción humana asistida del Grupo de Interés de Centros de Reproducción Asistida del Sistema Nacional de Salud.

10.- ANEXO 14. ORIENTACIÓN DEL TRATAMIENTO A PAREJAS CON INFECCIÓN POR VIH.

Orientación del tratamiento a parejas con infección por VIH:

Carga viral sérica		
	Negativa (paciente controlado)	Positiva
Varón Ac VIH+	Relaciones naturales en días alternos fértiles*	Reproducción asistida con lavado seminal y determinación CV posterior.
Mujer Ac VIH+	Autoinseminación o relaciones naturales en días alternos fértiles*	Desaconsejar embarazo y evaluar estado viral e inmunológico.
Ambos Ac VIH+	Ambos carga viral sérica negativa: Autoinseminación	Ambos CV sérica positiva: desaconsejar embarazo

*Recomendación basada en consenso de expertos por ausencia de evidencia derivada de estudios de intervención.

Tabla III: Orientación del tratamiento a parejas con infección por VHC.

Carga viral sérica		
	Negativa (repetida)	Positiva
Varón Ac VHC+	Relaciones naturales	Opción informada: <ul style="list-style-type: none"> • <10⁶ copias/mL: relaciones sexuales dirigidas • >10⁶ copias/mL: reproducción asistida con lavado con/sin necesidad de detectar carga viral poslavado*.
Mujer Ac VHC+	Relaciones naturales	Opción informada <ul style="list-style-type: none"> • <10⁶ copias/mL: relaciones sexuales dirigidas • >10⁶ copias/mL: desaconsejar embarazo
Ambos Ac VHC+	Ambos CV sérica negativa: relaciones naturales	Ambos carga viral sérica positiva: <ul style="list-style-type: none"> • Ambos <10⁶ copias/mL: relaciones sexuales dirigidas • Varón >10⁶ copias/mL: reproducción asistida con lavado con/sin necesidad de detectar carga viral poslavado* • Mujer >10⁶ copias/mL: desaconsejar embarazo

*Recomendación basada en consenso de expertos por ausencia de evidencia derivada de estudios de intervención.

Tabla IV: Orientación del tratamiento a parejas con infección por VHB.

Carga viral sérica		
	Negativa (repetida)	Positiva
Varón AgHBs+	Relaciones naturales	<ul style="list-style-type: none"> • Mujer Ac antiHBs+: relaciones naturales • Mujer Ac antiHBs-: vacunar • Mujer antiHBs- por fallo vacunación: reproducción asistida con lavado seminal y detección carga viral
Mujer AgHBs+	Relaciones naturales	<ul style="list-style-type: none"> • Varón Ac antiHBs+: relaciones naturales • Varón Ac antiHBs-: vacunar • Varón Ac antiHBs- por fallo vacunación: Autoinseminación • $<10^{6-9}$ copias/mL: desaconsejar embarazo*
Ambos Ac antiHBs +	Ambos carga viral sérica negativa: relaciones naturales	<p>Ambos CV sérica positiva*:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ambos $<10^6$ copias/mL: relaciones naturales • Varón $>10^6$ copias/mL: reproducción asistida con lavado seminal y detección carga viral • Muller $>10^{6-9}$ copias/mL: desaconsellar embarazo

*Recomendación basada en consenso de expertos por ausencia de evidencia derivada de estudios de intervención.

Fuente: Criterios para la utilización de recursos del Sistema Nacional de Salud en la aplicación de tratamientos de reproducción humana asistida del Grupo de Interés de Centros de Reproducción Asistida del Sistema Nacional de Salud.

HOJA PARA ANOTACIONES:

