

Revisión sobre la situación actual de la fecundación clásica en el laboratorio de reproducción asistida.

Review of the current situation of classic fertilisation in the assisted reproductive technologies laboratory

Vanesa Castañón Bernardo¹, Guadalupe Bueno Rodríguez², M. Dolores Lozano Arana³, M. José Moyano Gallego⁴

¹Unidad de Reproducción. Hospital Universitario Central de Asturias.

²Laboratorio de Reproducción. UGC Laboratorio Clínico. Hospital Universitario Virgen de Valme. Sevilla.

³Laboratorio de PGT. UGC de Medicina Materno-Fetal, Genética y Reproducción. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.

⁴Laboratorio de Reproducción. UGC Análisis Clínicos. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

RESUMEN

La fecundación (FIV) clásica o convencional consiste en poner en contacto los ovocitos obtenidos tras una estimulación ovárica controlada con una concentración determinada de espermatozoides, de forma que el mejor espermatozoide fecunde al óvulo en condiciones . La introducción de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) en 1992, supuso una revolución en el campo de la Medicina Reproductiva, relegando la técnica FIV clásica a casos excepcionales en muchos centros de RHA (Reproducción humana asistida), tanto públicos como privados, e incluso a su total abandono. La sobreutilización de la técnica ICSI hace que nos planteemos una revisión exhaustiva de la situación actual, para que la utilización de una u otra técnica se ajuste lo más posible a unos criterios clínicos. Se han analizado las principales indicaciones de las distintas técnicas de reproducción asistida.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2021; 38; © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

Palabras Clave: *fecundación , ICSI, técnicas de reproducción, tasa de gestación, indicación*

Correspondencia: Vanesa Castañón Bernardo.
Unidad de Reproducción. Hospital Universitario Central de Asturias.
Email: vanesa.castanon@sespa.es
SOLICITUD REIMPRESIÓN: Email: fertilidad@editorialmedica.com

SUMMARY

Classic or conventional fertilisation (IVF) consists of placing the oocytes obtained after controlled ovarian stimulation in contact with a certain concentration of sperm, so that the best sperm fertilizes the egg under conditions. The introduction of the intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in 1992 was a revolution in the field of Reproductive Medicine, relegating the classic IVF technique to exceptional cases in many public and private AHR (Assisted Human Reproduction) centres, and even to its total abandonment. Overuse of the ICSI technique leads us to consider a comprehensive review of the current situation, so that the use of one or another technique conforms as much as possible to clinical criteria. The main indications of the different assisted reproduction techniques have been analysed.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2021; 38; © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

Keywords: *fertilisation, ICSI, reproduction techniques, gestation rate, indication.*

INTRODUCCIÓN

Entre las técnicas de reproducción asistida (TRA) se encuentran, de menor a mayor complejidad, la inseminación artificial (IA) y la fecundación (FIV). Esta última tiene dos modalidades, la forma clásica (o convencional) y la microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).

La ICSI se introdujo en los 90 para resolver los problemas con factor masculino severo y en aquellos casos con fallo de fertilización tras FIV convencional, ya que se conseguía introducir el espermatozoide directamente en el interior del óvulo, evitando las fases previas.

Su uso se extendió rápidamente, de forma que en 2004 suponía casi el 60 % de todos los ciclos (1), llegando hoy día hasta el 86,5 % (Registro de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) de 2018) (2, 3).

El factor masculino constituye un 20 % de las causas de esterilidad, y prácticamente se ha mantenido estable desde que empezaron a registrarse datos, por lo que llama la atención que se estén realizando un 86,5 % de ciclos ICSI y solo un 13,5 % de FIV clásica, con unas tasas de gestación por transferencia similares (35,4 % en ICSI vs 36,2 % en FIV clásica).

Esto lleva a pensar que se esté sobreutilizando la ICSI, con intención de prevenir los fallos completos de fertilización descritos principalmente tras FIV clásica (4). De otra manera, no estaría justificada la utilización de una técnica que implica una mayor manipulación de los gametos cuando los resultados clínicos son similares (5).

Como en cualquier técnica de laboratorio, la aplicación de una TRA u otra va a depender de la situación clínica del paciente. El estudio clínico de los pacientes, apoyado en las pruebas complementarias de laboratorio, van a determinar la causa de esterilidad de la pareja (o mujer sola). Este diagnóstico va a permitir a su vez establecer la indicación para la realización de una técnica de reproducción u otra.

Este documento tiene como objetivo revisar las distintas situaciones clínicas que llevan a una pareja o mujer sola a hacer uso de las TRA, así como las indicaciones para la realización de FIV clásica, ICSI o ciclos mixtos para cada una de ellas, según la evidencia científica actual.

TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA: FIV

FIV clásica:

El primer caso de FIV clásica realizado con éxito fue publicado en 1978 (6). En la FIV clásica, tras una estimulación ovárica controlada, se inseminan con espermatozoides capacitados todos los complejos cúmulo-corona-ovocito que se recuperan tras la punción ovárica.

ICSI:

En 1992 surgió la ICSI (7) para los casos con factor masculino severo, con unas tasas de fertilización del 60-70 %, nunca conseguidas con la FIV clásica. En la ICSI, se introduce un espermatozoide en cada ovocito maduro obtenido. Los ovocitos antes de ser inyectados se someten a una manipulación enzimática y mecánica para ser desprovistos de las células del cúmulo e identificar su estado de madurez. Una vez decumulados, se seleccionan únicamente los que están en metafase II para ser microinyectados. La ICSI se efectúa con un microscopio invertido equipado con microinyectores. Los espermatozoides se seleccionan con una alta magnificación de 400x con modulación de Hoffmann, excluyendo los espermatozoides con severas alteraciones y la microinyección se realiza de acuerdo con la técnica estándar propuesta por Palermo. El tiempo aproximado que se requiere para el procedimiento de ICSI por paciente va a depender del número de ovocitos metafase II obtenidos calculándose un mínimo de 20 minutos. Además, la ICSI es sustancialmente más cara que la FIV clásica; si se usara la ICSI como técnica de elección rutinaria se encontraría un incremento en costo-efectividad.

TÉCNICA MIXTA:

Una de las situaciones más estresantes e inesperadas, para los pacientes y profesionales, es el fallo completo de fertilización. La literatura cifra entre un 3,52 % y un 20 % los fallos completos de fertilización tras FIV clásica (8) y entre un 1 % y un 3 % tras ICSI (9).

Tras realizar un ciclo de FIV clásica con un fallo completo de fertilización, la ICSI en ciclos posteriores puede incrementar las tasas de fertilización.

Una alternativa que se ha popularizado es la técnica mixta FIV-ICSI. En esta técnica, la mitad de los ovocitos recuperados de una paciente se destinan a FIV clásica, mientras que la otra mitad se destinan a ICSI.

CAUSAS DE ESTERILIDAD

En los últimos años se ha incrementado el porcentaje de TRA realizadas por la aparición de nuevos modelos de familia, además de la preservación de la fertilidad o el test genético preimplantacional (PGT, según sus iniciales en inglés). No obstante, las principales causas de esterilidad se mantienen bastante constantes a lo largo del tiempo (3) y son las que se reflejan en el gráfico de la figura 1:

FACTORES FEMENINOS:

Edad

En los últimos años destaca de entre todas las causas el retraso en la edad de la maternidad (10).

Clásicamente se ha considerado que los ovocitos de mujeres mayores son de peor calidad, que podrían reducir la tasa de fecundación con el uso de la FIV convencional.

El estudio de Kim y colaboradores contradice esta teoría ya que encuentran unas tasas de fertilización en mujeres > de 35 años similares a las menores de 35 utilizando FIV clásica (11). Tannus y colaboradores presentan similares tasas de fertilización (64 % vs 67 %), tasa de gestación clínica (21,1 % vs 16,7) y tasas de recién nacido vivo (RNV) (11,9 % vs 9,6 %) cuando se realiza FIV convencional vs ICSI en ciclos realizados a mujeres de edad avanzada (12).

La Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) 2020 considera que la ICSI para edad materna avanzada no mejora las tasas de RNV (13).

Factor tubárico

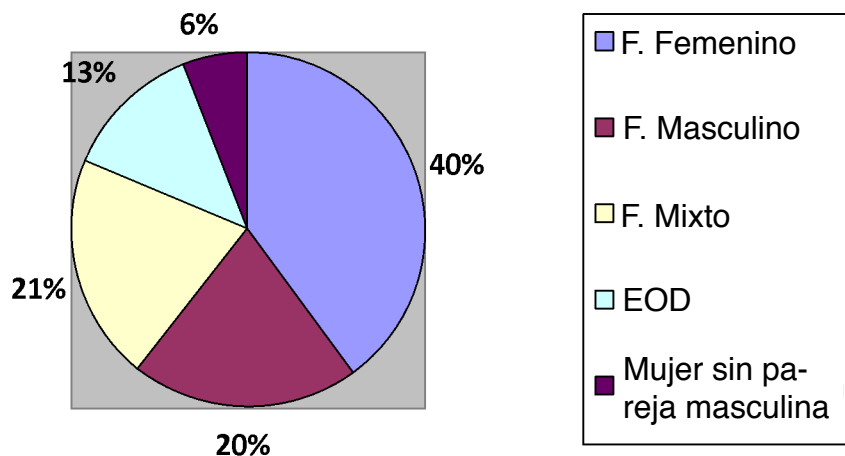
Las obstrucciones parciales o totales de las trompas de Falopio o las adherencias periováricas son responsables de aproximadamente el 30 % de las causas de esterilidad. El estudio más reciente que compara la FIV convencional con la ICSI es del año 2000 (14); este estudio muestra que la ICSI no ofrece ninguna ventaja sobre la FIV convencional en pacientes con factor tuboperitoneal.

Síndrome de ovario poliquístico

El síndrome de ovario poliquístico (SOP) es la endocrinopatía más frecuente en mujeres en edad reproductiva, con una incidencia del 6 al 21 % en población no seleccionada según los criterios de la Sociedad Europea de Reproducción

FIGURA 1

Causas de esterilidad. F. Femenino: Factor femenino, F. Masculino: Factor masculino, F. Mixto: Factor Mixto, EOD: Esterilidad de origen desconocido.



Humana y Embriología (ESHRE) y la ASRM (15). Es un síndrome heterogéneo y el tratamiento más idóneo para cada paciente debe ser personalizado, siendo el principal objetivo regular la función ovárica. Si esta primera línea fracasara, habría que optar por TRA.

Heijnen y cols. no encuentran diferencias significativas en la tasa de gestación clínica utilizando FIV clásica vs ICSI (16) en este grupo de pacientes.

Endometriosis

La endometriosis se define como la presencia de tejido endometrial fuera del útero, lo que induce una reacción inflamatoria. Se estima de manera generalizada que la endometriosis afecta al menos a un 10 % de la población femenina en edad fértil y que la infertilidad puede alcanzar al 30-40 % de las mujeres con la enfermedad (17).

Es conocida la influencia de la endometriosis sobre la calidad ovocitaria y desarrollo embrionario. Los implantes endometriósicos actúan sobre el ovocito disminuyendo su capacidad para ser fertilizado por el espermatozoide a la vez que repercuten sobre la receptividad endometrial e implantación embrionaria. Sin embargo, no está demostrada la mejor eficacia de la ICSI frente a la FIV convencional en mujeres con endometriosis (18).

Baja respuesta

Según los criterios de Bologna, se puede diagnosticar la baja respuesta siempre que se cumplan dos de los siguientes criterios: edad >39 años o cualquier otro factor de riesgo de baja respuesta, ciclo previo con menos de 4 ovocitos recuperados y alteración del test de reserva ovárica (19): recuento de folículos antrales < 5-7 y niveles plasmáticos de la hormona antimulleriana < 0,5-1 ng/mL.

Está extendida la utilización de la ICSI en estos casos, sin una clara indicación. La decumulación previa a la ICSI y la microinyección pueden tener un efecto deletéreo sobre los ovocitos disponibles. Además, los ovocitos que no están maduros, se descartan. En la FIV convencional la manipulación de los ovocitos es escasa, por lo que los ovocitos inmaduros podrían madurar y ser fertilizados. Actualmente no existe un consenso, ya que hay autores que defienden la mayor eficacia de la ICSI en estos casos (20, 21), mientras que otros no encuentran diferencias (22, 23) o incluso encuentran beneficios en el uso de la FIV convencional (24) en este grupo.

La ASRM 2020 concluye que la ICSI no mejora las tasas de RNV frente a la FIV convencional en pacientes con baja respuesta (13).

Factor masculino:

La introducción de la ICSI en 1992 supuso una revolución en los casos de esterilidad por factor masculino, siendo esta su principal indicación. La popularidad de la ICSI fue creciendo en todo el mundo de forma exponencial, siendo hoy día en muchos centros el único método de inseminación que utilizan tanto si hay factor masculino como si no.

En este sentido, cada vez son más los autores que coinciden en que la ICSI no ofrece ninguna ventaja sobre la FIV clásica en los casos de esterilidad sin factor masculino.

Li y colaboradores (2) concluyen en un estudio retrospectivo en parejas sin factor masculino, que la tasa de fecundación por ovocito recuperado es inferior utilizando ICSI comparado con el uso de FIV convencional, mientras que la tasa acumulada de RNV es similar en ambos.

Cuando la esterilidad sí es por factor masculino, está indicada la ICSI (25, 26).

Esterilidad de origen desconocido: EOD

Aproximadamente en un 30 % de las parejas la causa de esterilidad no llega a esclarecerse.

Clásicamente se ha considerado la ICSI como la técnica de elección en estos casos, pero no existe suficiente evidencia científica de que la aplicación de esta técnica de manera rutinaria mejore los resultados obtenidos (27). Johnson y colaboradores realizaron un metaanálisis en 2013 y sus conclusiones fueron que las parejas con EOD se pueden ver beneficiadas del uso de la ICSI por prevenir el fallo total de fertilización y como consecuencia de ello aumentar las posibilidades de embarazo (28).

Actualmente, debido a la dificultad de predecir qué parejas con diagnóstico de EOD se pueden ver beneficiadas del uso de la FIV convencional frente a la ICSI, muchos centros optan por realizar una técnica mixta (29).

La ASRM 2020 concluye que la evidencia actual sobre los beneficios del uso rutinario de la ICSI en los casos de EOD es limitada, ya que tras la revisión de la bibliografía disponible hasta la fecha se ha visto que la tasa de fallos de fertilización es inferior cuando se utiliza ICSI vs FIV convencional en estos casos, pero no se ha visto una mejora en la tasa de RNV (13).

TEST GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL (PGT):

Las distintas sociedades científicas han recomendado realizar siempre ICSI en los ciclos de PGT, para asegurar que entra en el ovocito un solo espermatozoide y para minimizar el riesgo de contaminación materna con células del cúmulo y de contaminación paterna a partir de los espermatozoides

que pudieran quedar atrapados en la zona pelúcida en una FIV convencional (30, 31).

La última guía de práctica clínica publicada por la ESHRE (ESHRE PGT Consortium 2020) continúa recomendando la realización de ICSI en los ciclos PGT (32).

OTRAS SITUACIONES:

Cuando no se consigue embarazo tras la realización de ciclos de IA, se recomienda la realización de una técnica mixta (33).

En el caso de que los ovocitos estén criopreservados la recomendación sería una ICSI (34), la ASRM se posiciona también en este sentido (13).

PROTOCOLO DE LABORATORIO PARA FIV CONVENCIONAL

La decisión de utilizar FIV convencional o ICSI se toma habitualmente según los criterios clínicos de la pareja y el resultado obtenido en el laboratorio del seminograma y la prueba de capacitación.

El análisis en fresco de la muestra de semen incluye: concentración, movilidad y morfología espermática según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS). (Tabla 1)

La prueba de recuento de espermatozoides móviles (REM) se realiza de manera complementaria al examen en fresco. Es una técnica de selección espermática que consiste en lavar el semen para recuperar los espermatozoides con mejor movilidad.

Clásicamente, los puntos de corte para el REM que establecen la recomendación de una TRA u otra son (35):

Con ≥ 5 millones de espermatozoides de movilidad progresiva/mL la técnica indicada sería IA.

Por debajo de esa cifra se suele recurrir a FIV convencional o ICSI. Cada centro puede marcar dentro de esos límites su punto de corte para realizar una FIV convencional.

Por otra parte, la morfología espermática se ha considerado durante más de 20 años como un parámetro de especial relevancia en la evaluación de la infertilidad, aunque, a excepción de defectos espermáticos muy específicos como la globozoospermia y la macrocefalia, la morfología se considera hoy día una variable con una especificidad y sensibilidad baja para el diagnóstico de infertilidad (36).

En 1986, Kruger y cols. establecen unos criterios de morfología con capacidad predictiva en casos de FIV clásica

TABLA 1

Valores de referencia adoptados por la OMS en 1999 y en 2010. Entre paréntesis se muestra el intervalo de confianza del 95%. Modificado de: Sarabia et al. 2011

	1999 (4ª Edición)	2010 (5ª Edición)
Licuefacción	Total a los 60 min	Total a los 60 min
pH	7,2-7,8	>7,1
Volumen	2 mL	1,5 mL (1,4-1,7)
Concentración	20 x 10 ⁶ /mL	15 x 10 ⁶ /mL (12-15)
Motilidad total	No detallada	40 %
Motilidad progresiva	50 %	32 % (31-34)
Vitalidad	75 %	50 % (55-63)
Formas normales	15 %	4 % (3-4)
Leucocitos	< 1 x 10 ⁶ /mL	< 1 x 10 ⁶ /mL

(37). Las posibilidades de éxito son bajas cuando las formas normales están comprendidas entre 0 % y 4 %, intermedias cuando estas formas normales van del 5 % al 14 % y normales en los casos en los que estas formas superan el 14 %.

La asociación entre el porcentaje de formas normales y el tipo de TRA siempre ha estado en entredicho. Algunos autores sugieren que la teratozoospermia no es un criterio clave a la hora de decidir qué TRA aplicar (38), mientras que otros sí que se postulan a favor de la preferencia de FIV convencional cuando las formas normales son ≥ 4 % (39, 40).

No es habitual encontrar en las guías u otros documentos de consenso los criterios para decidir realizar una FIV clásica o una ICSI. Se sabe que para tomar la decisión de realizar una u otra hay que tener en cuenta distintos factores, tanto clínicos como de laboratorio. Si la pareja ha tenido una gestación espontánea previa, fácilmente orientaremos el ciclo hacia una FIV clásica. Pero si no la ha tenido, resulta más difícil la decisión.

Esto lleva a que cada laboratorio utilice sus propios protocolos según su experiencia. Para la inseminación de los ovocitos mediante FIV convencional o ICSI, la muestra seminal se tiene que capacitar, bien por el método de *swim-up* o por gradientes de densidad. Ambos métodos se utilizan indistintamente para FIV clásica o ICSI, pero la técnica de gradientes se emplea más cuando la indicación es FIV clásica, ya que las muestras quedan más limpias, por lo que se reduce las posibilidades de contaminar los cultivos de ovocitos si la muestra de semen estuviera contaminada o existiera una infección previa en el paciente.

Una vez capacitada la muestra seminal, se valora el resultado obtenido, y se calcula el REM.

Si la muestra es apta para FIV, se ajusta la concentración espermática para inseminar los ovocitos entre 0,1 y 0,5 x 10⁶ espermatozoides de movilidad progresiva/mL (28). Lo que se busca es una concentración que optimice la fertilización normal, ya que una concentración mayor se puede asociar a poliespermia.

Si por el contrario se decide realizar ICSI, se tienen que decumular previamente los ovocitos con hialuronidasa (concentración 80 UI/mL) y microinyectar después un espermatozoide a cada uno de los ovocitos en metafase II.

SEGURIDAD DE LAS TRA

En cuanto a los resultados perinatales, se ha visto que la mayoría de los tratamientos de reproducción asistida culminan con el nacimiento de niños sanos (41). Sin embargo, desde la introducción de la ICSI, parte de la comunidad científica ha mostrado preocupación por la posibilidad de un aumento en las complicaciones obstétricas y perinatales (42, 43). Estas preocupaciones, surgen de la percepción de que el espermatozoide microinyectado es seleccionado arbitrariamente por el embriólogo saltándose pasos fisiológicos (44). Otro aspecto relevante es que no se ha esclarecido si los riesgos que se han asociado a la ICSI en el caso de factores masculinos severos puedan estar presentes también en casos sin factor masculino (45). En este sentido, Luke B y colaboradores analizan los resultados de 135.051 nacimientos y concluyen que las TRA se asocian con mayor riesgo de malformaciones mayores no cromosómicas, defectos cardíacos en embarazos únicos y cromosómicos en embarazos gemelares, además el uso de la ICSI incrementa este riesgo, especialmente cuando existe un factor masculino. Este resultado apoya el uso juicioso de la ICSI (46).

A pesar de que hay otros autores que recopilan resultados reproductivos, perinatales y médicos en sus trabajos y no encuentran diferencias en resultados perinatales o riesgo de malformaciones congénitas entre los niños concebidos por ICSI y los concebidos naturalmente (47, 48), la controversia en este tema se hace patente en la literatura.

En cuanto a la utilización de FIV clásica vs ICSI, en el estudio de Wen J y colaboradores concluyen que la ICSI no representa un riesgo adicional de malformaciones respecto a la FIV (49). Zhu J y colaboradores llegan a la misma conclusión tras analizar 18.221 nacimientos producidos entre 2005 y 2017 tras la realización de FIV (n=12.649) o ICSI (n=5.572) (50).

En otros trabajos sí se apunta a una mayor incidencia de

malformaciones en ICSI respecto a FIV clásica, en el estudio de Davies MJ y colaboradores se concluye que el aumento de malformaciones asociado a FIV convencional no es significativo tras ajustarlo por factores de confusión parentales, no ocurriendo lo mismo con la ICSI, aunque no se puede excluir el riesgo de factores de confusión residuales (51, 52).

CONCLUSIONES

En la actualidad, son muchas las parejas y mujeres que se someten a TRA. En el año 2018, se llevaron a cabo en nuestro país 149.337 ciclos de FIV o ICSI y casi 35.000 de IA.

Los datos revisados indican un abuso de la técnica ICSI en casos en los que se podría optar por una técnica menos invasiva y costosa como la FIV convencional (53).

En el SOP hay acuerdo en la utilización de FIV convencional. El metaanálisis de Heijnen y colaboradores (16) contribuye a sistematizar los tratamientos más idóneos en mujeres con SOP y coinciden en el hecho de que las tasas de gestación y de RNV son similares mediante FIV convencional en mujeres con SOP y en un grupo control.

En respuesta ovárica pobre, existe división de opiniones. Los argumentos en un sentido u otro se sustentan en el mayor riesgo de fertilizaciones anómalas mediante FIV convencional y en los posibles daños a los pocos ovocitos durante la manipulación en una técnica más compleja. A pesar de que los fallos completos de fertilización puedan ser más habituales en mujeres con un número bajo de ovocitos, la evidencia científica no considera que el número de ovocitos sea una indicación para realizar una ICSI (54, 23).

El uso rutinario de la ICSI en parejas con EOD no se ha visto que mejore los resultados de RNV, aunque en la bibliografía disponible hasta la fecha sí se observa que la tasa de fallos totales de fertilización es inferior cuando se usa ICSI vs FIV (53).

En la mayoría de los grupos en los que no existe un factor masculino, se observa que los resultados clínicos no mejoran con el uso de la ICSI (55-57). Además, la seguridad de la ICSI en estos casos no ha sido evaluada, lo que hace que cada vez más autores llamen a la prudencia respecto al uso indiscriminado de esta técnica en casos no indicados (13).

En resumen, no existe evidencia para anteponer el uso de la ICSI frente a la FIV convencional si no existe un factor masculino (13,58). Casos en los que sí se puede priorizar la ICSI son situaciones en las que los gametos tienen una situación especial: ovocitos vitrificados o PGT (Tabla 2).

La sobreutilización de la ICSI se podría atribuir a la nega-

TABLA 2

Principales indicaciones para las diferentes TRA		
FIV CLASICA	ICSI	MIXTO
Factor tubárico	Factor masculino severo	Fallo previo de IA
Edad avanzada	Fallos previos de fertilización tras FIV clásica	EOD
SOP	PGT	
Endometriosis	Ovocitos criopreservados	
Baja respuesta ovárica		
Mala calidad ovocitaria		

tiva de algunos profesionales de asumir el riesgo de un fallo completo de fertilización, más frecuente en FIV convencional que en ICSI [59]. No se debe olvidar el sobrecoste tanto en medios materiales como en tiempo que supone la ICSI frente a la FIV convencional.

Lo que se concluye después de revisar la literatura es que la ICSI es una técnica eficaz para el tratamiento del factor masculino y que el uso rutinario de la ICSI en pacientes sin factor masculino no mejora los resultados clínicos de las TRA. No está justificado y supone costes sobreañadidos, se debe individualizar cada caso y aplicar la técnica de inseminación más adecuada en función de las características de los pacientes como se refleja en la tabla 2. En los casos en los que la técnica de elección sea la FIV convencional, la muestra seminal ha de ser capacitada en el laboratorio y cumplir unos criterios mínimos en cuanto a su movilidad y morfología.

BIBLIOGRAFÍA

- Rubino P, Viganò P, Luddi A, Piomboni P.** The ICSI procedure form past to future: a systematic review of the more controversial aspects. *Human reproduction update.* 2015;0:1-34.
- Li Z, Wang AY, Bowman M, Hammarberg K, Farquhar C, Johnson L et al.** ICSI does not increase the cumulative live birth rate in non-male factor infertility. *Hum Reprod.* 2018;33:1322-30.
- Registro Nacional de Actividad 2018-** Registro SEF. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social (MSCBS). Disponible en: https://www.registrosef.com/public/docs/sef2018_IAFIVm.pdf[Fecha de consulta 30 Nov 2020].
- Van der Westerlaken L, Helmerhorst F, Dieben S, Naaktgeboren N.** Intracytoplasmic sperm injection as a treatment for unexplained total fertilization failure or low fertilization after conventional fertilization. *Fertil Steril* 2005;83:612-7.
- Geng T, Cheng L, Ge C, Zhang Y.** The effect of ICSI in infertility couples with non-male factor: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet* 2020;37:2929-45.
- Stephoe PC, Edwards RG.** Birth after reimplantation of a human embryo. *The Lancet* 1978;312:366.
- Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC.** Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *The Lancet* 1999;340:17-8.
- Ming L, Liu P, Quiao J, Lian Y, Zheng X, Ren X et al.** Synchronization between embryo development and endometrium is a contributing factor for rescue ICSI outcome. *Reprod Biomed Online* 2012;24:527-31.
- Hee Lee S, Hyun Lee J, Park YS, Moon Yang K, Kyu Lim C.** Comparison of clinical outcomes between fertilization (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in IVF-ICSI split insemination cycles. *Clin Exp Reprod Med* 2017;44(2):96-104.
- Eisenberg ML, Meldrum D.** Effects of age on fertility and sexual function. *Fertil Steril* 2017;107:301-4.
- Kim HH, Bundorf MK, Behr B, McCallum SW.** Use and outcomes of intracytoplasmic sperm injection for non-male factor infertility. *Fertil Steril* 2007;88:622-8.
- Tannus S, Son WY, Gilman A, Younes G, Shavit T, Dahan MH.** The role of intracytoplasmic sperm injection in non-male factor infertility in advanced maternal age. *Hum Reprod* 2017;32:119-24.
- Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine.** Electronic adress: ASRM@asrm.org. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) for non-male factor indications: a committee opinion. *Fertil Steril* 2020;114:239-45.
- Bukulmez O.** Intracytoplasmic sperm injection versus fertilization for patients with a tubal factor as their sole cause of infertility: a prospective, randomized trial. *Fertil Steril* 2000;73:38-42.
- Lizneva D, Suturina L, Walker W, Brakta S, Gavrilova-Jordan L, Azziz R.** Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2016;106:6-15.
- Heijnen EMEW, Eijkemans MJC, Hughes EG, Laven JSE, Macklon NS, Fauser BCJ. A meta-analysis of outcomes of conventional IVF in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update* 2006;12(1):13-21.
- Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (MSCBS).** Guía de atención a las mujeres con endometriosis en el Sistema Nacional de Salud (SNS)[Internet]. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (MSCBS); 2013. Available from: <https://www.mscbs.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/pdf/equidad/ENDOMETRIOSIS.pdf>
- Komsky-Elba A, Razi A, Friedler S, Strassburger D, Kasterstein E, Komarovskiy D et al.** Conventional IVF versus ICSI in sibling oocytes from couples with endometriosis and normozoospermic semen. *J Assist Reprod Genet* 2013;30:251-7.
- Ferraretti AP, La Marca A, Fauser B.C, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L.** ESHRE working group on poor ovarian response definition. ESHRE consensus on the definition of "poor response" to ovarian stimulation for fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod* 2011;26(7):1616-24.

20. **Ludwig M, al-Hasani S, K pker W, Bauer O, Diedrich K.** A new indication for an intracytoplasmic sperm injection procedure outside the cases of severe male factor infertility. *Eur J Obstet. Gynecol. Reprod. Biol* 1997;75(2):207-10.
21. **Xi Q, Zhu L, Hu J, Wu L, Zhang H.** Should few retrieval oocytes be as an indication for intracytoplasmic sperm injection? *Biomed and Biotechnol* 2012;13(9):717-22.
22. **Borini A, Gambardella A, Bonu MA, Dal Prato L, Sciajno R, Bianchi L et al.** Comparison of IVF and ICSI when only few oocytes are available for insemination. *Reprod Biomed Online* 2009;19(2):270-5.
23. **Luna M, Bigelow C, Duke M, Ruman J, Sandler B, Grunfeld L, Copperman AB.** Should ICSI be recommended routinely in patients with four or fewer oocytes retrieved? *J Assist Reprod Genet* 2011;28:911-5.
24. **Liu H, Zhao H, Yu G, Li M, Ma S, Zhang H et al.** Conventional fertilization (IVF) or intracytoplasmic sperm injection (ICSI): which is preferred for advanced age patients with five or fewer oocytes retrieved? *Arch Gynecol Obstet* 2018; 297(5): 1301-6.
25. **Fan W, Wei Li S, Li L, Huang Z, Ma Q, Wang Y et al.** Outcome of conventional IVF and ICSI on sibling oocytes in the case of isolated teratozoospermia. *J Assist Reprod Genet* 2012;29(9):905-10.
26. **Remoh  J, Bellver J, Ferrando M, Requena A, Pellicer A.** Manual pr ctico de esterilidad y reproducción humana. Aspectos clínicos. 5  ed. Madrid: Panamericana, 2018: 1060 p.
27. **Check JH, Yuan W, Garberi-Levito MC, Swenson K, McMonagle K.** Effect of method of oocyte fertilization on fertilization, pregnancy and implantation rates in women with unexplained infertility. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2011;38:203-5.
28. **Johnson LNC, Sasson IE, Sammel MD, Dokras A.** Does intracytoplasmic sperm injection improve the fertilization rate and decrease the total fertilization failure rate in couples with well defined unexplained infertility? A systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2013;100:704-11.
29. **De los Santos MJ, Apter S, Coticchio G, Debrock S, Lundin K, Plancha C et al.** Revised guidelines for good practice in IVF laboratories (2015). *Hum Reprod* 2016;0:1-9.
30. **Harton GL, Magli MC, Lundin K, Montag M, Lemmen J.** ESHRE PGD consortium/embryology special interest group-best practice guidelines for polar body and embryo biopsy for preimplantation genetic diagnosis/screening (PGD/PGS). *Hum Reprod* 2011;26:41-6.
31. **Feldman B, Aizer A, Brengauz M, Dotan K, Levron J, Schiff E et al.** Pre implantation genetic diagnosis should we use ICSI for all? *J Assist Reprod Genet* 2017;34(9):1179-83.
32. **Kokkali G, Coticchio G, Bronet F, Celebi C, Cimadomo D, Goossens V et al.** ESHRE PGT Consortium and SIG Embryology good practice recommendations for polar body and embryo biopsy for PGT. *Hum Reprod* 2020;3:1-12.
33. **Larbuissou A, Raick D, Demelene S, Delvigne A.** ICSI diagnostic: a way to prevent total fertilization failure after 4 unsuccessful IUI. Basis and clinical andrology 2017;27:18.
34. **Gook DA, Edgar DH.** Human oocyte cryopreservation. *Hum Reprod Update* 2007;13:591-605.
35. **Servicio Andaluz de Salud (SAS).** Guía SAS 2019[Internet]. Servicio Andaluz de Salud; 2019. Available from https://www.sspa.juntadeandalucia.es/servicioandaluzdesalud/sites/default/files/sincfiles/wsas-media-pdf_publicacion/2020/731_guia_rha_2019.pdf
36. **Gatimel N, Moreau J, Parinaud J, Leandri RD.** Sperm morphology: assessment, pathophysiology, clinical relevance, and state of the art in 2017. *Andrology* 2017;5:845-62.
37. **Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, Lombard CJ, Van der Merwe JP, van Zyl JA.** Sperm morphologic features as a prognostic factor fertilization. *Fertil Steril* 1986; 46:1118-1123.
38. **Matorras R, Hernández J (eds):** Estudio y tratamiento de la pareja est ril: Recomendaciones de la Sociedad Española de Fertilidad. Madrid: Sociedad Española de Fertilidad; 2007. 659 p.
39. **Boulet SL, Metha A, Kissin DM, Warner L, Kawwass JF, Jamieson DJ.** Trends in use of and reproductive outcomes associated with intracytoplasmic sperm injection. *J Am Med Assoc* 2015;313:255-63.
40. **Gatimel N, Mansoux L, Moreau J, Parinaud J, L andri R.D.** Continued existence of significant disparities in the technical practices of sperm morphology assessment and the clinical implications: Results of a French questionnaire. *Fertil and Steril* 2017;107:365-72.
41. **Vulliamoz NR, Mc Veigh E, Kurinczuk J.** fertilization: perinatal risks and early childhood outcomes. *Human Fertility* 2012;15(2):62-8.
42. **El-Chaar D, Yang Q, Gao J, Bottomley J, Leade A, Wen SW et al.** Risk of birth defects increased in pregnancies conceived by assisted human reproduction. *Fertil and Steril* 2009;92(5):1557-61.
43. **The ESHRE Capri Workshop Group.** Multiple gestation pregnancy. *Hum. Reprod* 2000;15:1856-64.
44. **Palermo G, Neri Q, Rosenwaks Z.** Safety of intracytoplasmic sperm injection. *Methods in Molecular Biology* 2014;1145:549-62.
45. **Quaas A, Dokras A.** Diagnosis and treatment of unexplained infertility. *Rev Obstet Gynecol* 2008;1:69-76.
46. **Luke B, Brown MB, Wantman E, Forestieri NE, Browne ML, Fisher SC et al.** The risk of birth defects with conception by ART. *Hum Reprod* 2021;36(1):116-21.
47. **Pereira N, O'Neill C, Lu V, Rosenwaks Z, Palermo GD.** The safety of intracytoplasmic sperm injection and long-term outcomes. *Reproduction* 2017; 154(6):F61-F70.
48. **Keyhan S, Truong T, Li Y, Jackson-Bey T, Eaton JL.** Preterm delivery and low birth weight among neonates conceived with intracytoplasmic sperm injection compared with conventional fertilization. *Obstet Gynecol* 2018;131(2):262-8.
49. **Wen J, Jiang J, Ding C, Xia Y, Liu J, Hu Z.** Birth defects in children conceived by fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2012;97:1331-7.
50. **Zhu J, Zhu Q, Wang B, Lyu Q, Kuang Y.** Comparative study on risk for birth defects among infants after fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Syst Biol Reprod Med* 2019;65(1):54-60.
51. **Davies MJ, Moore VM, Willson KJ, Van Essen P, Priest K, Scott H et al.** Reproductive technologies and the risk of birth defects. *N Engl J Med* 2012;366(19):1803-13.
52. **Palermo GD, Neri QV, Rosenwaks Z.** To ICSI or not to ICSI. *Semin Reprod Med* 2015; 33(2):92-102.
53. **Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine.** Electronic adress. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Fertil Steril* 2008;90 Suppl 5:S187.
54. **Drakopoulos P, García-Velasco J, Bosch E, Blockeel C, de Vos M, Santos-Ribeiro S et al.** ICSI does not offer any benefit over conventional IVF across different ovarian response categories in non-male infertility: a European multicenter analysis. *J Assist Reprod and Genet* 2019;36:2067-76.
55. **Viloria T, Garrido N, Minaya F, Remoh  J, Muñoz M, Meseguer M.** Report of results obtained in 2934 women using donor sperm: donor insemination versus fertilization according to indication. *Fertil and Steril* 2011;96:1134-7.
56. **Ten J, Peinado P, Guerrero J, Bernabeu A, L acer J, Orozco-Beltrán D et al.** Comparison of the assisted reproductive technology outcomes between conventional IVF and ICSI with donor oocytes in normozoospermic patients. *Hum Fertil (Camb)* 2019;1-7.
57. **Pohl M, Holagschwandtner M, Bichler K, Kriskcher U, Jurgen S, Feichtinger W.** IVF patients with non male factor "to ICSI" or "not to ICSI" That is the question? *J Assist Reprod and Genet* 2001;18(4):205-8.
58. **Eftekhari M, Mohammadian F, Yousefnejad F, Molaet B, Aflatoo-**

nian A. Comparison of conventional IVF versus ICSI in non-male factor, normoresponder patients. Iran J Reprod Med 2012;10(2):131-6.

59. **Combelles CM, Morozumi K, Yanagimachi R, Zhu L, Fox JH, Racowsky C.** Diagnosing cellular defects in an unexplained case of total fertilization failure. Hum Reprod 2010;25:1666-71.

ABREVIATURAS

ASRM: American Society for Reproductive Medicine.

EOD: Esterilidad de origen desconocido.

ESHRE: European Society of Human Reproduction and Embryology.

FIV: Fecundación .

IA: Inseminación artificial.

ICSI: Microinyección intracitoplasmática de espermatozoides.

PGT: Test genético preimplantacional.

REM: Recuento de espermatozoides móviles.

RHA: Reproducción humana asistida.

RNV: Recién nacido vivo.

SOP: Síndrome de ovario poliquístico.

TRA: Técnicas de reproducción asistida.

Conflicto de intereses: no se declara conflicto de intereses