

**NORMAS PARA LA ACREDITACIÓN DE  
BANCOS DE SEMEN  
SOCIEDAD ARGENTINA DE MEDICINA  
REPRODUCTIVA  
Y  
SOCIEDAD ARGENTINA DE ANDROLOGÍA**

**COMITÉ DE ACREDITACIONES  
2013**

**AUTORES**

Jorge Blaquier  
Sebastian Gogorza  
Marcos Horton  
Alejandro Gustavo Martinez  
Carlos Morente  
Sergio Papier

***“TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS.- En virtud del derecho de propiedad sobre esta obra, sólo su autor tiene la facultad de disponer de ella, de publicarla, de enajenarla, de traducirla, de adaptarla o de autorizar su traducción y de reproducirla en cualquier forma***

*Nadie tiene derecho a publicar sin permiso expreso del autor, partes de esta obra, aunque se hayan anotado o copiado durante su exposición pública o privada. La prohibición alcanza a todo medio de reproducción, sonoro escrito o gráfico, manual, mecánico, electrónico o informático e incluso medios fotocopiadores o de grabación en discos, cintas o cassettes.*

*Salvo autorización expresa del autor, se prohíbe la locación, entrega en deposito o cualquier otro acto o contratación sobre esta obra, que realizado en forma habitual y onerosa, implique lesionar los derechos del autor.*

*El que de cualquier manera y en cualquier forma lesione los derechos de propiedad intelectual que reconoce la ley 11.723, será reprimido con la pena de prisión que establece el art. 172 del Código Penal, además del secuestro de la edición ilícita.”*

## Índice

Objetivos

Definiciones

Resultado de la visita, criterios

NORMAS-relativas al BANCOS DE SEMEN

NORMAS relativas al DONANTE

NORMAS relativas a la DONACIÓN

Bibliografía

Colaboradores: Grupo redacción: Blaquier Jorge; Lancuba Stella; Oses Raymond; Silvani Claudia; Rateni José; Coco Roberto (aporte genética).

## **DEFINICIONES**

### **ACREDITACIÓN:**

Es el proceso por el cual un Banco de Semen se somete voluntariamente a una Evaluación Externa para Acreditación del sistema de Calidad y el cumplimiento con eficacia y seguridad de los requisitos mínimos establecidos en las normas vigentes de SAMER y SAA.

### **OBJETIVO:**

El Proceso de Acreditación propuesto por SAMER y SAA, y la visita que este implica, tienen por objetivo mejorar la calidad de las instituciones visitadas y asegurar a los pacientes y autoridades acerca la idoneidad de las mismas para llevar a cabo las tareas propuestas.

Para lograr este fin preparamos:

- Monitores profesionales calificados y entrenados,
- Un procedimiento con normas transparentes
- Una evaluación objetiva y justa

Los Centros asociados a SAMER que efectúen las prácticas de donación de semen, y los Bancos que provean las muestras a los Centros, deben cumplir con los lineamientos de esta normativa.

Las instituciones que efectúen procedimientos de captación de donantes, almacenamiento y donación del semen deben cumplir con las leyes del país a este respecto y tener en cuenta las recomendaciones de los organismos y consejos profesionales, si los hubiere.

En todo proceso de donación de gametos las partes involucradas, donantes y receptores, deben ser informados acerca del procedimiento, sus riesgos y las consecuencias para sus vidas personales.

## **DEFINICIONES**

- **Banco de Semen**: Es un banco de células que obtiene, procesa, almacena y distribuye espermatozoides humanos para utilizarlos en procedimientos de reproducción asistida, que incluyen, entre otros, inseminaciones terapéuticas y fertilización in vitro.
  
- **Donante de semen**: Es la persona que entrega su semen a un banco de esperma para almacenarlo y luego utilizarlo para inseminar una receptora diferente a su pareja sexual. Los donantes de semen se pueden clasificar como donantes directos o donantes anónimos.
  - **Donante anónimo**: Es un donante de semen cuya identidad es desconocida para los receptores y la descendencia que se generará por el uso de su semen
  
  - **Donante Directo**: Es un donante no anónimo que dona su semen a una receptora específica.
  
- **Paciente depositante**: Persona que almacena sus propias muestras de semen para utilizarlas en inseminaciones diferidas de su pareja o simplemente almacena sus muestras por un largo período sin un plan concreto para su uso; no es un donante en el momento del congelamiento.

## **ACREDITACIÓN**

1.a Para iniciar el proceso de Acreditación, el Banco debe manifestar su interés en ser evaluado, aceptar las condiciones para la visita de acreditación, cumplir con las normas sanitarias del país y región y pagar el arancel dispuesto por el directorio para este trámite, resulte la institución acreditada o no.

1.b Un Banco puede resultar Acreditado, Acreditado Condicional y Rechazado según: el resultado de la visita de acreditación, la recomendación de los acreditadores, la recomendación del Comité de Acreditación y la decisión de la Comisión Directiva.

1.c La acreditación de un Banco tendrá una validez de tres años a partir de la fecha de acreditación. Durante este período se realizarán visitas de seguimiento anuales. Cuando durante ese período cambie el Director Médico, el Director o Supervisor de Laboratorio (ver que corresponde) o se produzcan modificaciones significativas en sus instalaciones, equipamiento o resultados, estas deberán ser comunicadas a SAMER y SAA para que el Comité de Acreditación evalúe la necesidad de re-acreditación. Al terminar el período de tres años, el Banco deberá Re-acreditarse.

## **1.1 Comunicación, Certificado:**

**1.1.1 Acreditado:** una vez que se decide la acreditación de un Banco se le comunica al Director por medio electrónico y se le entrega un certificado de acreditación.

**1.1.2 Acreditado condicional:** una vez que se decide por la acreditación condicional de un centro, se le comunica al Director del mismo por medio de correo electrónico, aclarando las correcciones que el Banco debe realizar en el periodo de un año. Cumplido ese periodo, el Banco debe remitir a SAMER Y SAA copia de los documentos que confirmen las correcciones realizadas. Si el Banco realizó satisfactoriamente las correcciones, a juicio del Comité de Acreditación y de la Comisión Directiva, y cumplió con las obligaciones establecidas en 1.3.4, automáticamente cambiará su estado a Banco acreditado y se le entrega un certificado de acreditación.

Si el Banco no realiza satisfactoriamente las correcciones indicadas en el plazo fijado será eliminado del listado de Bancos acreditados.

**1.1.3. Rechazado:** si un Banco no resultó aprobado después de la visita de acreditación, se le comunica al Director del mismo por medio de correo electrónico, aclarando las deficiencias encontradas durante la misma. Ese Banco deberá esperar un año para iniciar nuevamente el trámite de evaluación por SAMER y SAA.

## **1.2 Proceso de Acreditación**

1.2.1 Los Bancos que hayan solicitado su acreditación recibirán, con anterioridad a la visita, los requisitos para la realización de la visita, una copia de estas Normas y del Cuestionario que utilizarán los evaluadores para la visita e instrucciones para prepararse para ella. Es conveniente que el Banco designe a una persona como contacto principal con SAMER y SAA para este proceso.

1.2.2 Los acreditadores firmarán una declaración jurada de confidencialidad de la visita y de que no poseen relación (participación económica, asesoría, etc), ni conflicto de intereses de ningún otro tipo con la institución a ser visitada.

1.2.3 La acreditación será llevada a cabo mediante una visita de evaluadores seleccionados por el Comité de Acreditaciones con el aval de la Comisión Directiva. Participará de la visita uno o más monitores médicos profesionales y un experto en Reproducción Asistida, que no pertenezca al personal de otro Centro. Durante la misma se completará el Cuestionario de Acreditación.

1.2.4 SAMER y SAA unificarán los criterios de evaluación mediante la educación de los evaluadores que deberán completar cursos de especialización antes de participar en las visitas. Es conveniente que la persona que actuará como “contacto” del Centro también participe de este curso.

## **1.3 Criterios para definir el resultado de la visita de acreditación**

1.3.1 El resultado final de la visita de acreditación será definido por las Comisiones Directivas de SAMER y SAA según el conjunto de los siguientes criterios:

- ❖ Respuesta satisfactoria a las preguntas del Cuestionario de Acreditación
- ❖ Cumplimiento de los Criterios Adicionales
- ❖ La recomendación de los evaluadores
- ❖ La recomendación del Comité de Acreditación

#### 1.3.2 Clasificación de las preguntas del Cuestionario de Acreditación:

- ❖ Sin Categorizar: de cumplimiento OBLIGATORIO
- ❖ Categoría 1: de cumplimiento MUY IMPORTANTE
- ❖ Categoría 2: de cumplimiento IMPORTANTE

#### **1.3.3 Puntaje mínimo requerido para el resultado del cuestionario de acreditación:**

1.3.3.1 Todo Banco que solicite su acreditación debe cumplir con TODOS los requisitos de cumplimiento OBLIGATORIO

1.3.3.2 Para lograr su ACREDITACION el Banco debe cumplir con:

95 a 100% de respuestas satisfactorias a las preguntas Categoría 1 (para los procedimientos que realiza) y 75% de respuestas satisfactorias a las preguntas Categoría 2

1.3.3.3 ACREDITACIÓN CONDICIONAL: Si un Banco acumula 85 a 94% de respuestas satisfactorias a las preguntas de Categoría 1 y al menos 75% de respuestas satisfactorias cumplidas a las preguntas Categoría 2, se le otorgará una ACREDITACION CONDICIONAL, otorgándosele un plazo de 1 año para subsanar las falencias encontradas Al cabo de este período el Comité de Acreditación evaluará los cambios realizados por el centro y hará su recomendación al Directorio

1.3.3.4 RECHAZADO: Si no llegara a reunir el número mínimo de respuestas aceptables.

## **2 REACREDITACION**

2.1 Al cabo del período de tres años de su acreditación, el Banco deberá ser “reacreditado”.

2.2 Para la reacreditación el centro deberá enviar un **informe** sobre sus actividades en los últimos 3 años: formación de personal, participación en talleres y cursos, publicaciones, etc.

2.3 **Completará** el cuestionario de Acreditación

2.5 El Banco será visitado y deberá cumplir con los requisitos tal como para la visita de Acreditación inicial

2.6 Cuando la reacreditación sea debida al cambio el Director Médico, el Director o Supervisor de Laboratorio(ver que corresponde) o se produzcan modificaciones significativas en sus instalaciones, equipamiento o resultados, el Comité podrá solicitar un informe y determinar la necesidad de una nueva visita. En este caso, el informe y/o visita se realizará dentro del año de producido el cambio que originó la re-acreditación. Hasta que se cumplimente el procedimiento mencionado el Banco revistará con “Acreditación Condicional”.

### **1.-NORMAS REFERIDAS AL BANCO DE SEMEN**

#### **1.1 RECOMENDACIONES GENERALES**

Las instituciones que efectúen procedimientos de captación de donantes, almacenamiento y donación del semen deben cumplir con las leyes del país a este respecto y tener en cuenta las recomendaciones de los organismos profesionales nacionales, si los hubiere.

En todo proceso de donación de gametos los donantes, deben ser informados acerca del procedimiento metodologías y riesgos.

Los bancos deben llevar el registro de los datos filiatorios de los donantes y sus respectivos receptores de cada muestra.

## **1.2 ORGANIZACIÓN DEL BANCO**

### **1.2.1 PERSONAL**

El banco debe contar con un director responsable. Este debe tener el título de médico, bioquímico, Lic. en química biológica o Lic. en biología. Es responsabilidad del Director seleccionar y supervisar la actividad de los profesionales que trabajen en el centro, la selección de los donantes, la utilización del material, la preparación y aprobación de un manual de procedimientos, asegurar que cada miembro de su personal tenga una descripción detallada de sus tareas y obligaciones de manera de conocer sus responsabilidades y la cadena de comando. También es su obligación ofrecer oportunidades de educación continuada a su personal y llevar un registro de las mismas. Es responsabilidad del Director emplear un número suficiente de asistentes para soportar la carga de trabajo.

### **1.2.2 INSTALACIONES y OPERACIÓN**

El banco deberá estar habilitado por las autoridades que regulen el ejercicio médico y de laboratorio del país y cumplir con los requerimientos de las leyes locales.

- Máquinas congeladoras: Deben ser calibradas mediante un termómetro independiente del provisto por el mismo instrumento y deberán contar con una fuente suplementaria de energía de accionamiento instantánea (UPS)
- Tanques (termos) de nitrógeno: el nivel de líquido debe ser monitoreado y registrado rutinariamente al menos una vez a la semana. Es altamente recomendable mantener un tanque auxiliar cargado de nitrógeno líquido para resolver emergencias.

El lugar de almacenamiento de tanques debe tener ventilación forzada, si no tuviere natural. Es recomendable que este recinto cuente con una alarma que advierta sobre un descenso de la concentración de O<sub>2</sub> por debajo de 15%.

El acceso al mismo deberá tener seguridad de manera que solo pueda ingresar el personal autorizado para hacerlo.

### **1.2.3 TRAZABILIDAD**

Trazabilidad es la capacidad de ubicar e identificar una muestra en cualquier etapa: procesamiento, almacenamiento, testeo, distribución o descarte y también al recipiente de la donación. Para esto es indispensable que cada donante y cada una de sus muestras tengan un Código único de identificación.

La trazabilidad también incluye el registro del resultado de la utilización del semen.(embarazo, RNV)

El banco deberá contar con registros duplicados de sus donantes, destino de las muestras, receptores y resultados, los cuales deberán ser guardados en distintos lugares.

#### **1.2.4 MANUAL DE PROCEDIMIENTOS**

El Manual de Procedimientos debe incluir la metodología de evaluación clínica del donante.

El Director del Laboratorio debe preparar un Manual con los protocolos detallados de todas las técnicas y procedimientos utilizados en el laboratorio. Es particularmente importante que exista un protocolo que asegure la trazabilidad del estudio del donante y las muestras, la validación de materiales y medios de cultivo, las medidas de seguridad y la gestión de calidad.

Todos los registros del laboratorio deben identificar a la persona que lo escribió y la fecha y hora de la anotación.

Un registro es válido solamente si está claramente escrito con identificación del operador y momento de su realización. Debe existir un protocolo escrito que determine la técnica a utilizar para cada tipo de material a congelar. Debe constar el crioprotector usado, medio utilizado, tipo de contenedor (pajuela, ampolla, etc.) usado y el programa de congelamiento.

El contenedor debe ser marcado de forma indeleble con el nombre del paciente, número de identificación y fecha del congelamiento. Se debe registrar, por duplicado y guardados en diferente lugar, el detalle del material congelado y su ubicación dentro del sitio de almacenaje. Deber existir un protocolo de descongelamiento que especifique la técnica utilizada (medios, tiempo y temperatura usados) y la evaluación de la viabilidad del material.

El personal que manipule Nitrógeno líquido debe utilizar guantes adecuados y protección ocular. El ambiente donde se desarrolle el proceso debe contar con ventilación adecuada. Cada Banco debe establecer un tiempo máximo de conservación de las muestras que almacene.

#### **1.2.5 CONTROL Y CERTIFICACIÓN DE CALIDAD**

Todos los procedimientos deben ser revisados por el Director del Banco y demás personal involucrado al menos anualmente. Se debe guardar copias del protocolo original y de sus modificaciones.

Debe existir, dentro del Manual de Procedimientos, un programa de Control y Mejoramiento de la Calidad que incluya una revisión periódica (al menos semestral,) de

las variables del laboratorio (sobrevida luego del congelamiento) y clínicas (embarazo por donante, tasa de embarazo y aborto)

Deben realizar validación de procesos, procedimientos y equipos para asegurar que cumplen consistentemente con las especificaciones predeterminadas

## **1.2.6 SEGURIDAD**

### **1.2.6.1 Generalidades**

Toda muestra biológica (semen, fluido folicular, sangre) debe ser manipulada como si estuviese contaminada. El personal debe usar guantes (no tóxicos, sin talco) y tomar precauciones para evitar heridas con instrumentos cortantes.

Se debe ofrecer al personal médico y de laboratorio la vacunación contra Hepatitis B y ensayos diagnósticos para enfermedades de transmisión sexual. Quienes declinen usar estos beneficios deberán dejar constancia firmada de su negativa.

El laboratorio utilizará material desechable en todos los casos en que ello sea posible.

Debe existir un protocolo de descontaminación para material re-usable, instrumentos y para casos de contaminación por derrame.

El laboratorio debe contar con un mecanismo de descarte de material biológico y otros materiales contaminados adecuado a la reglamentación local.

Se deben evitar las circunstancias que favorezcan la formación de micro-gotas o aerosoles de fluidos biológicos (centrifugación, mezclado vigoroso).

El laboratorio debe contar con elementos de seguridad para el personal: ropa adecuada, anteojos, gorras, barbijos y guantes

El semen criopreservado debe ser mantenido en “cuarentena” el tiempo de seguridad requerido según la metodología utilizada para su evaluación, al cabo de los cuales el donante será re-evaluado para: HIV 1, HIV 2, hepatitis B y C. Solo cuando estos exámenes den resultados negativos el semen podrá ser utilizado. Durante el período de cuarentena, previo a la liberación para su utilización, los gametos serán criopreservados en un sistema que asegure la imposibilidad de contagio a otras muestras en caso de resultar contaminados.

El aumento en la demanda de crioconservar material biológico reproductivo obliga a disminuir en lo posible el riesgo de contaminación cruzada durante el almacenamiento de dicho material.

En la actualidad no se dispone de evidencias de contaminación cruzada en un tanque de congelación de semen o embriones humanos (1). No obstante, son numerosos los autores que consideran esta posibilidad (2-4), en base principalmente al trabajo de Tedder y col. de 1995 (5), donde se describía la transmisión de hepatitis B por contaminación cruzada durante la crioconservación de médula ósea. Por otra parte, algunos estudios han demostrado que virus infecciosos pueden aislarse del nitrógeno líquido de contenedores de viales de virus crioconservados (6-8). El nitrógeno líquido se ha implicado también en casos de infección cruzada del papiloma virus humano (9,10).

Debido a que una pajueta puede sufrir un escape o rotura durante la congelación, o que el tapón de un criotubo puede reventar o no ser hermético (2), el riesgo potencial de

contaminación cruzada por el nitrógeno líquido representa un peligro real en el laboratorio de reproducción.

### **1.2.6.2 Medidas preventivas**

#### **1.2.6.2.1 Mantenimiento y limpieza de tanques**

Los contenedores de almacenamiento deben ser periódicamente vaciados y limpiados debido al riesgo de pajuelas perdidas o pequeñas partículas de material contaminado que cae al fondo de un gran contenedor (4,21).

La mayoría de las casas comerciales de contenedores de nitrógeno líquido facilitan protocolos de limpieza. El principal problema se plantea con la limpieza de bombonas de transporte denominados “secos”, pues no existen instrucciones para la limpieza y descontaminación del material poroso que absorbe el nitrógeno líquido en este tipo de bombonas

#### **1.2.6.2.2 Contenedores de cuarentena**

Definimos este tipo de tanques como aquellos en los que se dejan las muestras durante el período de cuarentena, es decir, el tiempo necesario según el método utilizado hasta tener los resultados del screening de enfermedades infecciosas transmisibles, antes de poner las muestras “limpias” en el tanque definitivo.

Definiendo este último como aquel tanque en el que se almacena material biológico reproductivo de pacientes o donantes con un estudio serológico negativo una vez transcurrido el período de cuarentena que asegure ese resultado. Por esta definición se excluyen de esta bombona embriones en general y semen de varones oncológicos y pre-vasectómicos, a los cuales no se les suele realizar dicho control posterior.

En el caso de que uno de los donantes que se encuentra ocupando el tanque se haya seroconvertido dentro del período de cuarentena, se propone que todo su contenido sea descartado y el tanque sea posteriormente descontaminado.

#### **1.2.6.2.3 Almacenamiento en vapor o filtración de Nitrógeno Líquido**

Una posibilidad de reducir la contaminación cruzada durante la crioconservación de material biológico reproductivo es almacenamiento de dicho material en vapores de nitrógeno líquido.

El inconveniente de la generalización de esta forma de almacenamiento es la necesidad de un control exhaustivo de la temperatura en las diferentes zonas del contenedor, lo que dificulta la comercialización de contenedores de estas características (27).

La filtración de Nitrógeno Líquido sólo se ha utilizado en algunos protocolos de vitrificación de embriones o semen que precisan que este material biológico entre en contacto directo con el Nitrógeno Líquido (28). Esta técnica sólo se ha descrito para pequeñas cantidades de Nitrógeno Líquido, debiéndose descartar su aplicación generalizada.

### **1.2.6.3 Material Utilizado en los Protocolos de Congelación**

El grado de seguridad biológica que queremos alcanzar en la crioconservación de material biológico reproductivo depende directamente del material utilizado para ello y de una correcta manipulación de éste. En la actualidad existen tres tipos de recipientes criogénicos: pajuelas, criotubos y ampollas.

#### **1.2.6.3.1 Pajuelas**

Las pajuelas son probablemente el sistema de empaquetamiento más usado para semen humano. Hay diversos tamaños de pajueta aunque los más usados son los de 0.25 y 0.5 ml. La seguridad biológica en la crioconservación de material biológico reproductivo en pajuelas dependerá: material de la pajueta, método de llenado y método de sellado.

##### **Material de la pajueta**

La importancia de la composición de la pajueta se debe a la posibilidad de ruptura, escape y de un correcto sellado.

Las pajuelas pueden ser de diversos materiales como PVC (cloruro de polivinilo), PETG (poli-etilentetralato glicol) y IR (resina ionomérica). No existen trabajos que comparen la posibilidad de rotura de las pajuelas ni el escape de su contenido basándose en los diferentes materiales con los que se fabrican las pajuelas, por lo que deben considerarse similares. Por otro lado, el tipo de material empleado para fabricar la pajueta influye directamente en las posibilidades de

sellado. Uno de los métodos de sellado más seguros, como veremos a continuación, es el sellado por calor y este sólo lo podremos aplicar a las pajuelas de resina ionomérica.

##### **- Método de sellado**

Evidentemente, un sellado adecuado de las pajuelas es vital para garantizarla seguridad en la crioconservación. Las pajuelas pueden sellarse mediante:

- a) Polvos de Polivinil Alcohol (PVA), el cual polimeriza en contacto con la humedad (29).
- b) Calentamiento en ambos extremos.
- c) Sellado ultrasónico.
- d) Tapones sólidos (nylon, esferas de vidrio, plastilina).

Se ha asociado el escape del material almacenado en pajuelas selladas con PVA con la técnica de llenado y no a un mal funcionamiento del sellado. Pajuelas llenas de colorante usando el método tradicional de “sumergir y limpiar” (dip and wipe) y selladas con PVA (Alcohol Polivinilo) mostraban un significativo grado de escape del colorante (0.0269% del contenido total de la pajueta), mientras que si estas pajuelas eran llenadas con una técnica aséptica (introduciendo una pieza de plástico a modo de embudo que impide el contacto de la pajueta con el semen) no mostraban escapes.

El polvo de PVA puede acumular microorganismos (27), por lo que no se debe emplear para varios pacientes, debiendo utilizar para un paciente alícuotas de polvo de PVA que posteriormente desecharemos. Otras recomendaciones serían que antes de cortar con tijeras estériles el extremo sellado debe de limpiarse dicho extremo (por ejemplo con

alcohol de 70º o hipoclorito). El sellado con tapones sólidos tipo esferas de vidrio o plastilina hace que al poner dicho tapón arrastre los posibles restos de material biológico que existan en el extremo de la pajuela que ha estado en contacto con el semen, no siendo necesario un sellado secundario (2). Por lo que no tendría tanta importancia el tipo de llenado como en el caso del sellado con PVA.

El sellado ultrasónico analizado por diversos autores, tanto a temperatura ambiente (3) como en nitrógeno líquido (32) no es muy efectivo por lo que no se recomienda su uso (3,32). A la conclusión de muy alta seguridad biológica, llegan diferentes estudios que analizan la bioseguridad de pajuelas de resina ionomérica selladas térmicamente (27) (CryoBioSystem, CBS; <http://cryobiol.system-IMV.com>, producido por IMV Technologies; L'Aigle, France).

Yo pondría:

Diferentes estudios que analizan la bioseguridad de pajuelas de resina ionomérica selladas térmicamente concluyen que la misma es muy alta. (27) (CryoBioSystem, CBS; <http://cryobiol.system-IMV.com>, producido por IMV Technologies; L'Aigle, France) |

#### - Método de llenado

Ya hemos comentado los inconvenientes de utilizar el sistema de llenado clásico de “dip and wipe” y la ventaja de utilizar un sistema aséptico de llenado (CBS; <http://cryobiol.system-IMV.com>) para prevenir contactos entre la pajuela y el semen, disminuyendo así considerablemente la posibilidad de contaminación.

Otra medida de seguridad a añadir a las propuestas anteriormente es el uso de cloramina al 0.5% para la descontaminación externa, aunque su eficacia no es del 100% (3,33).

Por último no debemos olvidar que para evitar que la pajuela estalle o salte el material sellador, es importante dejar un espacio de aire en el extremo de al menos 1 cm para permitir la expansión de la muestra durante su congelación.

#### **1.2.6.3.2 Criotubos o crioviales**

Independientemente de otros inconvenientes, el uso de criotubos para almacenar material biológico reproductivo es desaconsejado por varios autores (3,27), ya que el tapón de cierre suele deformarse a bajas temperaturas y permite el paso de nitrógeno líquido, entrando éste en contacto con el material almacenado.

Para evitar este inconveniente, se ha propuesto la aplicación de sistemas de contención o sellado secundario de los criotubos. En cuanto a los sistemas de contención secundarios, Clarke (27) propone introducir los criotubos en tubos de

polipropileno estériles. Otras alternativas propuestas son el empleo de Cryoflex (27) (Product Nº 343958; Nunc Nalge International, Roskilde, Denmark) o de Nescofilm (30)(Merck, Ltd., Merck House, Poole, Dorset, UK) los cuales previenen el ingreso de nitrógeno líquido en el criotubo durante la crioconservación, empleándose como un envoltorio por fuera del vial, no haciendo contacto directo éste con el material biológico crioconservado.

No obstante, a pesar de la aplicación de estas medidas complementarias de seguridad biológica, hay autores que no recomiendan el uso de criotubos para la congelación de semen por las razones comentadas anteriormente (3,27).

#### **1.2.6.3.3 Ampollas**

Aunque las ampollas de cristal eran originalmente usadas para la crioconservación de semen, actualmente su uso es muy escaso debido a su fragilidad (29), ya que las ampollas de cristal selladas incorrectamente pueden explotar cuando se recuperan del nitrógeno líquido. Para minimizar el riesgo de explosiones potenciales, se debe poner el vial en la fase de vapor del nitrógeno líquido durante 24 horas antes de su descongelación. El uso de Cryoflex está también muy recomendado en este tipo de dispositivos (34).

#### **1.2.6.4 Medidas especiales para pacientes con enfermedades infecciosas transmisibles (EIT)**

Diversos comités de expertos e investigadores (5,35), han resaltado la necesidad de adoptar medidas especiales al crioconservar material biológico reproductivo de pacientes con enfermedades infecciosas transmisibles.

Una medida básica, en el caso del semen, es llevar a cabo una preparación de la muestra previa a su congelación usando gradientes de densidad y técnicas de lavado de semen para reducir la carga viral potencial de la muestra (11,12).

Según la Normativa Francesa (36), es básica una buena organización del laboratorio de andrología donde se va a tratar a pacientes que presentan riesgo viral. Las condiciones de trabajo para llevar a cabo una crioconservación segura serían:

- a) Utilizar pajuelas de alta seguridad.
- b) Contenedores de almacenamiento independientes para pacientes infectados con VIH, VHB y VHC.
- c) Almacenamiento de pajuelas de pacientes co-infectados por VIH y virus de hepatitis en la cisterna destinada a VIH.
- d) Contenedor de reserva.

Según la Asociación Europea de Bancos de Tejidos el almacenamiento de todas las muestras congeladas procedentes de pacientes seropositivos para el VIH (semen, embriones) se realizará en un mismo recipiente o tanque, independientemente de las otras muestras de laboratorio (20).

Para el eventual transporte del material biológico reproductivo de estas parejas, se recomienda la utilización de una envoltura de plástico que aisle las pajuelas de alta seguridad del resto del recipiente (CRYOPORTERTM, Air Liquid, France, [www.airliquide.com](http://www.airliquide.com)).

#### **1.2.6.5 Transporte de Gametos**

Para llevar a cabo un transporte seguro de material biológico habría que distinguir claramente una serie de conceptos:

- Sustancias infecciosas: aquellas que contienen microorganismos viables (bacterias, virus, prión, parásito, hongo) o toxinas bacterianas que se sabe o se cree que pueden causar enfermedades en animales o humanos.
- Especímenes diagnósticos: materiales humanos o animales (excreciones, sangre, tejidos, fluidos tisulares, etc.) obtenidos con fines diagnósticos o de investigación (38).

Los materiales biológicos reproductivos transportados con más frecuencia son el semen de donante criopreservado y los líquidos foliculares cuando el laboratorio se encuentra separado del área de punción folicular. En estos dos casos, consideramos que las recomendaciones a seguir son las de especímenes diagnósticos. Existen documentos que protocolizan el transporte de material biológico, como los de la Unión Postal Universal (UPU), la Organización Internacional de Aviación (ICAO) y la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (IATA) (39-41).

A nivel europeo todos los documentos internacionales relacionados con el transporte están basados en las Recomendaciones del Comité de Expertos de las Naciones Unidas para el Transporte de Mercancías Peligrosas (UN) (42). También existe un acuerdo europeo sobre transporte Internacional de mercancías peligrosas por carretera (ADR), aprobado por RD 2115/9838, (43).

Describamos algunos aspectos de las normativas comentadas sobre el transporte de especímenes diagnósticos.

El sistema básico de embalaje consiste:

- a) Recipiente primario: estanco, a prueba de filtraciones, etiquetado y que contiene la muestra. Este recipiente deberá envolverse en material absorbente. En cuanto al etiquetado, según la AEBT, si se trata de una muestra de semen de un donante, deberá constar de un código alfanumérico que identifique a dicho donante así como el número de muestra de dicho donante. Por otro lado, si la muestra es para uso autólogo, podrán hacerse constar además los apellidos del paciente (16).
- b) Recipiente secundario: estanco, a prueba de filtraciones y que protege el recipiente primario. Se pueden colocar varios recipientes primarios envueltos en un recipiente secundario. Para ello debe usarse suficiente material absorbente para proteger a todos los recipientes primarios y evitar así choques entre ellos.
- c) Recipiente externo de envío: el recipiente secundario se coloca en un paquete de envío que protege al recipiente secundario y su contenido de los elementos externos, tales como daño físico y agua.

Los formularios con datos, cartas y otras informaciones de identificación de la muestra deben colocarse pegados con cinta adhesiva en el exterior del recipiente secundario.

En la etiqueta del material enviado constará:

- a) Embalaje triple básico
- b) No se requieren marcas de Naciones Unidas (NU).
- c) No se requiere pictograma de sustancias peligrosas ni declaración del remitente
- d) Se indicará: "Material biológico para uso clínico"
- e) Etiqueta dirección:

- Nombre, dirección de destino, lo más detallada posible, y teléfono del Receptor
- Nombre, dirección, teléfono y persona de contacto en el Banco de semen
- f) Se incluirán documentos con las condiciones de almacenamiento e instrucciones especiales para el transporte. Una de las consideraciones especiales que hay que tener muy en cuenta a la hora de transportar una muestra de semen es no romper la cadena de frío, por lo que se debe emplear un recipiente en fase de vapor o líquido de nitrógeno así como evitar el empleo de nieve carbónica.
- g) Permiso importación/exportación y declaración
- h) Etiqueta orientación
- i) Día y hora de salida del Banco de Semen (16).

Los requerimientos que hay que cumplir para realizar un transporte a nivel local son los siguientes:

- a) Recipientes herméticos y resistentes
- b) Tubos con rosca en posición vertical (gradilla, bandeja...)
- c) Empleo de cajas resistentes y cierre perfecto
- d) Caja sujeta en el vehículo de transporte
- e) Etiquetaje adecuado al contenido
- f) Tener los formularios con datos necesarios
- g) Vehículo con kit de recogida (guantes resistentes, material absorbente, desinfectante, contenedor de residuos, etc.)

Debe asegurarse una coordinación perfecta del transporte entre el Remitente, Transportador y Destinatario para asegurar el envío. De este modo, cada parte implicada debe llevar a cabo perfectamente la parte que le corresponda. Así, destacar entre otras actuaciones que el Remitente debe asegurar la correcta identificación, embalaje, etiquetado y documentación necesaria siguiendo las normas de bioseguridad establecidas en las “Recomendaciones del Comité de Expertos de las Naciones Unidas para el Transporte de Artículos Peligrosos”; el Transportador debe mantener en las condiciones apropiadas (Tª, Luz...) el material desde que lo recibe del remitente hasta que lo entrega en su destino así como disponer de las licencias pertinentes para realizar este tipo de transporte; finalmente, el destinatario debe confirmar con las autoridades nacionales que el material puede ser importado legalmente. Según la AEBT (16), en cuanto a la posibilidad de devolver un material que no ha llegado a ser empleado, se recomienda evitar, como norma general, el retorno del semen que ha sido suministrado por el Banco, ya que éste sólo aceptará la devolución de la muestra cuando se cumplan las 3 condiciones siguientes:

- La muestra no ha sido descongelada
- Se puede demostrar la integridad del embalaje (los precintos están intactos)
- La temperatura adecuada para la muestra ha sido mantenida durante todo el transporte.

## **2.-NORMAS REFERIDAS AL DONANTE**

### **2.1 CONSENTIMIENTO INFORMADO**

El donante de semen debe firmar un consentimiento informado, donde conste toda la información que ha recibido, que le permite tomar la decisión libre y voluntaria de llevar a cabo la donación de su semen con el propósito de obtener un embarazo, consciente de no tener derecho a reclamar con respecto a la persona nacida.

### **2.2 SELECCIÓN Y EVALUACIÓN DEL DONANTE**

La rutina para la evaluación del potencial donante debe estar especificada en el Manual de Procedimientos de la institución

- Los donantes deben ser informados acerca del uso de sus gametos y de la importancia de mantener su compromiso.
- Los donantes deben ser, en general, jóvenes y sanos. Los varones mayores de 40 años tienen riesgo aumentado de nuevas mutaciones motivo por el cual se recomienda donantes menores de 40 años.
- Deben cumplir las condiciones que ya se explicaron en la sección “recomendaciones generales”.
- Examen físico completo. Registro del fenotipo. Examen hematológico.
- Se sugiere o recomienda evaluación psicológica del donante.
- Exámenes de Laboratorio incluyendo: hemograma, grupo sanguíneo y factor Rh, HIV 1, HIV 2, hepatitis B y C. Como así también el análisis de otras enfermedades de transmisión sexual (Gonorrea, Chlamydia, sífilis, Citomegalovirus (IgG e IgM), HTLV I y II) y talasemia.
- Se realizarán al menos dos espermogramas que den resultados normales según los criterios de OMS. Adicionalmente se evaluará el comportamiento del semen frente al congelamiento-descongelamiento en lo referente a sobrevivencia de las células y motilidad, ambas deben ser al menos 50% de la encontrada en la muestra antes de su congelación.
- Historia clínica y familiar completa que descarte enfermedades hereditarias, personas con alto riesgo de estar expuesta a HIV u otra enfermedad de transmisión sexual.
- El examen físico debe descartar la existencia de uretritis, úlceras o verrugas genitales.

### **2.3 EVALUACIÓN GENÉTICA DEL DONANTE:**

- La evaluación genética del donante involucra un panel de estudios genéticos mínimos.

- Antecedentes genéticos personales o patologías familiares: hombres con antecedentes de demencia, portadores de mutaciones del gen de fibrosis quística, serán criterios de exclusión de donante.
- Además, los bancos recabarán del donante toda la información que él manifieste sobre sus familiares a fin de detectar antecedentes de enfermedad familiar (abuelos, padres, hermanos, hijos) con componente genético importante tales como alteraciones mendelianas, cáncer de mama, colon o malformaciones mayores entre otros.
- Se debe realizar un cariotipo y/o un examen genético a todas aquellas personas que deseen ser donantes de gametos.
- El cariotipo es recomendado para descartar la presencia de alguna anomalía numérica o la posibilidad de un rearrreglo cromosómico.
- Según las recomendaciones de la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) 2008, el screening genético para enfermedades hereditarias debe realizarse en los donantes potenciales. El testeo para el gen de fibrosis quística debe realizarse en todos los donantes. Según la norma de esta sociedad la profundización de estudios genéticos dependerá de los antecedentes personales y familiares, raza, y la genealogía de acuerdo a los riesgos potenciales
- Se sugiere que los integrantes de los grupos de alto riesgo (ver tabla) deben ser examinados para identificar a los heterocigotos de la alteración prevalente en el grupo. El ser heterocigoto no excluye necesariamente al donante pero requiere una evaluación particular del caso.

#### **Grupos de alto riesgo**

Grupo étnico	Enfermedad
Judío Ashkenazi	Enfermedad de Tay-Sachs, Enfermedad de Canavan, Anemia falciforme
Afro-americano	Talasemia
Sudeste asiático	Talasemia

#### **2.4 ESTUDIOS GENÉTICOS EN RECEPTORAS**

A pedido de la receptora, y por medio de su requerimiento en forma escrita, se le podrá realizar a ella el asesoramiento y los estudios genéticos pertinentes. Como consecuencia de la situación previamente descrita, los estudios genéticos específicos que correspondiera realizar al potencial donante de semen, estarían directamente relacionados con los factores de riesgo específicos que presente la receptora. En este caso, la paciente receptora deberá hacerse cargo de los costos del estudio genético propio

y de los de su donante, que se ocasionen como consecuencia de riesgos genéticos particulares.

### **3.-NORMAS REFERIDAS A LA DONACIÓN**

La donación es de carácter altruista.

Ningún miembro de la institución donde se realiza la donación ni el médico tratante pueden ser los donantes de gametos.

Límite del número de donaciones: de acuerdo a la recomendación de ASRM, un mismo donante puede ser utilizado para un número limitado de embarazos. Como guía se propone que para una población de 800.000 personas un donante no debe originar más de 25 nacimientos. Más allá de este número aumenta la posibilidad de consanguinidad inadvertida. En tal sentido, la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva recomienda mediante la presente normatización la creación de un registro único de donantes en el ámbito que corresponda.

### **4.-BIBLIOGRAFÍA**

1. Tomlinson M, Sakkas D. Is a review of standard procedures for cryopreservation needed? Safe and effective cryopreservation-should sperm banks and fertility centres move toward storage in nitrogen vapour? Hum Reprod 2000; 15: 2460-3.
2. Russell PH, Lyaruu VH, Millar JD, Curry MR, Watson PF. The potential transmission of infectious agents by semen packaging during storage for artificial insemination. AnimReprodSci 1997; 47: 337-42.
3. Benifla JL, Letur-Konirsch H, Collin G, Devaux A, Kuttenn F, Madelenat P, Brun-Vezinet F, Feldmann G. Safety of cryopreservation straws for human gametes or embryos: a preliminary study with human immunodeficiency virus- 1. Hum Reprod 2000; 15: 2186-9.
4. Steyaert SR, Leroux-Roels GG, Dhont M. Infections in IVF: review and guidelines. Hum Reprod 2000; 6: 432-41.
5. Tedder RS, Zuckerman MA, Goldstone AH et al. Hepatitis B transmission from contaminated cryopreservation tank. Lancet 1995; 346: 137-40.
6. Schafer TW, Everett J, Silver GH, Came PE. Biohazard potential: recovery of infectious virus from liquid nitrogen of a virus repository. Health Lab Sci 1976; 13: 23-4.
7. Jones SK, Darville JM. Transmission of virus particles by cryotherapy and multi-use caustic pencils: a problem to dermatologists? Br J Dermatol 1989; 121: 481-6.
8. Bielanski A, Bergeron H, Lau PC, Devenish J. Microbial contamination of embryos and semen during long term banking in liquid nitrogen. Cryobiology 2003; 46: 146-52.

9. Charles CR, Sire DJ. Transmission of papovavirus by cryotherapy applicator. *JAMA* 1971; 218: 1435.
10. Tabrizi SN, Garland SM. Is cryotherapy treating or infecting? *Medical Journal of Australia* 1996; 164: 263.
11. Kim LU, Johnson MR, Barton S et al. Evaluation of sperm washing as a potential method of reducing HIV transmission in HIV discordant couples wishing to have children. *AIDS* 1999; 16: 645-51.
12. Levy R, Tardy JC, Bourlet T et al. Transmission risk of hepatitis C virus in assisted reproductive techniques. *Hum Reprod* 2000; 15: 810-6.
13. American Society of Reproductive Medicine. 2002 Guidelines for gamete and embryo donation. *FertilSteril* 2002;77 suppl5.
14. Barratt C, Englert Y, Gottlieb C, Jouannet P. Gamete donation guidelines. The Corsendonk consensus document for the European Union. *Hum Reprod* 1998;13 supplement 2:7-9.
15. British Andrology Society. British Andrology Society guidelines for the screening of semen donors for donor insemination (1999). *HumReprod* 1999;14:1823-1826.
16. Miralles A, Veiga A, Bassas L, Castilla JA, Mirabet V, Villalba R. Semen. En *Estándares de la Asociación Española de Bancos de Tejidos* (2ª ed), 2002.
17. Castilla JA, García-Peña ML, Núñez AI, Fernández A, Mendoza JL, Magán R, Ortíz A. Citomegalovirus y reproducción asistida. En *Temas de Actualidad Andrológica*. Eds: García-Ochoa C, Sarquella J, Ruiz M, Lafuente J, Fiter L, Diaz F, 2003. ASES, Gijón.
18. Liesnard CA. Screening of semen donors for infectious diseases. *Hum Reprod* 1998;13 supplement 2:12-24.
19. Moore DE, Ashley RL, Zarutskie PW et al. Transmisión of genital herpes by donor insemination. *J AmMedAssoc* 1989;261:3441-3443.
20. Castilla JA, Suarez I, Expósito A, Gil MT, Luceño F, Nuñez AI, Fontes J, Mendoza N, Martínez L. Parejas serodiscordantes y reproducción asistida. *Rev IberFert* 2001; 18: 107-14.
21. Hargreave TB, Ghosh C. The impact of HIV on a fertility problems clinic. *J ReprodImmunol* 1998; 41: 261-70.
22. Bahadur G, Tedder RS. Quarantine and cryopreservation (letter). *Hum Reprod* 1997b; 12: 2579-80.
23. Janssens PMW. Safety during sperm banking (letter). *Hum Reprod* 1997; 12: 2579.
24. Fountain D, Ralston M, Higgins N et al. Liquid nitrogen freezers: a potential source of microbial contamination of hematopoietic stem cell components. *Transfusion* 1997; 37: 585-91.
25. Sawada Y. The preservation of human semen by deep freezing. *Int J Fertil* 1964; 9: 525-32.
26. Ackerman DR. Damage to human spermatozoa during storage at warming temperatures. *Int J Fertil* 1968; 13: 220-5.
27. Clarke GN. Sperm cryopreservation: is there a significant risk of crosscontamination? *Hum Reprod* 1999; 14: 2941-3.
28. Vatja G, Lewis IM, Kuwayama M, Greve T, Callesen H. Sterile application of the open pulled straw (OPS) vitrification method. *Cryo-Letters* 1998; 19: 389- 392.

29. Mortimer D. Semen Cryopreservation. In Mortimer D (ed), Practical Laboratory Andrology. Oxford University Press, New York 1994; 301-23.
30. Bahadur G, Tedder RS. Safety during sperm banking (letter). Hum Reprod 1997a; 12: 198.
31. Kuleshova LL y Shaw JM. A strategy for rapid cooling of mouse embryos within a double straw to eliminate the risk of contamination during storage in liquid nitrogen. Hum Reprod 2000; 15: 2604-9.
32. Letur-Könirsch H, Collin G, Sifer C, Devaux A, Kuttenn F, Madelenat P, Brun-Vezinet F, Feldmann G, Benifla JL. Safety of cryopreservation straws for human gametes or embryos: a study with human immunodeficiency virus-1 under cryopreservation conditions. Hum Reprod 2003; 18: 140-4.
33. Peeters MF. Safety aspects. In Bras M, Lens JW, Piederiet MH, Rijnders PM, Verveld M, Zeilmaker GH (eds), Laboratory Aspects of In-Vitro Fertilization. Organon, The Netherlands 1996; 271-83.
34. Cryopreservation Manual, written by Simione FP, M.S. of the American Type Culture Collection (ATCC) in cooperation with NalgeNunc International Corp. ©NalgeNunc International Corp. 1998. [www.nalgenunc.com/cyro](http://www.nalgenunc.com/cyro).
35. Massey EJ, Dasani H, Jones P, Saleem AK. Storage of sperm and embryos. Storage facility exists for sperm from patients positive for antibody to hepatitis C virus. Br Med 1996; 313: 1078.
36. 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>.
37. Comisión Asesora sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida del Departamento de Sanidad y Seguridad Social de la Generalitat de Cataluña. Técnicas de Reproducción Asistida y VIH. (CATRHAGC, 2002).
38. Calero S. Transporte material biológico. Curso Trabajar con seguridad en el laboratorio de microbiología. Aula científica 2003.
39. The Universal Postal Union (UPU): "Manual of the Universal Postal Convention". Lays down detailed regulations for the transport of biological substances by post/mail. 1995.
40. The International Civil Aviation Organization (ICAO). "ICAO Technical Instructions". Safe Transport of Dangerous Goods by Air, amplified by Technical Instructions on the Safe Transport of Dangerous Goods, 1984. Última ed.: 1999.
41. The International Air Transport Association (IATA). "Dangerous Goods Regulations" (40ª ed.). 1999.
42. The United Nations Committee of Experts on the Transport of Dangerous Goods (UN ECOSOC). Recommendations on the Transport of Dangerous Goods (10ª ed.). 1997.
43. Loza E, Alomar P, Bernal A, Harto A, Pérez JL, Picazo JJ, Sarazá ML. Seguridad en el Laboratorio de Microbiología Clínica. En Procedimientos en Microbiología Clínica, Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Picazo JJ (ed), 10: 1-42. 2000.

44. 2008 guidelines for gamete and embryo donation: A practice committee report. Practice committee of the American Society for Reproductive Medicine, and Practice committee of the Society for Asisted Reproductive Technology. Fertility and Steriliti, Vol 90 Suppl 3, Nov 2008