

**Funcionamiento de un banco de semen en Argentina:
15 años de experiencia.***

Dr. Raymond Osés

Director Médico – CRYOBANK

Departamento de Andrología - IFER

Libertad 1173 - 4º B - C1012AAW- Buenos Aires, Argentina

Tel: 4812-8449 Fax: 4813-0170

cryobank@speedy.com.ar www.cryo-bank.com.ar

*publicado en la Revista Reproducción (SAMeR) en marzo de 2004

Introducción:

La inseminación terapéutica con semen de donante (ITD) es utilizada mundialmente para tratar a parejas con azoospermia, o infertilidad masculina severa, en parejas que portan enfermedades genéticas conocidas que pueden transmitirse a través de los espermatozoides del marido, o en mujeres solas. Los bancos de semen con donantes anónimos han representado un aspecto importante de la medicina reproductiva durante décadas.¹ En 1987 más de 170.000 mujeres en Estados Unidos de América recibieron tratamiento por infertilidad a través de inseminaciones.^{2,3} En Inglaterra, aproximadamente 3.000 parejas buscan tratamiento anualmente y en 1992 se realizaron más de 16.000 ciclos de inseminación.⁴ Se estima que 30.000 embarazos al año ocurren en Estados Unidos de América como resultado de inseminaciones con semen de donante.⁵

En la actualidad, y desde el advenimiento del ICSI (inyección intracitoplasmática de espermatozoides) y de los diferentes procedimientos quirúrgicos para obtención de espermatozoides epididimarios y testiculares, muchos pacientes con azoospermia o infertilidad masculina severa recurren a estos procedimientos antes de recurrir a la inseminación terapéutica con semen de donante.⁶⁻⁸ Sin embargo, estos nuevos procedimientos son costosos y no accesibles a toda la población con infertilidad masculina severa. Por lo tanto, la inseminación terapéutica con semen de donante continúa siendo una opción razonable para muchas parejas.

El banco de semen fue creado en 1988 para proporcionar semen de donantes debidamente seleccionados y estudiados y para ofrecer la posibilidad de criopreservar semen de pacientes que podían perder su fertilidad (tratamientos del cáncer, por ejemplo) y así poder utilizar sus espermatozoides en fecha futura y poder acceder a la posibilidad de ser padres biológicos (paternidad diferida).⁹ Ha contribuido en el tratamiento de cientos de pacientes a través de los años, en combinación con diferentes profesionales del país.

El aspecto más conocido de un banco de semen radica en los donantes, ya que es el servicio más utilizado por los profesionales y los pacientes. A pesar de que la inseminación terapéutica con semen de donante (ITD) data de hace más de un siglo, el gran crecimiento de los bancos de semen en el mundo ocurrió en la década del '80.¹⁰ Y fue el advenimiento del HIV el que consolidó su funcionamiento y posteriormente la sugerencia de utilizar sólo semen criopreservado, que haya completado una cuarentena de por lo menos seis meses para el HIV.¹¹⁻¹⁷

En nuestro país no existe legislación que regule las técnicas de reproducción asistida. La Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMER; en ese entonces SAEF) publicó el Código de Ética en la Revista Reproducción (octubre de 1994) y envió ejemplares a sus socios adjuntando una copia de los lineamientos de la Sociedad Norteamericana de Fertilidad (AFS, hoy ASRM) de 1993, que sugería observar.¹⁸ En 1998 la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva, publicó en la Revista Reproducción los consensos internacionales de la Federación Internacional de las Sociedades de Fertilidad (IFFS) con relación a la procreación asistida y la infertilidad tubárica.¹⁹ Desde ese entonces no se han modificado las sugerencias y, por lo tanto, son las vigentes en la actualidad.

A pesar de que los lineamientos son considerados pautas sugeridas y no son obligatorios, los mismos definen la postura o consejo de los grupos de expertos (consortium) o sociedades médicas y científicas a medida que se avanza en el conocimiento médico y a medida que se producen los cambios sociales.

El análisis bibliográfico de la literatura mundial refleja diferencias entre los diferentes países y también entre diversas instituciones en cuanto a las recomendaciones sugeridas

en la implementación de programas de donación de gametos, siendo estas recomendaciones distintas de acuerdo a la existencia o no de legislación pertinente, de la composición étnica de la población, del grado de desarrollo tecnológico, de sus recursos económicos y de la postura filosófica.²⁰⁻²⁴

El objetivo de esta publicación es describir los lineamientos en los que se basa el funcionamiento de un banco de semen en nuestro medio que ya cuenta con 15 años de experiencia. Estos lineamientos constituyen una adaptación de aquellos sugeridos por la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMER) en su Código de Ética de 1994.

Lineamientos para inseminación terapéutica con semen de donante:

I. Introducción

El propósito principal de estos lineamientos es mejorar la selección de donantes y disminuir el riesgo potencial de transmisión de agentes infecciosos mediante el uso de muestras de semen congeladas que han sido sometidas a un proceso de cuarentena adecuado.

II. Inseminación

La inseminación terapéutica con un donante (ITD) puede utilizarse para lograr un embarazo en una mujer en edad reproductiva en los casos en que esté indicado. Deberán tenerse en cuenta la edad y el estado de salud de la receptora.

III. Indicaciones para considerar la ITD

- A. El hombre es portador de azoospermia irreversible, sin importar la causa.
- B. El hombre es actualmente estéril debido a una vasectomía que no desea corregir quirúrgicamente.
- C. El hombre es severamente oligospermico o posee anormalidades en el líquido seminal consideradas como asociadas con infertilidad por factor masculino. Es posible que existan otras indicaciones cuando resulte difícil establecer la presencia de espermatozoides potencialmente defectuosos.
- D. El hombre presenta un trastorno hereditario o genético conocido (ej., enfermedad de Huntington, hemofilia, anomalías cromosómicas) que implica un riesgo muy elevado para la descendencia biológica.

- E. El hombre padece de disfunción eyaculatoria secundaria a traumatismo, cirugía, medicación, anormalidades psicológicas, etc.
- F. La mujer es Rh-negativa y está severamente iso-Rh inmunizada, y el hombre es Rh-positivo.
- G. En tecnologías reproductivas asistidas (fertilización in vitro, transferencia intratubaria de gametos, y transferencia intratubaria de cigotos) donde se haya demostrado un factor masculino importante (ej.: fracaso previo de fertilización, oligoastenospermia importante, e infertilidad masculina de causa inmunológica), y la inyección intracitoplasmática de espermatozoides no es posible o considerada una opción terapéutica.
- H. En mujeres solas (sin pareja).

IV. Las Receptoras

- A. Aquellas parejas o mujeres que deseen una ITD deberían ser informadas de que podrían surgir consecuencias emocionales y psicológicas adversas con este procedimiento. Esto podría requerir una derivación para la evaluación de la pareja y asesoramiento psicológico.
- B. La pareja o la paciente, si fuera soltera, deberá firmar consentimientos.

V. Evaluación del Esposo/Pareja Masculina

- A. Toda pareja masculina de una pareja infértil que solicite una ITD deberá haber completado una evaluación del “factor masculino” apropiada. Si estuviera indicado, la pareja debería ser informada de tratamientos alternativos.
- B. Debe ofrecerse el testeo de HIV a la pareja masculina y evitar inconvenientes de tipo médico-legal en caso de que se produjera seroconversión del mismo posterior al inicio del tratamiento. Una pareja masculina HIV positiva no es motivo de exclusión siempre y cuando el tratamiento se realice con un donante HIV negativo.

VI. Evaluación de la Receptora

- A. Antecedentes Médicos y Reproductivos
Deberán obtenerse la historia clínica de rutina y los antecedentes reproductivos conforme a los estándares aplicables a mujeres que prevean un embarazo. Las anormalidades reproductivas detectadas a partir de la historia clínica o el examen físico pueden requerir una evaluación más

detallada y tratamiento antes de la inseminación (ver sección genética en screening de donantes).

B. Examen físico general y pélvico

C. Pruebas de Laboratorio

Las pruebas recomendadas incluyen hemograma completo, grupo sanguíneo, factor Rh, y títulos de rubeola y varicela, ofreciendo vacunación si la prueba da negativa. Las mujeres Rh negativas deberían realizar títulos de anticuerpos. Se debe realizar el testeo para HIV, Hepatitis B y C, CMV y sífilis. Debería realizarse cultivo de moco cervical para gonococos y *Chlamydia*.

D. Documentación y Tiempos de Ovulación

Las técnicas para calcular el tiempo de la ovulación pueden incluir la temperatura corporal basal, la medición de la progesterona en fase lútea, las mediciones de la concentración de hormona luteinizante utilizando kits urinarios o el monitoreo ecográfico de la maduración folicular.

E. Evaluación de Posibles Anormalidades Tubarias o Peritoneales

Las pacientes que no puedan concebir luego de cuatro a seis ciclos de inseminación bien programados pueden ser candidatas a histerosalpingografía (HSG), laparoscopia, y otras pruebas apropiadas para detectar otras posibles causas de infertilidad persistente. Puede considerarse la realización de una HSG antes de la inseminación y conforme a la historia clínica y/u otros hallazgos físicos, podría estar indicada una laparoscopia antes del tratamiento.

VII. Donantes

A. Selección de Donantes

1. Las principales características a observar en la selección del donante para ITD son la ausencia de enfermedades infectocontagiosas sexuales y de enfermedades hereditarias familiares conocidas por el donante.
2. El donante debería ser mayor de edad.
3. La selección de donantes que hayan establecido su fertilidad es deseable pero no constituye un requisito indispensable.
4. Tradicionalmente se han utilizado donantes anónimos y se alienta esta práctica.

5. Si se utilizan donantes conocidos, los mismos deberían ser sometidos a la misma evaluación y screening que los donantes anónimos y la muestra deberá ser sometida a un período de cuarentena de 180 días. En estos casos se recomienda una evaluación psicológica de todos los involucrados (donantes, pareja masculina y receptora) y asesoramiento.
6. Ningún propietario, operador, director de laboratorio, o empleado de una institución que realice ITD podrá actuar como donante en dicho programa.
7. El individuo que suministre la muestra de semen no deberá ser ni el médico del paciente ni el individuo que realice la inseminación.

B. Screening de Donantes

1. Screening del semen

- a. Se sugiere que se examinen varias muestras (abstinencia de 2 a 3 días) antes de proceder con una evaluación más amplia.
- b. La muestra debería ser examinada dentro del período de 1 a 2 horas posteriores a la eyaculación en un recipiente estéril. Los criterios utilizados para juzgar la normalidad de la muestra varían de laboratorio a laboratorio, pero en general pueden utilizarse los siguientes:

Volumen:	>1 mL
Motilidad espermática:	≥60% con movimiento activo en dirección traslativa
Concentración espermática:	≥50 x 10 ⁶ de espermatozoides móviles/mL
Morfología espermática:	≥50% morfología normal (OMS) ³⁸
Crio-sobrevida:	≥50% de movilidad inicial

2. Genética

El screening genético de los donantes potenciales es importante. Algunas instituciones realizan un cariotipo antes de aceptar a un donante. En general, esto no es considerado un requerimiento, siempre y cuando se preste atención a la obtención de una historia familiar adecuada reconociendo desórdenes hereditarios potenciales.

- (a) El donante debe gozar de buena salud y:

- (i) no debe tener desórdenes mendelianos mayores como hemofilia. Una malformación mayor se define como aquella que acarrea una discapacidad funcional o defecto cosmético serio; sin embargo, esto es cuestión de criterio;
 - (ii) no debe ser heterocigota para un gen autosómico recesivo prevalente en su grupo étnico y que pueda ser detectado. Esto incluye α talasemia en asiáticos y filipinos, β talasemia en poblaciones mediterráneas, anemia de células falciformes en afro-americanos y enfermedad Tay Sachs en judíos de ascendencia europea (del este) y otras poblaciones aisladas. (Sin embargo, con una población étnica similar a la española, estos tests no son realizados de rutina en Argentina. La ley española conocida como el Real Decreto 412/1996 no contempla estos estudios para aceptación de donantes. La Sociedad Norteamericana de Medicina Reproductiva (ASRM) recalca que resulta impracticable el screening de los donantes para todas las enfermedades deletéreas recesivas, aún pudiéndose realizar el estudio);
 - (iii) no debe tener una malformación mayor de causa compleja (poligénica) como espina bífida o malformación cardíaca. Se considera impracticable seleccionar una lista completa de desórdenes no triviales para descartar donantes;
 - (iv) no debe tener una enfermedad familiar con un componente genético mayor como la hipertensión severa;
 - (v) no debe ser portador de reordenamientos cromosómicos que podrían dar lugar a gametas no balanceadas. Esta posibilidad es muy baja y la obtención de un cariotipo en sangre es considerada una opción;
 - (vi) debe tener menos de 50 años, ya que podría aumentar el riesgo de nuevas mutaciones mendelianas.
- (b) En base a una historia clínica familiar los parientes directos (padres, hermanos, hijos) también deben estar libres de:
- (i) malformaciones mayores como en la sección I)(iii);

(ii) desórdenes mendelianos mayores comprendidos en las siguientes categorías:

1. desórdenes dominantes autosómicos o ligados al cromosoma X, donde la edad de comienzo se extiende más allá de la edad del donante, como ser la enfermedad de Huntington;
2. herencia autosómica dominante con penetrancia reducida;
3. herencia autosómica recesiva, si la enfermedad tiene una alta frecuencia en la población y los gametos del donante serán utilizados en muchas ocasiones, como por ejemplo semen congelado en un programa de inseminación terapéutica con donante.

(iii) una anomalía cromosómica, a menos que el donante tenga un cariotipo normal.

(c) En lo posible debe mantenerse un registro que preserve la confidencialidad, y que incluya los resultados de estudios realizados a los donantes. Esta información no identificatoria debería ser proporcionada a pedido y en forma anónima a la receptora o a los hijos nacidos como resultado de la donación.

3. Historia Clínica

- a. En general, los donantes deberían ser sanos y no tener antecedentes que sugieran enfermedad hereditaria y familiar.
- b. Deberá obtenerse una historia sexual completa a fin de excluir como donantes a aquellos individuos que puedan presentar un riesgo elevado de ser HIV positivos y/o que tengan numerosas parejas sexuales.

4. Examen Físico

- a. Se recomienda que el donante se someta a un examen físico, incluyendo la evaluación de flujo uretral, verrugas genitales, y úlceras genitales, al igual que screening de laboratorio de rutina, incluyendo pruebas de grupo sanguíneo y factor Rh, antes de reclutarlo en el programa.

- b. Los donantes deberían ser entrevistados durante el seguimiento para descartar la aparición de flujo uretral, verrugas genitales y úlceras genitales y no utilizarlos si estas lesiones aparecieran.
5. Screening de Laboratorio
- a. VDRL. Obtener inicialmente en sangre; no es necesario repetir el estudio a menos que exista una indicación clínica.
 - b. Antígeno de superficie para Hepatitis B (HBsAg) y anticuerpos para Hepatitis C. Obtener inicialmente y repetir cada seis meses.
 - c. Cultivos en semen, orina o uretra para *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis*. Obtener inicialmente y repetir cada 6 meses o más frecuentemente si existe indicación clínica.
 - d. Anticuerpos séricos para Citomegalovirus (CMV) (inmunoglobulina G). Si son positivos se sugiere utilizar solamente con receptoras que sean positivas para CMV. Repetir cada 6 meses y no utilizar muestras con cuarentena si el donante desarrolla un título de anticuerpos sugerentes de enfermedad reciente con CMV.
 - e. Anticuerpos séricos para HIV. Un resultado positivo deberá confirmarse con la técnica Western Blot antes de notificárselo al donante. Si el estudio es negativo se pueden obtener muestras de semen para criopreservación. El donante debería ser testado nuevamente en 180 días para HIV y las muestras liberadas para uso sólo si los resultados son negativos.

C. Manejo de Donantes

1. Monitoreo del Estado de Salud

- a. El único método más importante para disminuir el riesgo de transmitir agentes infecciosos a las mujeres durante una inseminación es realizar un screening meticuloso de los donantes potenciales y desarrollar un procedimiento continuo para el monitoreo de su estado de salud. Dado que las situaciones individuales son tan variables, no hemos incluido un método uniforme.

2. Pago a Donantes

- a. El pago a los donantes variará de área en área, pero no debería ser de una magnitud tal que el incentivo monetario fuera el factor

principal para la donación de semen. No obstante, el donante debe ser remunerado por su tiempo y gastos.

3. Limitaciones del Uso de Donantes

- a. Las instituciones y clínicas deben mantener registros apropiados de modo que puedan optar por establecer un límite respecto de la cantidad de embarazos de cada donante. Hay un consenso razonable que indica que el riesgo de un aumento en la consanguinidad superior al que ocurre en la población general es esencialmente nulo si el límite se establece en ≤ 10 embarazos por donante. Esto puede variar dependiendo de grupos étnicos pequeños (subgrupos) o de distribución en áreas geográficas más extensas. (Este consenso ha variado en los últimos años y el límite aceptable se establece en 25 embarazos por cada 800.000 habitantes).
- b. Esta sugerencia podría requerir modificaciones si la población que utiliza inseminación por donante representa un subgrupo aislado o las muestras están distribuidas a lo largo de una gran área geográfica.

4. Consentimiento

Es deseable que el donante firme el formulario de consentimiento, indicando en detalle una firme negativa de factores de riesgo reconocidos para HIV.

5. Mantenimiento de Registros

Debido a la falta de una legislación modelo y a la incierta condición medicolegal que protege los intereses del donante, no existe en la actualidad un sistema ideal para el mantenimiento de registros. No obstante, es muy recomendable mantener registros de donantes confidenciales y permanentes. En lo posible debería registrarse el resultado de cada ciclo de inseminación.

D. Uso de Semen Congelado

1. En general, se reconoce que los índices de embarazo con semen congelado son más bajos que los que utilizan semen fresco. No obstante, debido a que es posible que el HIV se transmita a través del semen de donante fresco antes de que el donante se haya tornado

seropositivo, un fenómeno que puede tardar hasta 3 meses en ocurrir luego de la infección inicial, el potencial de transmisión de HIV a través del semen fresco no puede ser eliminado por completo.

2. Por lo tanto, la postura de diferentes sociedades científicas internacionalmente es que ante las circunstancias actuales, ya no puede garantizarse el uso de semen fresco para las inseminaciones con semen de donante. Todas las muestras congeladas deben ser puestas en cuarentena durante 180 días, y el donante debe ser nuevamente sometido a pruebas y resultar seronegativo para HIV antes de que pueda utilizarse la muestra.

VIII. Análisis de las Técnicas

A. “Coincidencia” entre la Pareja Masculina y el Donante

1. Hay varias maneras de hacer coincidir la pareja masculina con el donante. Debe alentarse a la pareja a que enumere las características que desean en un posible donante, incluyendo grupo étnico, estatura, hábito corporal, color de piel, color de ojos, y color y textura del cabello.
2. Deben tenerse en cuenta el grupo sanguíneo y el factor Rh, especialmente con receptoras Rh negativas. Si el uso de semen de donante genera la posibilidad de una incompatibilidad Rh, las receptoras deberán ser informadas respecto de la significancia obstétrica de este trastorno.
3. Si no es posible satisfacer los requisitos de la pareja, deberá discutirse el problema a fin de evitar malos entendidos.

Consideraciones personales:

La inseminación terapéutica con semen de donante (ITD) es un procedimiento común en todo el mundo.²⁵⁻²⁸ Se practica en mujeres de parejas con factor masculino severo y con mayor frecuencia en mujeres solas, dependiendo del país y su legislación. Hoy en día muchos pacientes azoospermicos intentan técnicas de recuperación espermática con ICSI antes de evaluar este procedimiento como una opción.

El éxito de este procedimiento depende de una amplia variedad de factores. Algunos no pueden cambiarse, como la edad de la mujer, mientras que otros están vinculados al tratamiento médico, como ser: la calidad de los espermatozoides utilizados para la inseminación, el timing de la inseminación, los protocolos de estímulo ovulatorio utilizados y la elección del tipo de inseminación (intracervical vs. intrauterina).²⁹⁻³⁷

No es el propósito de este trabajo evaluar la importancia de algunas de estas variables, pero tal vez sea de alguna utilidad para el médico tratante conocer algunas de mis observaciones prácticas luego de 15 años de experiencia dirigiendo un banco de semen en este país.

La aceptación de la inseminación terapéutica con donante (ITD) ha aumentado a través de los años. Sin embargo, a muchas pacientes les cuesta entender que el porcentaje de embarazos por ciclo de inseminación es de aproximadamente 15% y que, en ocasiones, se requieren varias inseminaciones para lograr el embarazo. Es común la deserción temprana de pacientes que no embarazan en pocos ciclos y las mismas deberían ser alentadas a continuar con varias inseminaciones antes de acudir a la fertilización asistida de alta complejidad, a menos que por patología asociada o por la edad, ésta última sea preferible.

Muchas pacientes son estimuladas con gonadotrofinas ó citrato de clomifeno desde el inicio y pocas comienzan las inseminaciones en ciclo espontáneo. Es la experiencia de diferentes grupos internacionales con muchos años de experiencia y la propia que los embarazos múltiples son frecuentes (y no deseables) con estímulo ovulatorio y, por lo tanto, es preferible comenzar los ciclos de inseminaciones en mujeres jóvenes y normoovuladoras en ciclos espontáneos con monitoreo ovulatorio, al menos inicialmente.

Otro aspecto práctico que he observado a través de los años es que las mujeres de hombres azoospermicos (versus oligospermicos) tienen tendencia a embarazar con menos inseminaciones. Probablemente dentro del grupo de mujeres de hombres oligospermicos existan algunas con factor femenino encubierto, ya que han estado expuestas al embarazo, aunque con menor cantidad de espermatozoides.

Sería de prever que las mujeres con algún embarazo previo tendieran a necesitar menos ciclos de inseminaciones para lograr el embarazo, pero la experiencia propia y la de la literatura no parecerían coincidir. Una explicación posible es que las mujeres con embarazos previos tienen más años, por lo que el factor edad contrarrestaría la fertilidad demostrada con anterioridad. Esta experiencia es notable en mujeres que vuelven para su segundo o tercer embarazo. Hemos tratado a más de 600 pacientes a través de los años y contamos con pacientes que han tenido 2 y 3 hijos con el mismo donante en años diferentes. No tenemos registro de pacientes que hayan tenido más de 3 hijos con semen de donante en nuestro banco.

Es importante informar a los pacientes que a fin de poder utilizar el mismo donante para futuras inseminaciones y embarazos es necesario reservar muestras con anticipación, lo que implica un costo de almacenamiento anual, ya que las mismas no van a ser automáticamente reservadas para ellos. El semen criopreservado puede almacenarse por muchísimos años sin que se vea afectada la calidad. Contamos con una paciente que actualmente está cursando el sexto mes de su segundo embarazo a través de inseminación artificial intracervical de semen almacenado por su actual marido hace 10 años (enfermedad de Hodgkin).

En general las pacientes preguntan acerca de las características físicas de los donantes (a veces también características intelectuales) y en general se les aclara que probablemente no existan donantes tan parecidos a su marido y que obviamente el banco no tiene fotos de los mismos para preservar su identidad. También se les aclara que en caso de repetir inseminaciones hasta lograr el embarazo el donante puede ser cambiado por otro (con características similares) para descartar la posibilidad de incompatibilidad entre un donante en particular y la receptora.

En 15 años de manejo del banco de semen no hubo ningún donante que preguntara sobre el resultado de sus muestras (embarazos) ni ninguna paciente embarazada que preguntara sobre la identidad de un donante. Es claro que tanto donantes como pacientes prefieren mantener el anonimato. Sin embargo, no es posible saber qué ocurrirá en el futuro con los hijos nacidos a través de este procedimiento, ya que si los mismos tomaran conocimiento del tratamiento con el cual fueron gestados tal vez con el tiempo querrían indagar sobre su origen. Al no existir legislación en este país es difícil predecir

el desenlace futuro de esta cuestión. Los primeros niños nacidos con nuestro banco tienen aproximadamente 14 a 15 años, por lo que aún no ha surgido este tipo de cuestionamiento.

Mi sugerencia es explicar en detalle los principios básicos de la inseminación terapéutica con semen de donante (ventajas y desventajas) para evitar malos entendidos y obtener una interconsulta psicológica (counseling) siempre que sea posible -y con algunos pacientes en particular- y hacer firmar a las/los pacientes un consentimiento informado que resuma los aspectos más destacables del tratamiento así como las posibles complicaciones del mismo.

Bibliografía:

1. Botchan A., Hauser R., Gamzu R., Yogev L., Paz G. and Yavetz H. Results of 6139 artificial insemination cycles with donor spermatozoa. *Hum Reprod* 16, 2298-2304, 2001.
2. Critser, J.K. Current status of semen banking in the U.S.A. *Hum Reprod* 13 (Suppl. 2), 55-67, discussion 68-69, 1998.
3. U.S. Congress, Office of Technology Assessment. Artificial insemination: practice in the United States. Summary of a 1987 survey background paper, OTA BP-BA48, Washington, DC: U.S. Government Printing Office:3-368, 1988.
4. Human Fertilization and Embryology Authority. 3rd Annual Report. Human Fertilization and Embryology Authority, London, 1994.
5. Critser, J.K. Current status of semen banking in the USA. *Hum Reprod.*, 13 (Suppl. 2), 55-67, discussion 68-69, 1998.
6. Devroey, P., Liu, J., Nagy, Z. *et al.* Normal fertilization of human oocytes after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.*, 62,639-641, 1994.
7. Tournaye, H., Liu, J., Nagy, Z. *et al.* Intracytoplasmic sperm injection (ICSI): the Brussels experience. *Reprod. Fertil.Dev.*, 7, 269-279, 1995.
8. Silber, S.J., Van Steirteghem, A.C., Liu, J. *et al.* High fertilization and pregnancy rate after sperm injection with spermatozoa obtained from testicle biopsy. *Hum. Reprod.* 10, 148-152, 1995.
9. Osés, R. Criopreservación de semen. Aspectos clínicos. Boletín Informativo de la Sociedad Argentina de Andrología Vol 6; N° 3; 62-66, 1997.
10. Gregoire AT, Mayer RC: The impregnators. *Fertil Steril* 16:130-134, 1965.
11. Puigdomenech, E. Criopreservación de semen. Aspectos técnicos. Boletín Informativo de la Sociedad Argentina de Andrología Vol 6; N° 4: 89-93, 1997.
12. Hummel. W.P., Talbert, L.M.: Current management of a donor insemination program. *Fertil Steril* 51:919, 1989.
13. Federation CECOS: Laneou, Die; Lansac, J. Artificial procreation with frozen donor semen: experience of the French Federation CECOS. *Hum Reprod* 4:757-61, 1989.
14. Nachtigall RD: Donor insemination and human immunodeficiency virus: A risk/benefit analysis: *Am J Obstet Gynecol* 170:1692-1696, 1994.
15. Bignall J: HIV infection from donor semen. *Lancet* 345:719, 1995.
16. Barrat CLR, Cooke ID: Risks of donor insemination. *BMJ* 299:1178-1179, 1989.
17. Berry WR, Gottesfeld RL, Alter HJ, Vierling JM: Transmission of hepatitis B virus by artificial insemination. *JAMA* 257:1079-1081, 1987.
18. American Fertility Society: Guidelines for therapeutic donor insemination. Sperm. *Fertil Steril* 59:1S-7S, 1993.
19. IFFS Consensos Internacionales. *Reproducción*, Año XIII, N° 4, 1998.

20. Guidelines for therapeutic donor insemination 1992-1993. The Canadian Fertility and Andrology Society. February 1993.
21. Israeli Ministry of Health. *Israeli regulations for sperm donation and sperm bank*. Ministry of Justice publication, 1994.
22. Real Decreto 412/1996 (BOE 23-3-1996, núm. 72, pág. 11253).
23. Le Lannou, D., Thepot, F. Jouannet, P. Multicentre approaches to donor insemination in the French CECOS Federation: nationwide evaluation, donor matching, screening for genetic diseases and consanguinity. Centre d'Etudes et de Conservation des Oeufs et du Sperme humain. *Hum Reprod* 13 (Suppl. 2), 35-49 ; discussion 50-54, 1998.
24. Rubin B. Psychological aspects of human artificial insemination. *Arch Gen Psychiatry* 13:121-132, 1965.
25. Clarke, G.N., Bourne, H., Hill, P. *et al*. Artificial insemination and in-vitro fertilization using donor spermatozoa: a report on 15 years of experience. *Hum Reprod.*, 12, 722-726, 1997.
26. David, G., Czyglik, F., Mayaux, M.J. *et al*. Artificial insemination with frozen sperm: protocol, method of analysis and results for 1188 women. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 87, 1022-1028, 1980.
27. Depypere, H.T., Gordts, S., Campo, R. *et al*. Methods to increase the success rate of artificial insemination with donor semen. *Hum. Reprod.*, 9, 661-663, 1994.
28. Johnston, R.C., Kovacs, G.T., Lording, D.H. *et al*. Correlation of semen variables and pregnancy rates for donor insemination: a 15-year retrospective. *Fertil. Steril.*, 61, 355-359, 1994.
29. Kang, B.M. and Wu, T.C. Effect of age on intrauterine insemination with frozen donor semen. *Obstet. Gynecol.*, 88,93-98, 1996.
30. Lansac, J., Thepot, F., Mayaux, M.J. *et al*. Pregnancy outcome after artificial insemination or IVF with frozen semen donor: a collaborative study of the French CECOS Federation on 21,597 pregnancies. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 74, 223-228, 1997.
31. Lincoln, S.R., Long, C.A. and Cowan, B.D. One artificial insemination per cycle with donor sperm is as efficacious as two inseminations. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 12, 67-69, 1995.
32. Richter, M.A., Haning, Jr. R.V. and Shapiro, S.S. Artificial donor insemination: fresh versus frozen semen; the patient as her own control. *Fertil. Steril.*, 41, 277-280, 1984.
33. Shenfield, F., Doyle, P., Valentine, A. *et al*. Effects of age, gravidity and male infertility status on cumulative conception rates following artificial insemination with cryopreserved donor semen: analysis of 2998 cycles of treatment in one centre over 10 years. *Hum. Reprod.*, 8, 60-64, 1993.
34. Brook, P.F., Barratt, C.L. and Cooke, I.D. The more accurate timing of insemination with regard to ovulation does not create a significant improvement in pregnancy rates in a donor insemination program. *Fertil. Steril.*, 61, 308-313, 1994.
35. Hurd, W.W., Randolph, J.F., Ansbacher, R. *et al*. Comparison of intracervical, intrauterine, and intratubal techniques for donor insemination. *Fertil. Steril.*, 59, 339-342, 1993.
36. Subak, L.L., Adamson, G.D. and Boltz, N.L. Therapeutic donor insemination: a prospective randomized trial of fresh versus frozen sperm. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 166, 1597-1604, 1992.
37. Williams, D.B., Moley, K.H., Cholew, C. *et al*. Does intrauterine insemination offer an advantage to cervical cap insemination in a donor insemination program? *Fertil. Steril.*, 63, 295-298, 1995.
38. World Health Organization: *WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction*, 3rd ed. Cambridge, Press Syndicate of the University of Cambridge, 1992.