

Transfere ncia embrionaria y gestación múltiple: ¿debemos modificar conductas?

Embryo transfer and multiple pregnancy: should we modify our protocols?

Carmen Varillas del Río^a, Domingo Vázquez Lodeiro^b, Susana Blanco Pérez^a, Maria Jesús García García^c, Elena Cerviño Gómez^b, Roberto Luís Reboredo García^b, José Luís Doval Conde^a.

^aServicio de Ginecología y Obstetricia. Complejo Hospitalario de Ourense.

^bServicio de Ginecología y Obstetricia. Complejo Hospitalario de Vigo.

^cServicio de Medicina Preventiva. Unidad de investigación. Complejo Hospitalario de Ourense.

Resumen

Objetivo: *Analizar los factores que en nuestro centro se asocian a gestación múltiple en el ámbito de la fecundación in Vitro (FIV).*

Material y métodos: *Estudio retrospectivo de las gestaciones obtenidas mediante fecundación in Vitro en el Complejo Hospitalario de Vigo en el año 2007. Las variables estudiadas fueron: edad de la paciente, número de ciclo de FIV, número de embriones conseguidos, número de embriones transferidos, calidad embrionaria, día de transferencia, criopreservación de embriones excedentes, gestación única, doble o triple.*

Resultados: *Se iniciaron 315 ciclos, de los que llegaron a transferencia 279,27 de ellos fueron de un embrión (9,7%), 161 (57,7%) fueron de dos embriones, y en 91 (32,6%) se transfirieron 3 embriones. El número de embriones de categoría A se relacionó con una mayor probabilidad de gestación múltiple de forma estadísticamente significativa.*

Conclusiones: *El análisis de los registros internacionales y la revisión de nuestros datos nos hace plantear la transferencia selectiva de un embrión en aquellas mujeres jóvenes, en el primer ciclo de FIV en el que obtengamos más de 2 embriones óptimos, con la finalidad de presentar un número más reducido de embarazos gemelares en favor de las gestaciones únicas.*

Palabras clave: Gestación múltiple. Transfere ncia embrionaria. Técnicas de reproducción asistida.

Correspondencia: Dra. Carmen Varillas del Río
C/ Chano Piñeiro 4, 9C
32005 Ourense
CARMEN.VARILLAS.DEL.RIO@sergas.es
carmenvari@yahoo.es

Summary

Objective: *To analyze wich factors in our hospital are associated to multiple pregnancy in the area of in vitro fertilization (IVF).*

Material and methods: *Retrospective study of pregnancies achieved by in vitro fertilization in the Complejo Hospitalario de Vigo in 2007. Clinical data recorded were: age, number of IVF cycle, number of embryos obtained, number of embryos transferred, embryo quality, day of transfer, cryopreservation of embryos, and type of pregnancy: single, double or triplet.*

Results: *In 315 started cycles, 279 embryo transfer were done. 9,7% were one embryo transfer, 57,7% were two embryo transfer and 32,6% were three embryo transfer. The number of type A (optimal) embryos was related with a higher risk of multiple pregnancy.*

Conclusions: *International registers review, in combination with our data, suggest the possibility of single embryo transfer in young women, in their first IVF cycle, and when we obtain more than two optimal embryos, in order to reduce the number of twin pregnancies.*

Key words: Multiple pregnancy. Embryo transfer. Assisted reproduction techniques.

INTRODUCCIÓN

En los últimos veinte años, el uso de las técnicas de reproducción asistida (TRA) se ha generalizado entre la población, y cada vez son más las parejas subfértiles o infértiles que acuden a las unidades de reproducción humana para conseguir una gestación. El desarrollo de estas técnicas ha conseguido incrementar las tasas de embarazo en estas parejas, con la contrapartida de aumentar de forma significativa el número de gestaciones múltiples.

La frecuencia de embarazos gemelares debidos a ciclos de Fecundación in Vitro (FIV) es más de 14 veces mayor a la observada en gestaciones espontáneas, y las de tres o más fetos, más de 54 veces (1).

Los embarazos múltiples se asocian a peores resultados perinatales, complicaciones maternas, y un mayor coste económico, tanto a nivel familiar, como sociosanitario.

Una vez se ha conseguido mejorar los resultados de las técnicas de reproducción asistida, el reto en el momento actual consiste en disminuir las situaciones de riesgo derivadas de ellas, principalmente el síndrome de hiperestimulación ovárica y la gestación de dos o más fetos.

Existen diferentes estrategias para intentar reducir al máximo la incidencia de embarazos múltiples, lo que incluiría la utilización restrictiva de las TRA en aquellas parejas en las que haya elevadas probabilidades de conseguir una gestación de forma espontánea, además una utilización cautelosa de las gonadotrofinas en la estimulación ovárica. En el campo de la FIV, la disminución del número de fetos se conseguirá principalmente mediante el control estricto del número

de embriones a transferir según la calidad de los mismos y otros parámetros maternos a considerar.

El objetivo de este trabajo es el análisis de las gestaciones obtenidas mediante FIV en el Hospital Xeral Cíes de Vigo a lo largo del año 2007, para estudiar qué factores se asocian más frecuentemente a las gestaciones múltiples, y valorar en qué casos podría ser planteable la disminución del número de embriones transferidos, incluso la transferencia selectiva de un embrión.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo, de las mujeres en las que se consiguió gestación mediante Fecundación In Vitro a lo largo del año 2007 en el Hospital Xeral Cíes de Vigo.

Descripción de la intervención:

La mayoría de los ciclos de FIV se realizaron según un protocolo de agonista largo con previa desensibilización hipofisaria con agonistas de la GnRH. La estimulación ovárica se indujo con FSH recombinante (Gonal F®- Serono ó Puregon®- Organon) asociada a HMG (Menopur®-Ferring), a las dosis adaptadas según las características de la paciente (edad, índice de masa corporal, FSH basal, recuento antral de folículos basales y antecedentes), y la monitorización ecográfica endovaginal. La ovulación se desencadenó en todas ellas con HCG recombinante (Ovitrelle® 250µg sc).

La punción ovárica se realizó a las 36 horas tras la inyección de HCG, y para el soporte de fase lútea se

utilizó en todas las pacientes progesterona vaginal micronizada a dosis de 600 mg/día (Utrogestan®-Seid ó Progeffik®- Effik.)

Se realizó la revisión de las historias clínicas, recogiendo los siguientes datos de los ciclos que habían finalizado en gestación:

- Edad de la paciente, dividida en dos categorías: < 33 años y ≥ 33 años
- Número de ciclo de FIV
- Número de embriones conseguidos en día +1
- Número de embriones transferidos
- Calidad embrionaria: Se utilizó la clasificación de ASEBIR (2)
 - Embriones A: Embriones de óptima calidad, con máxima capacidad de implantación
 - Embriones B: Embriones de buena calidad con elevada capacidad de implantación
 - Embriones C y D: Se agruparon ambas categorías, siendo embriones de regular y mala calidad respectivamente, con bajas posibilidades de implantación.
- Día de transferencia: Día +2 o día +3
- Criopreservación de embriones excedentes (habitualmente en día +3)
- Gestación única, doble o triple.

Las variables categóricas se describieron mediante proporciones y las continuas con medidas de tendencia central y dispersión.

Se realizó un análisis de regresión logística tomando como variable dependiente la presencia de gestación (única o múltiple) y como independientes la edad, el número de embriones obtenidos en día + 1, el número de embriones transferidos, el número de ciclo de FIV que realizaba la paciente y el número de embriones de categoría A que se obtuvieron.

Se consideraron significativos valores de $p < 0,05$.

El análisis estadístico se realizó mediante SPSS para Windows, v.12

RESULTADOS

Entre el 1 de Enero y el 31 de Diciembre de 2007 se realizaron 315 ciclos de FIV que llegaron a captación ovocitaria, y en 279, se realizó transferencia embrionaria.

De las 315 pacientes que iniciaron la estimulación ovárica, el 60% estaba en su primer ciclo de FIV, el 30% era el segundo ciclo de tratamiento que realizaba, y un 10% estaba en el tercero.

La mediana de edad de las pacientes tratadas fue de 35 años (rango de 24-43). Un 27% de ellas superaban los 37 años.

De las 279 transferencias, 27 fueron de un embrión (9,7%), 161 (57,7%) fueron de dos embriones, y en 91 (32,6%) se transfirieron 3 embriones (figura 1). La tasa de embarazo conseguida con la transferencia de un embrión fue del 22,2%, con dos embriones transferidos el 37,9%. Con la transferencia de tres embriones fue del 34,1% (figura 2).

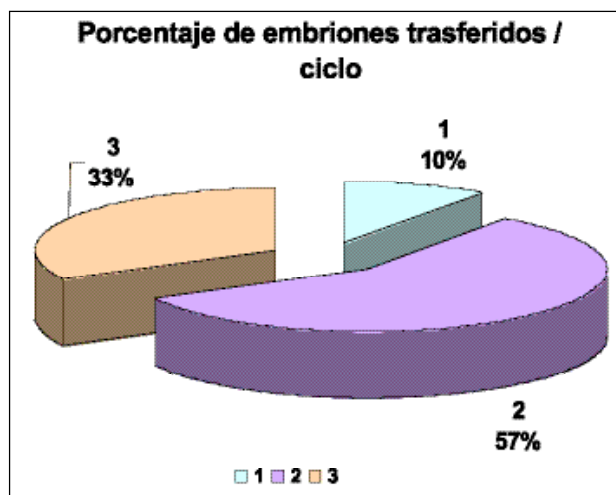


Figura 1

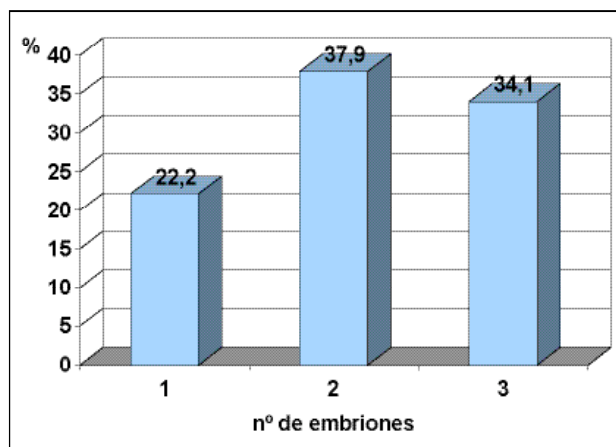


Figura 2

Tasas de embarazo según número de embriones transferidos

La tasa de embarazo por ciclo iniciado fue del 31,1%, con una tasa de embarazo por transferencia del 35,12%, es decir, se consiguieron 98 embarazos.

La edad media de las pacientes embarazadas fue

de 34 años (Desviación Estándar - DS- \pm 3,1 años). Para el estudio de la edad como factor implicado en el mayor riesgo de gestación múltiple se dividió a la muestra en dos categorías, las menores de 33 años y las de edad mayor o igual a 33 años.

El número medio de embriones obtenidos en día +1 fue de 5 (DS \pm 2,6), transfiriéndose una media de 2,26 embriones (DS \pm 0,56) por paciente.

En cuanto a los embriones de calidad óptima o categoría A, en el 29,6% de los ciclos se obtuvo 1 embrión, en el 18,4% se obtuvieron 2 embriones y en el 1% se obtuvieron 3 o más embriones. En el 51% de los casos no hubo ningún embrión óptimo disponible para la transferencia (figura 3).

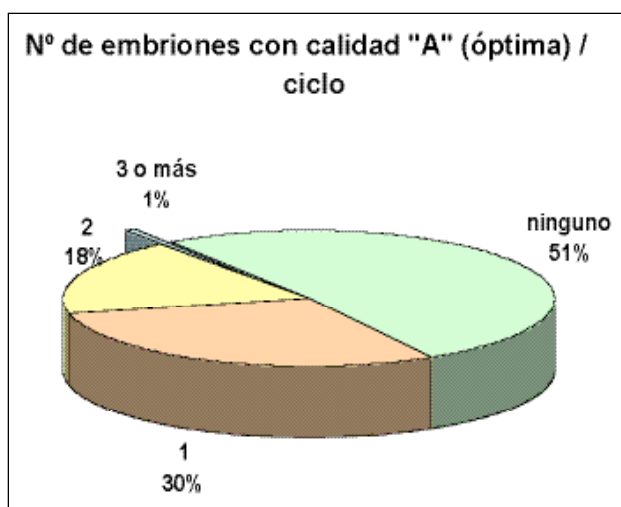


Figura3

El día más habitual para realizar la transferencia embrionaria fue en día +2 (77,6% de los ciclos).

La mayoría de las gestaciones fueron únicas (64,3%), seguidas de las gemelares (33,7%). En dos casos (2%) el embarazo fue triple.

En el 25,5% de las pacientes hubo embriones excedentes de buena calidad en día +3 para criopreservación.

Al analizar la influencia de la edad, número de embriones obtenidos en día +1, número de embriones transferidos, número de ciclo de FIV que realizaba la paciente y número de embriones grado A en la presencia de gestación múltiple, sólo en número de embriones de categoría A se relacionó con una mayor probabilidad de gestación múltiple. ($p=0,02$). En la regresión logística, la influencia de la edad no alcanzó significación estadística, con $p=0,055$.

DISCUSIÓN

Tradicionalmente, el conseguir una gestación evolutiva se ha considerado el éxito de las técnicas de reproducción asistida (TRA), tanto por los pacientes, como por los profesionales dedicados a este campo.

Sin embargo, cada vez son más las sociedades científicas (3) que consideran el nacimiento de un recién nacido único sano y a término como el estándar del éxito.

El gran aumento de las gestaciones gemelares y de más de dos fetos en las mujeres sometidas a TRA, ha puesto de manifiesto el mayor número de complicaciones gestacionales y perinatales que presentan los embarazos múltiples, además de un coste económico y emocional muy importante, tanto para la familia, como para la sociedad.

La mortalidad fetal es 7 veces superior en los embarazos gemelares y hasta en 20 veces en los triples; el riesgo de parálisis cerebral está aumentado en gemelares entre 3 y 7 veces respecto a las gestaciones únicas, y en más de 10 veces en los embarazos triples (4). Este peor resultado perinatal va a venir determinado principalmente por el elevado riesgo de prematuridad de estas gestaciones, que en el embarazo único está en torno al 8-9%, en los gemelares entre 26-50% y en los triples asciende a cifras entre el 75% y el 100% de los casos.

En cuanto a las complicaciones maternas en las gestaciones múltiples, existe más riesgo de preeclampsia, hemorragia puerperal, edema pulmonar, tromboembolismo venoso, etc., además de un aumento en las tasas de cesáreas y de días de estancia hospitalaria (5).

La consecuencia inevitable de este incremento del riesgo fetal y materno, va a ser un mayor coste sanitario de estas gestaciones (6), a expensas de una prolongación de la estancia hospitalaria (materna y neonatal), del número de ingresos pediátricos, y del coste de los cuidados crónicos en aquellos pacientes que presenten un déficit de mayor o menor grado (7) debido a la prematuridad (rehabilitación, educación especial, soporte médico...).

Por todos estos factores, la prevención del embarazo múltiple se plantea como uno de los objetivos deseables dentro de las técnicas de reproducción asistida en el momento actual.

Existen diferentes estrategias para prevenir el embarazo múltiple en reproducción asistida (8), y en el campo de la fecundación in Vitro (FIV), el modo más eficaz y sencillo es la limitación del número de embriones transferidos. Sin embargo, la transferencia de

un número menor de embriones, se asocia habitualmente a una menor tasa de gestación. Esto supone un conflicto de intereses para los profesionales dedicados a la reproducción asistida y para las parejas, que no valoran tanto los riesgos de un embarazo múltiple, como la posibilidad de conseguir una gestación después de mucho tiempo esperándola.

Es importante, por tanto, establecer aquellos factores que vayan a suponer un mayor riesgo de embarazo múltiple, para disminuir el número de embriones transferidos en esas pacientes, sin un descenso significativo de la tasa de embarazo.

En nuestro estudio, sólo el número de embriones de calidad óptima se relacionó de forma estadísticamente significativa con la probabilidad de presentar una gestación múltiple. Esta asociación concuerda con la mayor parte de los estudios publicados, en los que la calidad embrionaria es el factor más influyente en la obtención de gestación (9).

Al comparar los datos publicados por la Sociedad Europea de Reproducción Humana (ESHRE) (10), la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) (11), y la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) (12), se observa que tanto en América como en España, el número de transferencias de más de dos embriones es muy superior al observado en los países del norte de Europa.

En el registro publicado por la ESHRE de los datos del 2004 (13), en el 19,2% de los casos se transfirió un embrión, en el 55,3% dos embriones, en el 22,1% tres embriones y en el 3,3% cuatro o más embriones.

Comparando con nuestros datos, vemos que la mayor diferencia se encuentra en la transferencia de uno y tres embriones, que en nuestra casuística son del 9,7% y del 32,6% respectivamente. Además, es importante tener en cuenta que los datos aportados por la ESHRE son del año 2004, y probablemente cuando se publiquen los datos del registro del 2007, las diferencias sean aún más evidentes, debido a la tendencia actual a disminuir el número de embriones transferidos.

Desde las diferentes Sociedades Científicas (14, 15) dedicadas al estudio de la Reproducción Asistida, se han emitido recomendaciones (16) respecto al número de embriones a transferir según las características de la paciente (edad, número de ciclo, causa de esterilidad, patología médica o ginecológica asociada) y de los embriones obtenidos (número y calidad).

Muchos grupos han dejado la transferencia de tres embriones limitada a los casos de peor pronóstico: edad avanzada de la paciente (17), a partir del tercer ciclo de FIV o embriones de mala calidad.

La edad se considera un factor de riesgo para presentar un embarazo múltiple, aunque los diferentes estudios no coinciden en el punto de corte a partir del cual el riesgo es mayor. Así, Wrigth et. al, establecen una mayor incidencia en mujeres menores de 35 años (18), mientras que Tur et al (19) lo establecen en menores de 33 años. En nuestro estudio, donde la edad media de las mujeres fue de 34 años, tomamos como punto de corte la edad menor de 33 años para establecer la comparación. No encontramos relación estadísticamente significativa ($p=0,055$), probablemente debido al reducido tamaño muestral, aunque es probable que al ampliar la muestra se encontrara significación estadística.

La legislación sobre Técnicas de Reproducción Asistida de algunos países hace referencia al número de embriones máximo que pueden ser transferidos por ciclo. Así, en nuestro país, según la Ley 45/2003 (20), mediante modificación del artículo 4, se limita la transferencia a un máximo de 3 embriones. En Bélgica (21), se recomienda la transferencia selectiva de un único embrión, financiándose un mayor número de ciclos a través del sistema público para compensar la disminución en la tasa de gestación (22).

En la misma línea, encontramos múltiples trabajos en la literatura a favor de la transferencia selectiva de un único embrión (23) como medida efectiva para mantener las tasas de embarazo, disminuyendo el porcentaje de embarazos múltiples.

Estos grupos defienden la mejor selección embrionaria (24) y la realización de un número superior de ciclos para conseguir resultados comparables a los obtenidos con la transferencia de un número mayor de embriones (25).

En la otra cara de la moneda, encontramos diferentes trabajos que defienden que las gestaciones gemelares puedan ser un resultado deseable de las TRAs. Los argumentos esgrimidos a favor de esta opción son múltiples: el deseo de las parejas que acuden a las clínicas de reproducción asistida, la posibilidad de conseguir dos hijos sometiéndose únicamente a un ciclo de tratamiento, etc... Según el grupo de Gleicher (26), la suma del riesgo absoluto de dos gestaciones únicas sucesivas podría ser comparable al riesgo de una gestación gemelar, por lo que ésta no presentaría mayor número de complicaciones que dos embarazos simples.

Existe sin embargo, acuerdo más o menos general en que los embarazos triples deban ser considerados como un mal resultado de la FIV (27). La reducción embrionaria, frecuentemente planteada en estos casos, supone un incremento en el riesgo de aborto, y a menudo supone una decisión psicológicamente muy

dura para las parejas. Podría plantearse entonces, la exclusión de los embarazos triples como éxito de las TRA en los registros de las clínicas, considerándose sólo como resultados positivos los embarazos únicos o gemelares. En este supuesto, además del interés médico de evitar las complicaciones derivadas de los embarazos triples, el interés comercial de las clínicas privadas, iría encaminado también a disminuir el número de gestaciones triples o de mayor orden.

En el ámbito de la Sanidad Pública es frecuente el debate sobre el número deseable de embriones a transferir, aunque la solución es compleja.

En nuestra comunidad autónoma, Galicia, el Servicio Galego de Saúde (SERGAS) financia en la actualidad hasta tres ciclos de FIV en mujeres menores de 41 años. Sin embargo, debido al reducido número de Unidades de Reproducción Asistida en hospitales públicos, y la gran demanda de las técnicas, la lista de espera para realizar un ciclo de FIV en el Hospital Xeral Cíes de Vigo está en torno a los 18 meses. Esta larga latencia, hace que sea muy difícil asumir la transferencia de un menor número de embriones y ampliar el número de ciclos ofertados para mantener la tasa de gestación y evitar el riesgo de los embarazos múltiples.

Tras un año de espera para realizar el tratamiento, y con altas posibilidades de no tener tiempo para realizar más de dos ciclos dentro del sistema público, un escaso número de ellas aceptarían la transferencia de un único embrión si ello supone disminuir las posibilidades de conseguir un embarazo.

En nuestros datos, se realizó transferencia de un único embrión en sólo 27 casos de los 315 ciclos realizados a lo largo del 2007, lo que supone un 9,7% de las transferencias. Sin embargo, la mayor parte de ellas no fueron transferencias selectivas, porque en muchas ocasiones, sólo había un embrión para la transferencia en día +2.

La tasa de embarazo obtenida al transferir un solo embrión fue claramente inferior a la conseguida con la transferencia de dos embriones (22,2% frente al 37,9%), sin embargo, no hubo diferencias en la tasa de embarazo conseguida con la transferencia de 2 o de 3 embriones (37,8% frente al 34,1%). Los dos casos de embarazo triple observados, fueron debidos a la transferencia de 3 embriones, lo que nos hace plantear la posibilidad de disminuir al máximo el número de transferencias de más de dos embriones.

En cuanto a resultados perinatales, no es posible comparar nuestros datos con los publicados por el Comité de Medicina Materno Fetal de la Sociedad de Obstetras y Ginecólogos de Canadá (28), o los datos aportados por el registro de la ESHRE 2004, ya que

éstos se refieren a nacimientos, no a gestaciones en curso. Sin embargo, en ambas series, la tasa de gestaciones únicas estaría por encima de nuestros datos, con una proporción mayor de gestaciones gemelares en nuestra casuística.

CONCLUSIONES

– El análisis de estos registros internacionales y la revisión de nuestros datos, nos hace plantear la transferencia selectiva de un embrión en aquellas mujeres jóvenes, en el primer ciclo de FIV en el que obtengamos más de 2 embriones óptimos, con la finalidad de presentar un número más reducido de embarazos gemelares en favor de las gestaciones únicas.

– Existe la necesidad de elaborar protocolos de transferencia embrionaria según las condiciones de cada paciente y de cada ciclo para disminuir los embarazos múltiples sin perjuicio de las posibilidades de conseguir gestación.

– Es imprescindible la colaboración desde la administración, incrementando la dotación para criopreservación embrionaria (en cuanto a recursos y espacio físico) y la reducción drástica de la lista de espera, para llevar a cabo las recomendaciones europeas de transferencia, que no son alcanzables en el momento actual debido a la saturación de las unidades de Reproducción Asistida en el sistema público.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Seoud MA, Toner JP, Kruithoff C, Muasher SJ.**: Outcome of twin, triplet and quadruplet in Vitro fertilization pregnancies: the Norfolk experience. *Fertil Steril* 1992; 57: 825-34.
2. **Torelló MJ.**: Criterios Asebir de valoración morfológica de ovocitos, embriones tempranos y blastocistos. *Revista ASEBIR*. Diciembre de 2005; p 8.
3. **Jones HW Jr.**: Multiple births: how are we doing? *Fertil Steril* 2003; 79: 17-21.
4. **The ESHRE Capri Workshop Group.** Multiple gestation pregnancy. *Hum Reprod* 2000; 15: 1856-1864.
5. **Walker MC, Murphy KE, Pan S, Yang Q, Wen SW.**: Adverse maternal outcomes in multifetal pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 2004; 111: 1294-96.
6. **Henderson J, Hockley C, Petrou S et al.**: Economic implications of multiple births: inpatient hospital costs in the first 5 years of life. *Arch Dis Child* 2004; 89: F542-F545.
7. **Verberg MFG, Macklon NS, Heijnen EMEW, Fauser BCJM.**: ART: iatrogenic multiple pregnancy?. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2007 Feb; 21: 129-43.

8. **Dickey RP.:** Strategies to reduce multiple pregnancies due to ovulation stimulation. *Fertil Steril* 2009 Jan; 91(1): 1-17.
9. **Bergh C.:** Single embryo transfer: a mini-review. *Hum Reprod.* 2005 Feb; 20(2): 323-7.
10. **Andersen AN, Goossens V, Ferraretti AP, Bhattacharya S, Felberbaum R, de Mouzon J, Nygren KG.:** European IVF-monitoring (EIM) Consortium; European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Assisted reproductive technology in Europe, 2004: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod.* 2008 Apr; 23(4): 756-71. Epub 2008 Feb 14.
11. **Marqueta J, Cabello Y, Hernández J, Coroleu B, Simón C, Pérez-Milan F, Arnott I, Blanes R, Monzó A, Matorras R.:** Registro FIV-ICSI de la Sociedad Española de Fertilidad 2002. *Revista Iberoamericana de Fertilidad.* 2006; 23: 87-96.
12. **Dickey RP.:** The relative contribution of assisted reproductive technologies and ovulation induction to multiple births in the United States 5 years after the Society for Assisted Reproductive Technology/American Society for Reproductive Medicine recommendation to limit the number of embryos transferred. *Fertil Steril.* 2007 Dec; 88(6): 1554-61. Epub 2007 May 4.
13. **Andersen AN, Goznes V, Ferraretti AP, Bhattacharya S, Felberbaum R, de Mouzon J, Nygren KG.:** European IVF-Monitoring (EIM) Consortium; European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Assisted reproductive technology in Europe, 2004: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2008 April; 23: 756-71.
14. **The Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology and the American Society for Reproductive Medicine.** Guidelines on the number of embryos transferred. *Fertil Steril* 2006; 86(5 Suppl): S51-2.
15. **Sociedad Española de Fertilidad.** Grupo de Interés en Salud Embrionaria y prevención de la Gestación Múltiple en Reproducción Asistida de la SEF. *Boletín de la SEF.* Diciembre de 2006.
16. **Grupo de Interés "Salud Embrionaria"-SEF. Editorial:** Revisión crítica de las comunicaciones sobre embarazo múltiple y transferencia selectiva de embriones presentadas en el XXVII Congreso Nacional de la SEF. *Rev. Iberoam Fert.* 2008; 25: 369-372.
17. **Tur R, Coroleu B, Torelló MJ, Boada M, Veiga A, Barri PN.:** Prevention of multiple pregnancy following IVF in Spain. *Reprod Biomed Online* 2006; 13: 856-63.
18. **Wright VC, Schieve LA, Reynolds MA, Jeng G.:** Assisted reproductive technology surveillance-United States. 2002. *MMWR Surveill Summ* 2005; 54: 1-24.
19. **Tur R, Coroleu B, Torelló MJ, Boada M, Veiga A, Barri PN.:** Prevention of multiple pregnancy following IVF in Spain. *Reprod Biomed Online* 2006; 13: 856-63.
20. **Ley 45/2003,** de 21 de noviembre, por la que se modifica la Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida (BOE núm. 280, de 22-11-2003, pp. 41458-41463).
21. **Ombelet W, De Sutter P, Van der Elst J, Martens G.:** Multiple gestation and infertility treatment: registration, reflection and reaction - The Belgian project. *Hum Reprod Update* 2005; 11: 3-14.
22. **Gordts S, Campo R, Puttemans P, Brosens I, Valkenburg M, Norre J, Renier M, Coeman D, Gordts S.:** Belgian legislation and the effect of elective single embryo transfer on IVF outcome. *Reprod Biomed Online.* 2005 Apr; 10(4): 436-41.
23. **Kjellberg AT, Carlsson P, Bergh C.:** Randomized single versus double embryo transfer: obstetric and paediatric outcome and a cost-effectiveness analysis. *Hum Reprod.* 2006 Jan; 21(1): 210-6. Epub 2005 Sep 19.
24. **Leniaud L, Poncelet C, Pocher R, Martin-Pont B, Cédric-Durnerin I, Hughes JN, Wolf JP, Sifer C.:** Évaluation prospective du transfert sélectif d'un embryón: deux années d'expérience. *Gynecol Obstet Fétil* 2008; 36: 159-165.
25. **Verberg MFG, Eijkemans MJC, Macklon NS, Heijnen EME, Fauser BCJM, Broekmans FJ.:** Predictors of ongoing pregnancy after single-embryo transfer following mild ovarian stimulation for IVF. *Fertil Steril* 2008 May; Volume 89, Issue 5, Pages 1159-1165.
26. **Gleicher N, Barad D.:** Twin pregnancy, contrary to consensus, is a desirable outcome in infertility. *Fertil Steril* 2008. En prensa.
27. **Grunfeld L, Luna M, Mukherjee T, Sandler B, Nagashima Y, Copperman AB.:** Redefining in vitro fertilization success: should triplets be considered failures? *Fertil Steril* Oct 2008; 90,(4): 1064-1068.
28. **SOGC-CFAS Guideline.** Guidelines for the number of embryos to transfer following in Vitro fertilization. *Int J Gynaecol Obstet* 2008 Aug; 102, (2): 203-216.