

## Situación actual de la técnica time lapse en el laboratorio

### Current status of time-lapse systems in the laboratory

Enrique Olaya Vila, Leonor Ortega López, Clara Luna Cañas, Susana Cortés Gallego, Rocío Núñez Calonge, Pedro Caballero Peregrín

Clínica Tambre. Madrid

#### RESUMEN

El uso de los sistemas time lapse está cada vez más extendido en los laboratorios, se ha demostrado su utilidad a la hora de seleccionar mejor los embriones en combinación con la morfología, que hasta hoy era el método utilizado para realizar esta selección. Aunque existen autores que no están muy de acuerdo con esta afirmación, hay una gran mayoría que coincide en que la monitorización continua de los embriones ofrece una información relevante a la hora de elegir los mejores embriones de un cultivo.

Durante los últimos años han surgido estudios avalando el uso de esta técnica, así se ha descrito que se puede conseguir elevar las tasas de embarazo y apostar con más fuerza por la transferencia de embrión único. Todo lo descrito en la literatura habla de resultados con patrones de división y los distintos estudios que validan esos modelos, pero ninguno nombra en profundidad las especificaciones propias de cada sistema, por tanto, el objetivo de este estudio ha sido el intentar resaltar las diferencias existentes entre las plataformas que se pueden encontrar en el mercado e indicar el futuro de cada una de ellas.

( Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2015; 32; 7-14 © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

**Palabras clave:** *time lapse, cinética, parámetros morfocinéticos, Embryoscope™, Test EEVA™, Primo Vision™, Miri® TL.*

Aceptado:15/11/2015

Correspondencia: Enrique Olaya Vila

eolaya@clinicatambre.com

SOLICITUD REIMPRESIÓN: Email: editorialmedica@editorialmedica.com

---

## SUMMARY

The use of time-lapse systems is increasingly widespread in laboratories, it has proved useful in the selection of the best embryos when combined with their morphology, the traditional method used until now. Although there are some authors that disagree with this statement, a large majority agrees that the continuous monitorization of the embryos offers relevant information at the time of choosing the best embryos within a culture.

In recent years there have been studies that support the use of this technique, and have proven that higher pregnancy rates can be achieved with its use, placing more emphasis on single embryo transfer. Everything published in the literature describes the results of with division patterns and the various studies that validate those models, but none provide an in-depth description of their specifications, thus the aim of this study was to highlight the differences between each of the platforms found on the market and indicate the predicted future of each of them.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2015; 32; 7-14 © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

**Key words:** *Time-lapse, kinetics, morphokinetics parameters, Embryoscope™, Test EEVA™, Primo Vision™, Miri® TL.*

## INTRODUCCION

El desarrollo inicial de un embrión resulta básico para tener oportunidad de implantarse en el endometrio del útero materno y dar lugar a una gestación normal. Es obvio, que no es el único factor implicado, ya que en el proceso intervienen multitud de variables (1-4) pero contar con un buen embrión sí que es muy importante.

Actualmente, las clínicas de reproducción no pretenden solo conseguir aumentar las tasas de gestación, sino que también se pretende reducir a un hecho anecdótico los embarazos gemelares. Los avances acontecidos en cuanto a medios de cultivo, incubación de embriones, etc. nos permiten reproducir cada vez mejor las condiciones necesarias para que se desarrolle un embrión, pero como siempre queda por averiguar cuál será el que tenga mayor potencial de implantación. Por tanto, se necesita de herramientas que ayuden a discriminar los embriones con mayores posibilidades de implantar de aquellos que no tienen tantas. Hasta el momento, la embriología se ha servido de la morfología embrionaria para poder catalogar los embriones y determinar su viabilidad (5-12), es decir, mirando el aspecto de los embriones en ciertos intervalos de tiempo desde la inseminación (microinyección espermática o FIV clásica), que es sabido son importantes como (13-16): aparición de pronúcleos, división temprana, estadio celular embrionario en los diferentes días de cultivo....., se han seleccionado cuáles eran los mejores embriones de la cohorte, sin tener en cuenta lo ocurrido durante el tiempo que no se ha estado observando, ya que eso implicaba sacar las placas de cultivo varias veces más del incubador con las variaciones de condiciones del cultivo que conlleva y el efecto deletéreo que tiene en el desarrollo embrionario.

A finales del siglo pasado (17-19) se empezó a entender

que un proceso continuo como es el crecimiento de un embrión no se puede analizar únicamente de forma puntual, y que es importante conocer cómo evoluciona, para que junto con el aspecto morfológico que presentan a determinados intervalos de tiempo, se sepa qué posibilidades tiene de desarrollarse correctamente y poder optimizar con mucho más rigor un cultivo embrionario. Con todo esto, surge la idea de monitorizar los embriones durante el tiempo que están en el laboratorio y tener información detallada de su crecimiento. Para poder conseguir este objetivo, se piensa en desarrollar sistemas que puedan tomar imágenes de los embriones a intervalos cortos de tiempo y almacenarlas, de tal modo que uniendo todas las imágenes se pueda obtener un video del desarrollo embrionario inicial, y así poder analizar bien el progreso de cada uno de ellos.

En muchas publicaciones ha quedado demostrado que existe una fuerte correlación entre los parámetros morfocinéticos y la viabilidad de un embrión (19-25), comparando multitud de factores, pero existen discrepancias entre los autores sobre cuáles son los puntos críticos que mejor predicen su futuro desarrollo (26-31). Es muy complicado sacar conclusiones cuando las condiciones entre estos estudios son tan diferentes, desde la nomenclatura utilizada para definir los tiempos de división (32) hasta cuál es el momento que se define como tiempo cero, lo que sí parece estar claro es que las primeras divisiones embrionarias, hasta estadio de 8 células, son las más determinantes (33), y que en muchas ocasiones la cinética embrionaria ayuda a excluir embriones más que a indicar cuál es el mejor, ya que existen eventos como la división directa (25, 34, 35) o la multinucleación en día 2, que se ha estudiado que tienen un impacto muy negativo en la viabilidad del embrión y observándolo una vez al día puede pasar desapercibida.

---

Los sistemas time lapse ofrecen principalmente dos ventajas: información y estabilidad. La información se recibe en forma de imágenes para analizar qué le sucede a los embriones con el paso de las horas. Esta queda almacenada y se puede revisar en el momento que se quiera, de modo que cuando tenemos las pruebas de embarazos se puede llegar a tener un patrón o algoritmo (36, 37) más o menos ajustado de cuáles con los eventos clave que debe superar un embrión para considerarlo más viable que otro. Hay que tener en cuenta que los modelos existentes en la literatura no son reproducibles exactamente en todos los centros aunque sí son próximos (38-44), ya que variaciones en el porcentaje de oxígeno, medios de cultivo,... pueden modificar ligeramente los tiempos de división, por tanto, lo ideal, sería que cada laboratorio de reproducción desarrollara su propio patrón de división, pero esto tiene un problema y es que para ello, se necesita un número elevado de embriones con implantación conocida (KID, know implantation data), y esto no está al alcance de todas las unidades por número de ciclos. Aunque ahora mismo hay sistemas time lapse que poseen algoritmos predictivos KID, basados en tiempos de división de embriones de centros muy distintos, por lo tanto son un poco más laxos y se pueden usar casi todos los centros con bastante fiabilidad.

En cuanto a la estabilidad que supone usar un time lapse se puede pensar en dos conceptos: uno físico y otro personal. Está sobradamente contrastado en la literatura que las condiciones de los cultivos se ven afectadas por la apertura continua de los incubadores (45-49) para analizar los embriones. Una de las ventajas que tienen estas plataformas, es que no hay que sacarlos para poder observar su morfología, por tanto, las condiciones de cultivo del incubador permanecen siempre estables. Por otro lado, hay que tener en cuenta que uno de los problemas de la clasificación morfológica es su subjetividad (50-54), ya que dentro de un mismo equipo de trabajo existen muchas variaciones intra-observador e inter-observador, que se intentan minimizar con controles de calidad que ayuden a los embriólogos a catalogar de la misma forma. Los time lapse permiten reducir mucho las variaciones comentadas ya que, por ejemplo, es mucho más objetivo el observar un punto de división que la regularidad que puede haber entre células. Además el tener almacenadas las imágenes permite que sea un buen control interno del laboratorio porque se pueden observar las imágenes tantas veces como se quiera y no de forma puntual como ocurre cuando se observa la morfología de forma tradicional (55).

La exposición a la luz de los embriones de forma tan continuada ha sido un tema de controversia, aunque todos los sistemas trabajan en torno a una longitud de onda de 600nm, entre el espectro del rojo y el verde, y se realiza durante un

tiempo muy pequeño. La intensidad de luz a la que se ve expuesto un embrión durante todo el cultivo en un sistema time lapse, es equivalente a la exposición que sufre cuando analizamos una vez la morfología en un microscopio invertido (56). Por tanto, parece evidente que el cultivo embrionario no se ve afectado al iluminarlo repetidas veces para captar las imágenes.

A pesar de que existen, como se ha visto, características comunes en todos los sistemas time lapse, uno de los problemas que surgen es el de la elección del más idóneo para cada centro. El objetivo de este trabajo es la revisión de las características de los principales sistemas que existen en el mercado, desde un punto de vista práctico.

## SISTEMAS TIME LAPSE

Las plataformas de time lapse se componen principalmente de tres elementos: cámara, ordenador y software de análisis. Las principales diferencias entre sistemas radican en la cámara y el software, ya que el ordenador procesa y almacena las imágenes. En el mercado se pueden encontrar plataformas que son un incubador por sí mismos con la cámara integrada, y otras que su cámara se introduce dentro de los incubadores tradicionales. En cuanto al análisis de las imágenes cada plataforma ha optado por desarrollar un software que permite al usuario diversos grados de manejabilidad.

### 1. Embryoscope

El Embryoscope™ es una de las plataformas de time lapse integrada en un incubador tri-gas seco de sobremesa, desarrollado y validado (57, 58) como tal, pero al que se le ha añadido una cámara fija con óptica Hoffmann para captar imágenes a una frecuencia determinada, dependiendo de los planos focales que queramos tener de cada embrión. El incubador posee una única abertura para acceder a las placas de los embriones, de tal forma que cuando la abrimos accedemos a la zona de incubación de todas las placas, siendo muy rápida la velocidad de recuperación de las condiciones (temperatura, CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>) en el momento que cerramos la tapa, como demuestran las gráficas de monitorización de parámetros de que dispone. Esto es debido a que el Embryoscope™ posee unos calentadores individuales para cada pocillo de cada placa, e inyecta nitrógeno u oxígeno dependiendo de las necesidades, porque el mismo hace y purifica, con filtros de carbón y HEPA, la mezcla de gas necesaria en cada momento. Además, las condiciones de incubación también se pueden controlar de forma externa a través de distintos conectores.

En cuanto al software de análisis, “EmbryoViewer®”, es un programa que está en un ordenador separado del incubador

y en el que se pueden hacer todas las anotaciones, incluso de forma remota, que se quieran de los embriones en cualquier momento, pudiéndose comparar entre embriones de un mismo cultivo. Además permite modular el contraste de la luz de las imágenes después de haber sido captadas, y nos indica en un gráfico individualizado de cada embrión donde se ha detectado actividad celular que suele correlacionarse con divisiones celulares.

En este software se pueden diseñar cuantos modelos cinéticos o morfológicos se quiera, para luego aplicarlos a nuestros embriones y así clasificar dentro del cultivo los “mejores” en cuanto al modelo elegido (se pueden clasificar los embriones en base a diferentes modelos a la vez). En este apartado el EmbryoViewer® dispone de un modelo cinético propio que se acaba de implementar, el “KIDScore™ D3 Basic”, esta basado en datos cinéticos de embriones de implantación conocida, y se ha desarrollado para clasificar los embriones en base a su potencial de implantación en día+3, para evitar la transferencia de los que tienen menor capacidad de implantación. Este modelo analiza después de la evaluación de pronúcleos, los intervalos de tiempo entre: desaparición de pronúcleos-T2-T3-T4-T5-T8 (T2= tiempo hasta estadio de dos células, la misma nomenclatura para el resto de tiempos), y da un valor a los embriones entre 0 y 5, siendo 5 el embrión el que se ajusta perfectamente el patrón de división. Además tiene en cuenta las divisiones directas, la multinucleación y el número de células a las 66 horas de la fecundación, pero estos eventos se indican de forma manual durante el desarrollo de los embriones, al igual que los puntos de división. Este algoritmo morfocinético se está evolucionando con eventos hasta día 5 (KIDScore™ D5 Basic) y también se trabaja en la detección automática de las divisiones celulares.

En el sistema Embryoscope™ el usuario tiene que definir una serie de parámetros antes de empezar el análisis, y que serán comunes para los diferentes cultivos que vayamos a incubar, no se pueden individualizar, por ejemplo, el número de planos focales que queramos que haga de cada embrión, será invariable durante todo el cultivo para todos los cultivos, y por tanto, condicionará la frecuencia de imágenes, ya que hasta que no termine con el último embrión no volverá a obtener imágenes del primero.

El EmbryoViewer® de Embryoscope™ se verá implementado en el futuro con el algoritmo de división con eventos hasta día cinco y también se trabaja en la detección automática de las divisiones.

La plataforma Embryoscope™ es la más extendida y lo corroboran la cantidad de artículos escritos utilizando este sistema. En un principio se utilizó para intentar correlacionar los tiempos de las primeras divisiones embrionarias con for-

mación de blastocisto (22, 23, 39, 59), implantación (26), con embarazo clínico (20, 28, 60) e incluso con nacimiento vivo (27), a partir de aquí los estudios se han diversificado mucho intentando establecer relaciones entre patrones de división con diferentes objetivos como puede ser la aneuploidía de los embriones (61) o ver si estos tiempos se ven afectados por diferentes causas como: condiciones de incubación (41, 58, 60, 62), medios de cultivo (63), dosis de FSH o estradiol (43). Sin embargo, hay autores que no han encontrado evidencias del todo fiables entre los parámetros cinéticos y los resultados comentados (64)

## 2. Test EEVA

Este sistema es el único del mercado que está diseñado para trabajar en campo oscuro, ya que automáticamente distingue las diferentes divisiones que sufre el embrión, siendo capaz de aplicar un algoritmo cinético que predice la evolución del embrión hasta día 5 de cultivo. Para ello, se sirve del tiempo que emplea el embrión en pasar de dos a tres células (P2) y de tres a cuatro (P3), ya que existen numerosos estudios que correlacionan el tiempo de estas divisiones con el potencial de desarrollo del embrión (25, 57). Con el resultado de estos tiempos el sistema clasifica los embriones con alta, media o baja probabilidad de llegar a estadio de blastocisto, de ahí vienen las siglas del Test EEVA™ significan “early embryo viability assessment”. Hay que recalcar que este sistema se empezó a desarrollar de forma inversa a lo normal, es decir, la máquina se creó en base a unos estudios previamente diseñados en distintos hospitales recabando información de diferentes tiempos de embriones que llegan a estadio de blastocisto, para luego desarrollar un software capaz de distinguir P2 y P3 y aplicar, de forma automática, el algoritmo. En estos momentos se está validando una evolución de dicho algoritmo, llamada “Algorithm Extend”, que, además de P2 y P3, tiene en cuenta el número de células del embrión en día+3 (a las 68 horas tras la fecundación), la “edad” del ovocito y algunas otras variables post P3, basadas en parámetros subjetivos de análisis de imagen entre el estadio de 4 células y las 42 horas tras ver fecundación que es cuando se genera la predicción. Este nuevo modelo clasifica los embriones del 1 al 5, siendo 1 el mejor resultado obtenido en base a la aplicación del algoritmo.

Esta plataforma posee hasta 4 scopes controlados por un mismo ordenador que captura una imagen cada 5 minutos. Cada cámara (scope) se sitúa en un incubador tradicional. El sistema de análisis simplifica el manejo, ya que al aplicar de modo automático el modelo de predicción el usuario no puede marcar ningún evento que ocurra durante el resto del desarrollo del embrión, lo único que permite hacer es corregir los puntos de división que marca el propio sistema. También indicar que al trabajar en campo oscuro limita la

---

observación de los embriones, desde que vemos la fecundación (día 1) y comienza el análisis, hasta que se obtiene el resultado 42 horas más tarde, o cuando ha obtenido aproximadamente 500 imágenes de cada embrión, ya que durante ese período no podemos sacar la placa del incubador para observar diferentes aspectos morfológicos.

En cuanto a las mejoras que se están desarrollando para este sistema, ya se ha presentado que el Test EEVA™ derivará en breve en la plataforma GUERI, éste es un incubador seco de sobremesa, con opciones de atmósfera húmeda, y 6 cámaras que, además de trabajar en campo oscuro, también lo hará en campo claro, permitiendo al usuario hacer anotaciones necesarias para el funcionamiento del nuevo software predictivo Algorithm Extend®.

El Test EEVA™ es único en su funcionamiento y debido a su algoritmo las referencias bibliográficas tratan, primero de validarlo ya que es un test de viabilidad embrionaria en día 3 observando si los embriones llegan a estadio de blastocisto (21, 23, 24, 31) y ver si luego esto también se puede correlacionar con implantación (25, 29, 31) y aneuploidias (65, 66)

### 3. Primo Vision

El Primo Vision™ es un sistema time lapse que ha sido remodelado totalmente hace muy poco tiempo. Inicialmente, cada ordenador podía controlar hasta un máximo de 8 microscopios. Cada uno de éstos se introduce en un incubador convencional, por tanto, las condiciones de cultivo serán las que hayamos usado en nuestro laboratorio hasta el momento. Estos microscopios captaban una imagen global de la placa de cultivo que posteriormente el ordenador ampliaba, dándonos una determinada calidad de imagen. Con la nueva versión, los microscopios se han evolucionado consiguiendo una mejor imagen y son 6 los microscopios controlados por cada ordenador. Estas nuevas unidades, EVO+, hacen una imagen de cada uno de los pocillos donde están los embriones con lo que se consigue mejorar la imagen de una forma bastante apreciable.

En cuanto a su software de análisis, el original constaba de dos programas diferenciados, uno que se encargaba de captar las imágenes y otro era en el que se podía realizar el análisis propiamente dicho. En la nueva versión los dos están integrados y mejorados en uno solo. Este software nos permite crear diferentes protocolos de captación de imagen que pueden usarse al mismo tiempo en diferentes cultivos, es decir, podemos tener un cultivo que está siendo analizado con una determinada frecuencia de captación, un número de planos focales (hasta un máximo de 11) y una intensidad de luz determinada, mientras que el cultivo que esta en otro microscopio puede tener unos parámetros diferentes. Ade-

más en cuanto al análisis, podemos anotar cuantos eventos queramos señalar, ya sean seleccionados de una amplia lista que incorpora el programa, o crear los nuestros propios. Lo mismo ocurre con los tiempos de división, el sistema trae un modelo sacado de la literatura pero permite que el usuario lo varíe a su gusto. También tiene una función que ordena los embriones en base a los puntos de división que le hayamos marcado de forma manual y que se aproximen a nuestro patrón, clasificando los embriones del que más se acerca a este patrón al que menos lo hace. En cuanto a las anotaciones morfológicas el sistema sólo informa que un embrión tiene un evento señalado pero no lo usa para dar un valor predictivo.

Con lo anteriormente nombrado, Primo Vision™ es la plataforma que ha sufrido una remodelación más fuerte y todas las mejoras comentadas ya están implementadas en las nuevas unidades.

El Primo Vision™ posee referencias bibliográficas referidas al primer caso donde se utiliza este sistema y se consigue embarazo (67) a partir de aquí se publican estudios proponiendo tiempos de división (68) y correlacionando viabilidad embrionaria con la expresión génica de las células del cúmulo (37). Como en otras plataformas existen autores que demuestran que no hay diferencias en condiciones en cultivar los embriones con medio único o secuencial usando esta plataforma (44) o promoviendo el uso de placas con pocillos comunicados (69).

### 4. Miri TL

El Miri® TL es una plataforma de time lapse desarrollada por ESCO Medical y con el formato de un incubador seco de sobremesa. Posee 6 cámaras de incubación independientes entre sí pero que comparten condiciones ambientales, es decir, al abrir una de las cámaras todas se ven afectadas pero de forma mínima, ya que según demuestran los registros de parámetros que posee, las variaciones y tiempos de recuperación son mínimos, pudiendo conectarse alarmas para el aviso en caso de grandes desviaciones. Además también tiene un sensor de PH (tipo BNC) incorporado. En cuanto al mantenimiento de la temperatura, cada cámara posee dos sensores que controlan la base y la tapa pudiendo elegir la temperatura deseada para cada superficie en cada cámara de incubación de forma independiente. En el apartado de los gases, el sistema posee un mezclador de gas y sensores para CO2 y O2, además de filtros HEPA+VOC, con ello podemos modificar las concentraciones a las que queramos trabajar. La validación externa de temperatura, CO2 y O2 se puede hacer a través de distintos puertos.

El sistema posee un software de análisis cinético donde se marcan las anotaciones y divisiones, de forma que al se-

leccionar un embrión aparecen todas sus anotaciones y sus tiempos de división superpuestos a una línea del tiempo que indica los intervalos de tiempo que el usuario quiera utilizar. Esta plataforma incorpora un modelo cinético basado en los diferentes artículos de la literatura. El software no es predictivo y por tanto el usuario debe comparar de forma manual los embriones para seleccionar cuál es el que más se adapta al patrón cinético seleccionado. Para evolucionar este sistema se está desarrollando un software predictivo cinético y morfológico (KID) basado en un estudio multicéntrico en desarrollo, y además se pretende que los puntos de división se marquen de forma automática por la propia plataforma

La cámara de este sistema es móvil y es capaz de captar una imagen cada 5 minutos de todos los embriones independientemente de los planos focales que seleccionemos, también hay que señalar que las condiciones de captación que se definen serán las que se usen para todos los cultivos. Es importante remarcar que este sistema tiene dos tipos de placas para los cultivos: una, el cultivo se hace en gotas de medio independientes, y la otra, presenta unos pocillos individualizados bajo la misma gota de medio.

En cuanto a su repercusión científica no se encuentran artículos en la bibliografía porque es un sistema relativamente nuevo, y por tanto no está implementado en muchos laboratorios.

En la Tabla 1 se refleja a grandes rasgos las principales diferencias entre plataformas:

## CONCLUSIONES

Los sistemas time lapse ofrecen mucha información a los embriólogos acerca del crecimiento de los embriones. Esta información se ha convertido en trascendental dentro de los laboratorios, porque ahora se sabe que no se están observando muchos eventos importantes al analizar los embriones sólo con morfología. Por tanto, seguramente con el tiempo sea una técnica que se implementará en los laboratorios de reproducción asistida. Aunque hay que decir que una revisión de la Cochrane concluye que aún no hay evidencia de mejora en los resultados con estos sistemas (70) en cuanto a implantación o recién nacido vivo y que sigue habiendo mucha controversia entre autores (71-73). Se ha demostrado que la observación continua de los embriones ayuda a de-seleccionar embriones a la hora de transferir, impidiendo que embriones morfológicamente normales sean transferidos, ya que algún evento cinético de mal pronóstico en su evolución (divisiones directas, multinucleación...) indica que no es el mejor embrión del cultivo, y por tanto, no es la mejor elección. Simplemente, esta anotación mejora la capacidad de decisión del embriólogo mejorando de forma indirecta los resultados.

Con la experiencia que se tiene hasta ahora con el uso de estos sistemas, queda demostrado que el time lapse es una técnica fiable en cuanto a los datos que aporta, y segura, ya que los embriones no sufren ningún tipo de agravio al ser monitorizados de forma continua. Se puede implementar fá-

TABLA 1				
Tabla comparativa de las características principales de los time lapse analizados				
	Primo Vision	Test EEVA	Embryoscope	Miri TL
¿Necesita incubador?	SI	SI	NO	NO
Análisis de imagen	Manual	Automático	Manual	Manual
Campo de visión	Claro	Oscuro	Claro	Claro
Software predictivo (KID)	NO	SI	SI	NO
Capacidad para introducir modelos	SI	NO	SI	SI
Visualización de resultados con diferentes modelos	NO	NO	SI	NO
Placas (nº embriones/placa)	9/16	12	12	14
Pacientes	1/microscopio	1/scope	6/sistema	6/sistema
Cultivo individualizado del embrión	NO	NO	SI	Ambos
Planos focales (max)	11	1	17	7
Exportación de datos	SI	SI	SI	SI
Visualización de PN	Dentro	Fuera	Dentro	Dentro

cilmente en cualquier laboratorio con óptimos resultados en un breve espacio de tiempo, ya que su curva de aprendizaje no es muy larga. Pero, la elección de la plataforma queda sujeta al usuario, ya que todas tienen ventajas y desventajas, y se debe elegir aquella que mejor se adapte a la estructura del laboratorio.

## BIBLIOGRAFIA

1. **Fatemi HM, Popovic-Todorovic B.** Implantation in assisted reproduction: a look at endometrial receptivity. *Reprod Biomed Online* 2013; 27: 530–538
2. **van Mourik MS, Macklon NS, Heijnen CJ.** Embryonic implantation: cytokines, adhesion molecules, and immune cells in establishing an implantation environment. *J Leukoc Biol* 2009; 85: 4–19.
3. **Coughlan C, Ledger W, Wang Q, Liu F, Demiroglu A, Gurgan T, Cutting R, Ong K, Sallam H, Li TC.** Recurrent implantation failure: definition and management; *Reprod Biomed Online* 2014; 28: 14–38
4. **Cakmak H, Taylor HS.** Implantation failure: molecular mechanisms and clinical treatment. *Hum Reprod Update*, Vol.17, No.2 pp. 242–253, 2011.
5. **Kruger T F, Menkveld R, Stander F.S.H, et al** Sperm morphologic features as a prognostic factor in *in vitro* fertilization. *Fertil. Steril* 1986; 46: 1118–1123.
6. **Hardarson T, Hanson C, Sjogren A, Lundin K.** Human embryos with unevenly sized blastomeres have lower pregnancy and implantation rates: indications for aneuploidy and multinucleation. *Hum Reprod* 2001; 16: 313–8.
7. **Pickering SJ, Taylor A, Johnson MH, Braude PR.** An analysis of multinucleated blastomere formation in human embryos. *Hum Reprod* 1995; 10: 1912–22.
8. **Racowsky C, Vernon M, Mayer J, Ball GD, Behr B, Pomeroy KO, et al.** Standardization of grading embryo morphology. *J Assist Reprod Genet* 2010; 27: 437–9.
9. **Scott L, Finn A, O'Leary T, McLellan S, Hill J.** Morphologic parameters of early cleavage-stage embryos that correlate with fetal development and delivery: prospective and applied data for increased pregnancy rates. *Hum Reprod* 2007;22:230–40.
10. **Ziebe S, Petersen K, Lindenberg S, Andersen AG, Gabrielsen A, Andersen AN.** Embryo morphology or cleavage stage: how to select the best embryos for transfer after *in-vitro* fertilization. *Hum Reprod* 1997; 12: 1545–9.
11. **ESHRE/ALPHA.** The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod* 2011; 26: 1270–83.
12. **Van Loendersloot L, van Wely M, van der Veen F, Bossuyt P, Repping S.** Selection of embryos for transfer in IVF: ranking embryos based on their implantation potential using morphological scoring. *Reprod Biomed Online* 2014; 29: 222–30.
13. **Edwards RG, Purdy JM, Steptoe PC, Walters DE.** The growth of human preimplantation embryos *in vitro*. *Am J Obstet Gynecol.* 1981 Oct 15; 141(4):408-16.
14. **Nagy ZP, Liu J, Joris H et al.** Time-course of oocyte activation pronucleus formation and cleavage in human oocytes fertilized by intracytoplasmic sperm injection. 1994 *Hum. Reprod.* 9, 1743–1748.
15. **Cummins JM, Breen TM, Harrison KL, Shaw M, Wilson LM, Hennesse JF.** A Formula for Scoring Human Embryo Growth Rates in *in Vitro* Fertilization: Its Value in Predicting Pregnancy and in Comparison with Visual Estimates of Embryo Quality. 1986 *Journal of in Vitro Fertilization and Embryo Transfer* Vol. 3, N° 5
16. **Capmany G, Taylor A, Braude PR, and Bolton VN.** The timing of pronuclear formation, DNA synthesis and cleavage in the human 1-cell embryo. *Mol Hum Reprod* 1996; 2: 299-306.
17. **Lewis WH, Gregory PW.** Cinematographs of living developing rabbit-eggs. *Science* 1929; 69: 226 – 229.
18. **Grisart B, Massip A, Dessy F.** Cinematographic analysis of bovine embryo development in serum-free oviduct-conditioned medium. *Journal of Reproduction and Fertility* 1994; 101: 257-264.
19. **Payne D, Flaherty SP, Barry MF, Matthews CD.** Preliminary observations on polar body extrusion and pronuclear formation in human oocytes using time-lapse video cinematography. *Hum. Reprod.* 1997; 12: 532-541.
20. **Lemen JG, Agerholm I, Ziebe S,** Kinetic markers of human embryo quality using time-lapse recordings IVF/ICSI-fertilized oocytes. *Rprod. Biomed Online* 2008; 17: 385-391.
21. **Wong CC, Loewcke KE, Bossert NL, Behr B, de Jonge CJ, Baer TM, et al.** Non-invasive imaging of human embryos before embryonic genome activation predicts development to the blastocyst stage. *Nat Biotechnol* 2010; 28: 1115-1121.
22. **Cruz M, Garrido N, Herrero J, Perez-Cano I, Munoz M, Meseguer M.** Timing of cell division in human cleavage-stage embryos is linked with blastocyst formation and quality. *Reprod Biomed Online* 2012; 25: 371-381.
23. **Dal Canto M, Coticchio G, Mignini Renzini M, de Ponti E, Novara PV, Brambillasca F, et al.** Cleavage kinetics analysis of human embryos predicts development to blastocyst and implantation. *Reprod Biomed Online* 2012; 25: 474-480.
24. **Conaghan J, Chen AA, Willman SP, Ivani K, Chenette PE, Boostanfar R, et al.** Improving embryo selection using a computer-automated time-lapse image analysis test plus day 3 morphology: results from prospective multicenter trial. *Fertil Steril* 2013; 100: 412-419e.5.
25. **Kirkegaard K, Kesmodel US, Hindkjaer JJ, Ingerslev HJ.** Time-lapse parameters as predictors of blastocyst development and pregnancy outcome in embryos from good prognosis patients: a prospective cohort study. *Hum Reprod* 2013; 28: 2643-2651.
26. **Meseguer M, Herrero J, Tejera A, Hilligsoe KM, Ramsing NB, Remohí J.** The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Human Reprod* 2011; 26: 2658-2671.
27. **Azzarello A, Hoest T, Mikkelsen AL.** The impact of pronuclei morphology and dynamicity on live birth outcome after time-lapse culture. *Human Reprod* 2012; 27: 2649-2657.
28. **Rubio I, Galan A, Larreategui Z, Ayerdi F, Bellver J, Herrero J, et al.** Clinical validation of embryo culture and selection by morphokinetic analysis: a randomized, controlled trial of the Embryoscope. *Fertil Steril* 2012; 98: 1458-1463.
29. **VerMilyea MD, Tan L, Anthony JT, Conaghan J, Ivani K, Gvakharia M, et al.** Computer-automated time-lapse analysis results correlate with embryo implantation and clinical pregnancy: a blinded, multi-centre study. *Reprod Biomed Online* 2014; 29: 729-736.
30. **Aguilar J, Motato Y, Escriba MJ, Ojeda M, Munoz E, Meseguer M.** The human first cell cycle: impact on implantation. *Reprod Biomed Online* 2014; 28: 475-484.
31. **Chamayou S, Patrizio P, Storaci G, Tomaselli V, Alecci C, Ragolia C, Crescenzo C, Gugliemino A.** The use of morphokinetic parameters to select II embryos with full capacity to implant. *J Assist Reprod Genet* 2013; 30: 703-710.
32. **Ciray HN, Campbell A, Agerholm IE, Aguilar J, Chamayou S, Esbert M, and Sayed S.** Proposed guidelines on the nomenclature and annotation of dynamic human embryo monitoring by time-lapse user group. 2014; 29: 2650-2660.
33. **Kaser DJ and Racowsky C.** Clinical outcomes following selection of human preimplantation embryos with time-lapse monitoring: a systematic review. *Hum Reprod Update.* 2014; 0: 1-15.
34. **Kirkegaard K, Ahlstrom A, Ingerslev HJ, Hardarson T.** Choosing the best embryo by time lapse versus standard morphology. *Fertil Steril* 2015; 103: 323–32.
35. **Conaghan J.** Time-lapse imaging of preimplantation embryos. *Semin Reprod Med* 2014; 32: 134–40.
36. **Basile N, Vime P, Florensa M, Aparicio Ruiz B, García Velasco JA, Remohí J, Meseguer M.** The use morphokinetics as a predictor

- of implantation: a multicentric study to define and validate an algorithm for embryo selection. *Hum Reprod*. 2015 Feb; 30(2): 276-83.
37. **Hammond ER, Stewart B, Peek JC, Shelling AN, and Cree LM.** Assessing embryo quality by combining non-invasive markers: early time-lapse parameters reflect gene expression in associated cumulus cells. *Hum Reprod* 2015; 30: 1850-1860.
  38. **Ciray HN, Aksoy T, Goktas C, Ozturk B, Bahceci M.** Time-lapse evaluation of human embryo development in single versus sequential culture media—a sibling oocyte study. *J Assist Reprod Genet* 2012; 29: 891–900.
  39. **Cruz M, Garrido N, Gadea B, Munoz M, Perez-Cano I, Meseguer M.** Oocyte insemination techniques are related to alterations of embryo development timing in an oocyte donation model. *Reprod Biomed Online* 2013; 27: 367–75.
  40. **Freour T, Dessolle L, Lammers J, Lattes S, Barriere P.** Comparison of embryo morphokinetics after in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection in smoking and nonsmoking women. *Fertil Steril* 2013; 99: 1944–50.
  41. **Kirkegaard K, Hindkjaer JJ, Ingerslev HJ.** Effect of oxygen concentration on human embryo development evaluated by time-lapse monitoring. *Fertil Steril* 2013; 99: 738–44.e4.
  42. **Kirkegaard K, Hindkjaer JJ, Ingerslev HJ.** Hatching of in vitro fertilized human embryos is influenced by fertilization method. *Fertil Steril* 2013; 100: 1277–82.
  43. **Munoz M, Cruz M, Humaidan P, Garrido N, Perez-Cano I, Meseguer M.** Dose of recombinant FSH and oestradiol concentration on day of HCG affect embryo development kinetics. *Reprod Biomed Online* 2012; 25: 382–9.
  44. **Hardarson T, Bungum M, Conaghan J, Meintjes M, Chantilis SJ, Molnar L, Gunnarsson K, Wikland M.** Noninferiority, randomized, controlled trial comparing embryo development using media developed for sequential or undisturbed culture in a time-lapse setup. *Fertil Steril*, 2015; 103:1-8.e4
  45. **Fujiwara, M., Takahashi, K., Izuno, M., et al., 2007.** Effect of microenvironment maintenance on embryo culture after in-vitro fertilization: comparison of top-load mini-incubator and conventional front-load incubator. *J. Assist. Reprod. Genet.* 24, 5–9
  46. **Loneragan, P., Rizos, D., Gutiérrez-Adán, A., et al., 2003.** Effect of culture environment on embryo quality and gene expression—experience from animal studies. *Reprod. Biomed. Online* 7 (6), 657–663.
  47. **Nygren KG, Sullivan E, Zegers-Hochschild F, Mansour R, Ishihara O, Adamson GD, et al.** International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) world report: assisted reproductive technology 2003. *Fertil Steril* 2011; 95: 2209–22. 2222.e1–17.
  48. **de Mouzon J, Goossens V, Bhattacharya S, Castilla JA, Ferraretti AP, Korsak V, et al.** Assisted reproductive technology in Europe, 2006: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2010; 25: 1851–62.
  49. **Zhang JQ1, Li XL, Peng Y, Guo X, Heng BC, Tong GQ.** Reduction in exposure of human embryos outside the incubator enhances embryo quality and blastulation rate. *Reprod Biomed Online*. 2010 Apr; 20(4): 510-5
  50. **Paternot G, Wetzels AM, Thonon F, Vansteenbrugge A, Willemen D, Devroe J, et al.** Intra- and interobserver analysis in the morphological assessment of early stage embryos during an IVF procedure: a multicentre study. *Reprod Biol Endocrinol* 2011; 9: 127.
  51. **Arce JC, Ziebe S, Lundin K, Janssens R, Helmgard L, Sorensen P.** Interobserver agreement and intraobserver reproducibility of embryo quality assessments. *Hum Reprod* 2006; 21: 2141–8.
  52. **Baxter Bendus AE, Mayer JF, Shipley SK, Catherino WH.** Interobserver and intraobserver variation in day 3 embryo grading. *Fertil Steril* 2006; 86: 1608 – 1615.
  53. **Matson PL.** Internal quality control and external quality assurance in the IVF laboratory. *Hum Reprod* 1998; 13: 156 – 165.
  54. **Ruiz de Assin R, Clavero A, Gonzalvo MC, Ramirez JP, Zamora S, Fernandez A, Martinez L, Castilla JA.** Comparison of methods to determine the assigned value in an external quality control programme for embryo evaluation. *Reprod Biomed Online* 2009; 19: 824 – 829.
  55. **Sundvall L, Ingerslev HJ, Knudsen UB, Kirkegaard K.** Inter- and intra-observer variability of time-lapse annotations. *Hum Reprod* 2013; 28: 3215-3221.
  56. **Li R, Pedersen KS, Liu Y, Pedersen HS, Lægdsmand M, Rickelt LF, Kühl M, Callesen H.** Effect of red light on the development and quality of mammalian embryos. *J Assist Reprod Genet*. 2014 Jul; 31(7): 795–801
  57. **Cruz M, Gadea B, Garrido N, Pedersen KS, Martínez M, Pérez-Cano I, Muñoz M, Meseguer M.** Embryo quality, blastocyst and ongoing pregnancy rates in oocyte donation patients whose embryos were monitored by time-lapse imaging. *J Assist Reprod Genet*. 2011 Jul; 28(7): 569-73.
  58. **Kirkegaard K, Hindkjaer JJ, Grøndahl ML, Kesmodel US, Ingerslev HJ.** A randomized clinical trial comparing embryo culture in a conventional incubator with a time-lapse incubator. *J Assist Reprod Genet*. 2012 Jun; 29(6): 565-72.
  59. **Hashimoto S, Kato N, Saeki K, Morimoto Y.** Selection of high-potential embryos by culture in poly (dimethylsiloxane) microwells and time-lapse imaging. *Fertil Steril* 2012; 97: 332 –337
  60. **Meseguer M, Rubio I, Cruz M, Basile N, Marcos J, Requena A.** Embryo incubation and selection in a time-lapse monitoring system improves pregnancy outcome compared with a standard incubator: a retrospective cohort study. *Fertil Steril* 2012b; 6: 1481–1489.
  61. **Basile N, Nogales Mdel C, Bronet F, Florensa M, Riqueiros M, Rodrigo L, et al.** Increasing the probability of selecting chromosomally normal embryos by time-lapse morphokinetics analysis. *Fertil Steril* 2014; 101: 699–704.
  62. **Park H, Bergh C, Selleskog U, Thurin-Kjellberg A, Lundin K.** No benefit of culturing embryos in a closed system compared with a conventional incubator in terms of number of good quality embryos: results from an RCT. *Hum Reprod* 2015, 30: 268–275. 2
  63. **Basile N, Morbeck D, García-Velasco J, Bronet F, Meseguer M.** Type of culture media does not affect embryo kinetics: a time-lapse analysis of sibling oocytes. *Hum Reprod*. 2013 Mar; 28(3): 634-41.
  64. **Stecher A, Vanderzwalmen P, Zintz M, Wirleitner B, Schuff M, Spitzer D, Zech NH.** Transfer of blastocysts with deviant morphological and morphokinetic parameters at early stages of in-vitrodevelopment: a case series. *Reprod Biomed Online*. 2014 Apr; 28(4): 424-35.
  65. **Campbell A, Fishel S, Bowman N, Duffy S, Sedler M, Thornton S.** Retrospective analysis of outcomes after IVF using an aneuploidy risk model derived from time-lapse imaging without PGS. *Reprod Biomed Online* 2013a; 27: 140–146.
  66. **Campbell A, Fishel S, Bowman N, Duffy S, Sedler M, Hickman CFL.** Modeling a risk classification of aneuploidy in human embryos using non-invasive morphokinetics. *Reprod Biomed Online* 2013b; 26 477–485.
  67. **Pribenszky C, Matyas S, Kovacs P, Losonczy E, Zadori J, Vajta G.** Pregnancy achieved by transfer of a single blastocyst selected by time-lapse monitoring. *Reprod Biomed Online* 2010; 21: 533–6.
  68. **Hlinka D, Kalatova B, Uhrinova I, Dolinkska S, Rutarova J, Rezacova J, Lazarovska S, Dudas M.** Time-lapse cleavage rating predicts human embryo viability. *Physiol Res* 2012; 61: 513 –525
  69. **Vajta G, Korosi T, Du Y, Nakata K, Leda S, Kuwayama M, et al.** The Well-of-the-Well system: an efficient approach to improve embryo development. *Reprod Biomed Online* 2008;17:73–81.
  70. **Armstrong S, Arroll N, Cree LM, Jordan V, Farquhar C.** Time-lapse systems for embryo incubation and assessment in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Feb 27; 2:CD011320.
  71. **Armstrong S, Vail A, Mastenbroek S, Jordan V, Farquhar C.** Time-lapse in the IVF-lab: how should we assess potential benefit? *Human Reproduction* 2015, 30: 3 –8
  72. **Basile N, Barriere P, Marcos Meseguer M, Freour T.** Letter to the editor. *Hum Reprod* 2015, 30, 5:1276 –1278.
  73. **Armstrong S, Vail A, Mastenbroek S, Jordan V, Farquhar C.** Letter to the editor. *Hum Reprod* 2015, 30, 6: 1277.