



①9



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

①1 Número de publicación: **2 323 666**

⑤1 Int. Cl.:
A61B 17/435 (2006.01)
A61B 19/02 (2006.01)

①2

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑨6 Número de solicitud europea: **00931159 .8**
⑨6 Fecha de presentación : **18.04.2000**
⑨7 Número de publicación de la solicitud: **1274353**
⑨7 Fecha de publicación de la solicitud: **15.01.2003**

⑤4 Título: **Un conjunto de recipiente para la fertilización y el cultivo.**

④5 Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.07.2009

④5 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.07.2009

⑦3 Titular/es: **Bio X Cell, Inc.**
100 Cummings Center, Suite 421e
Beverly, Massachusetts 01890, US

⑦2 Inventor/es: **Ranoux, Claude y**
Gleason, Francis, G., Jr.

⑦4 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Un conjunto de recipiente para la fertilización y el cultivo.

5 Esta invención se refiere a un recipiente para la fertilización y el cultivo de ovocitos de mamíferos y, en particular, humanos, particularmente para uso intravaginal.

10 Las técnicas de fertilización *in vitro* (IVF -“*in vitro* fertilization”) convencionales son notablemente complejas y han venido tendiendo a serlo cada vez más desde que se añadió la inyección intracitoplásmica de esperma (ICSI -“*intracytoplasmic sperm injection*”) en el abanico de tecnologías de reproducción asistida.

15 Típicamente, la IVF implica el cultivo anaeróbico y esterilizado de embriones en platos de Petri a 37°C, en una atmósfera enriquecida al 5% de CO₂. Ello requiere un equipo embarazoso y caro, tal como una incubadora en CO₂ controlada a 37°C veinticuatro horas al día durante los dos o tres días necesarios para la fertilización y el cultivo.

20 El IVF también implica el uso de muchas piezas de equipo desechable y medios de cultivo para las numerosas etapas que se llevan a cabo a lo largo de las 48 ó 72 horas de tratamiento de gametos y embriones en la incubadora enriquecida con CO₂. Muchas incluyen manipulaciones delicadas que requieren unas aptitudes y destreza considerables por parte del biólogo de laboratorio. Una de éstas consiste en desnudar el embrión o cúmulo de células antes de su implantación.

25 Uno de los inventores, Claude Ranoux, desarrolló un nuevo procedimiento conocido como cultivo intravaginal (IVC), que comprende la maduración de gametos, su fertilización y el desarrollo del embrión en un recipiente herméticamente cerrado u obturado y lleno de un medio de cultivo adecuado, que se coloca en la cavidad vaginal, la cual sirve como incubadora. Este procedimiento, así como el recipiente de fertilización y cultivo, se describen en las Patentes norteamericanas N° 4.902.286, expedida el 20 de febrero de 1990, y N° 5.135.865, expedida el 4 de agosto de 1992.

30 Todos los procedimientos de IVC para propósitos experimentales y clínicos se han venido llevado a cabo, hasta la fecha, utilizando un criotubo o tubo criogénico de polipropileno, designado por el número de referencia 100, según se muestra en la Figura 2, fabricado por la Nunc, de Kamptrup, Dinamarca, y cerrado herméticamente y sellado dentro de una envoltura *cryoflex* de polietileno 101, también fabricada por la Nunc. Los tubos criogénicos y las envolturas *cryoflex* asociadas se diseñaron para la conservación criogénica de especímenes de tejido. El tubo criogénico y la envoltura *cryoflex* de Nunc presentan considerables desventajas cuando se utilizan para llevar a cabo el IVC.

35 Entre estas desventajas se encuentra el hecho de que el tubo tiene que llenarse prácticamente hasta el borde libre o carel del cuello del tubo (roscado externamente) con el fin de evitar la formación de burbujas de aire que, de otro modo, obstaculizarían la fertilización. También, en la práctica, el esperma debe introducirse en el tubo antes que los ovocitos, ya que la turbulencia que se produce durante la inyección del esperma en el seno del medio de cultivo podría, en caso contrario, arrastrar uno o más ovocitos hasta la superficie del medio y provocar que éstos se derramasen o vertiesen al exterior por encima del carel. Los cúmulos de ovocitos tienen algunas burbujas de aire ocluidas que pueden hacerlos flotar hasta la superficie del medio de cultivo, lo que hace sencillamente que se pierdan cuando se enrosca la tapa 103 en el cuello del tubo.

45 De la misma manera, cuando la tapa roscada se enrosca en el cuello, existe el riesgo de que el medio de cultivo fluya hasta desbordarse, arrastrando uno o más ovocitos al exterior del tubo.

50 La envoltura *cryoflex* 101 debe obturarse formando un cierre hermético en torno al tubo, a fin de proteger el tubo de la contaminación durante su radicación en la vagina. En la práctica, esto requiere el calentamiento de una herramienta de rebordeo o alicates, y el ablandamiento y rebordeo de cada uno de los extremos del tubo para formar soldaduras dentadas o estriadas u obturaciones 104. Los extremos libres de las soldaduras deben ser entonces, por su parte, recortados y/o conformados con un cortador con el fin de eliminar las esquinas, pero esto no evita todas las molestias e incluso lesiones en el curso del alojamiento en el fórnix posterior, ya que los bordes transversales libres de las juntas de obturación siguen siendo tanto rugosos como afilados. Asimismo, no puede utilizarse, por razón de incompatibilidad anatómica, un tubo de un único tamaño para todas las personas.

55 Muchas de estas desventajas del tubo criogénico de Nunc son obviadas por el recipiente que se describe en las Patentes norteamericanas de Ranoux N° 4.902.286 y N° 5.135.865. El cuerpo del recipiente comprende una membrana o válvula que impide la pérdida de ovocitos durante su introducción o la introducción de esperma. Es más, la membrana o válvula limita el área de contacto entre el medio de cultivo y el entorno ambiental, y tiende a mantener el pH del medio de cultivo estable. Estas Patentes también describen un anillo tratado con caucho y flexible a partir del cual se añade una bolsa de caucho para dar acomodo al recipiente. El diámetro del anillo ha de ser determinado individualmente, como un diafragma, en función del tamaño del cérvix o cuello del útero. El tubo está destinado a mantenerse en el fórnix posterior de la vagina, pero puede caerse y quedar entonces sujeto colgando del anillo y sin contacto con las paredes vaginales.

El desarrollo del IVC se ha visto entorpecido por la carencia de un recipiente cuyo uso sea simple y seguro, y que no implique el alto nivel de aptitudes de laboratorio que se ha venido requiriendo hasta el presente, y pueda impedir la

transferencia de los embriones desde el recipiente a un plato de Petri para su inspección con el microscopio, antes de su transferencia final a la cavidad uterina.

Para asegurarse de ello, la Patente norteamericana de Ranoux N° 5.084.004 describe un recipiente de fertilización intrauterino con un área de salida para acceder a la cavidad uterina y transferir uno o más ovocitos fertilizados desde el recipiente hasta la cavidad. Tal dispositivo resulta inadecuado para uso dentro de la vagina debido a la ausencia de condiciones esterilizadas, lo que contamina los embriones. Por lo demás, las realizaciones preferidas implican el uso de un dispositivo de soporte o sujeción especial que se introduce en el cuello del útero, y de un segundo tramo o sección, situada en la vagina externa y que contacta a tope con el cuello del útero. Un pistón es susceptible de accionarse desde el interior de la vagina para expeler el contenido del recipiente al interior de la cavidad uterina. Este dispositivo es complicado por causa de los medios de eyección de embriones incorporados, y no admite con facilidad el examen microscópico de los embriones antes de su eyección. Es más, no es posible situar de forma simple y precisa los embriones en el recipiente para su examen. Se conoce también por el documento US 3.814.522 un tubo de extremos abiertos para el análisis de la orina, que tiene una cámara terminal en cuyo interior se fuerza la sedimentación por centrifugación. Tras ello, el líquido supernatátil se vierte al exterior y el tubo se coloca en un portamuestras de microscopio para examinar el sedimento ocluido dentro de la cámara terminal, antes de desechar el tubo con el sedimento contenido en su interior.

Un propósito de la presente invención es proporcionar un recipiente de fertilización y cultivo en el que puedan localizarse y/o inspeccionarse fácilmente los embriones *in situ*, y recuperarse por transferencia directa desde el recipiente, por ejemplo, a la cavidad uterina, por medio de un catéter o pipeta, o un elemento similar.

De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona un recipiente de fertilización y cultivo que comprende un cuerpo de recipiente que tiene un orificio y medios de cierre susceptibles de volverse a obturar, destinados a abrir y cerrar selectivamente el orificio del cuerpo de recipiente. El cuerpo de recipiente tiene una cámara principal para recibir el medio de cultivo, ovocitos y esperma, y una cámara microscópica o micro-cámara, destinada a recoger uno o más embriones para su recuperación. Preferiblemente, el cuerpo de recipiente tiene medios para limitar o restringir el acceso de un catéter de recuperación o elemento similar, con respeto a la micro-cámara.

De preferencia, la micro-cámara tiene una o más paredes laterales paralelas y transparentes, de calidad óptica adecuada para la inspección microscópica de uno o más embriones contenidos en la micro-cámara.

Preferiblemente, existe un volumen interno de la cámara principal que está comprendido entre 1 ml y 5 ml, y la micro-cámara tiene un volumen interno de menos que aproximadamente 100 μ l y, preferiblemente, comprendido en el intervalo entre aproximadamente 30 μ l y 70 μ l, y está configurada para recoger uno o más embriones para su inspección microscópica y/o recuperación.

Preferentemente, existe una cápsula para envolver el recipiente, de tal modo que la cápsula está hecha de un material elástico blando que tiene una superficie externa lisa y continua, y medios de almohadillado deformables, dispuestos próximos a un extremo de la cápsula con el fin de adaptar las dimensiones longitudinales del conjunto a una dimensión cordal del fórnix posterior cuando es recibido en su interior el recipiente de fertilización y cultivo intravaginal.

De preferencia, se proporciona una cápsula tubular en dos partes para envolver el recipiente, de tal modo que una de las partes tiene un tapón u obturador central que se extiende hacia dentro y configurado para ser recibido dentro del paso y obturarlo en el cierre.

Estos y otros propósitos y ventajas de la presente invención se pondrán de manifiesto en la descripción de realizaciones dada a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos que se acompañan, en los cuales:

la Figura 1 es una vista general en despiece y en perspectiva del conjunto de recipiente de fertilización y cultivo intravaginal, o IVC ("intravaginal culture"), que incorpora diversos aspectos de la invención;

la Figura 2 es una vista en alzado lateral de un criotubo o tubo criogénico de Nunc de la técnica anterior, y de una envoltura *cryoflex* utilizada hasta el presente para el IVC;

la Figura 3A es una vista en corte longitudinal de la tapa del recipiente y de un miembro de válvula del presente recipiente de IVC, axialmente alineados pero separados uno del otro;

la Figura 3B es una vista en corte longitudinal del presente cuerpo de recipiente de IVC, tomado por sí solo;

la Figura 4A es una vista en corte longitudinal del presente recipiente de IVC, con el miembro de válvula en su posición abierta;

la Figura 4B es una vista en corte longitudinal del presente recipiente de IVC y de una pipeta para introducir medio de cultivo, ovocitos y/o esperma en la cámara principal;

la Figura 5A es una vista en corte longitudinal de una parte posterior o trasera de la cápsula;

ES 2 323 666 T3

la Figura 5B es una vista en corte longitudinal de una parte anterior o delantera de la cápsula;

la Figura 6 es una vista en corte longitudinal del conjunto de recipiente de IVC, tomada a 90° con respecto a la de la Figura 4A, con el miembro de válvula en su extremo cerrado, de tal modo que la válvula se encuentra recibida, a medio camino, sobre el recipiente;

la Figura 7 es una vista en corte longitudinal de todo el conjunto de recipiente de IVC, con el miembro de válvula en su posición cerrada y la cápsula envolviendo completamente el recipiente;

la Figura 8A es una vista desde el extremo trasero del miembro de válvula, en su posición abierta;

la Figura 8B es una vista similar a la Figura 8A, que muestra el miembro de válvula en su posición cerrada;

la Figura 9 es una vista en corte longitudinal y en detalle ampliado del extremo delantero del cuerpo de recipiente con la micro-cámara;

la Figura 10 es una vista en corte transversal, tomado a lo largo de la línea X-X de la Figura 9;

la Figura 11 es una vista similar a la de la Figura 9, para una realización alternativa de la micro-cámara;

la Figura 12 es una vista similar a la de la Figura 10, tomada a lo largo de la línea XII-XII de la Figura 11;

la Figura 13 es una vista en corte longitudinal del recipiente, con su miembro de válvula en la posición abierta, y un catéter que penetra en un canal que se comunica con la micro-cámara para la recuperación de embriones;

la Figura 14 es un corte longitudinal parcial del dispositivo de válvula del recipiente de IVC de acuerdo con una realización alternativa, en la posición abierta de la válvula, y la Figura 15 es una vista correspondiente a la Figura 14 en la posición cerrada de la válvula.

De acuerdo con una realización preferida de la invención, el recipiente de IVC 1 comprende un cuerpo de recipiente 10, medios de cierre susceptibles de volverse a obturar 2, que incluyen un miembro de válvula 30 y un miembro 50 de accionamiento de válvula. Las partes del recipiente se muestran mejor en las Figuras 1, 3A y 3B, y el recipiente ensamblado, en la Figura 4, entre otras. El cuerpo de recipiente y el miembro de accionamiento están moldeados, preferiblemente, de polietileno, polipropileno u otros materiales plásticos relativamente rígidos y biocompatibles. Este material plástico debe ser permeable al CO₂ con el fin de permitir que el gas penetre o traspase la pared del recipiente desde la vagina al seno del medio de cultivo contenido. (Véase la divulgación de Misao Fukuda *et al.*: “*Unexpected low oxygen tension of intravaginal culture*” (“Tensión de oxígeno baja inesperada del cultivo intravaginal”), Human Reproduction (Reproducción humana), Vol. Nº 6, págs. 1.285 - 1.295, 1996).

El cuerpo del recipiente tiene una pared lateral generalmente cilíndrica 11 que define una cámara principal 12, y una cámara microscópica o micro-cámara 13, en comunicación con la cámara principal. Como se ilustra y prefiere, la micro-cámara está dispuesta en el extremo delantero cerrado del cuerpo de recipiente, más allá del extremo delantero de la cámara principal, y en posición distante del extremo trasero abierto 17A del cuerpo 10 de recipiente. (Los términos “trasero” y “delantero”, y similares, se utilizan en la descripción y en las reivindicaciones tan sólo por razones de conveniencia de la descripción, y en ninguno de los casos son determinantes de la orientación del recipiente en ningún momento concreto del presente procedimiento). Alternativamente, aunque no se ilustra, la micro-cámara puede estar dispuesta a lo largo de una generatriz o línea longitudinal de la cámara principal, de tal manera que sobresale lateralmente desde la pared lateral. En aras de una recuperación facilitada de los embriones con un catéter y un matraz, se preferirá generalmente, entre otras, la disposición ilustrada de la micro-cámara.

La micro-cámara 13, que se comprende mejor con referencia a las Figuras 9 y 10, comprende paredes laterales planas, paralelas y opuestas, 24A y 24B, al menos una de las cuales, y, preferiblemente, ambas de las cuales, son de calidad óptica con el fin de permitir la inspección microscópica de los embriones a su través. La distancia entre las superficies internas de las paredes laterales paralelas 24A, 24B de la micro-cámara se ha seleccionado de manera que sea mayor que el diámetro de los embriones, de manera que se evita que los embriones queden atascados dentro de la micro-cámara, pero, de preferencia, lo suficiente cercana para retardar el desplazamiento de los embriones por el medio de cultivo. Una distancia entre las paredes laterales de la micro-cámara es menor que aproximadamente 1 mm y, de preferencia, de aproximadamente 0,5 mm o menos para los embriones humanos así como para los de vaca. Las paredes laterales de la micro-cámara están unidas por una pared transversal parcialmente cilíndrica 24C que se extiende longitudinalmente, hacia uno de los lados de la micro-cámara. La micro-cámara 13 también incluye un paso o canal 20 en forma de embudo, que se estrecha o converge gradualmente hacia delante y descentrado axialmente, el cual se extiende desde una lumbrera 12A de comunicación con la cámara principal 12, hacia la pared 13A de extremo frontal de la micro-cámara. El resto de la micro-cámara define una parte generalmente rectangular y plana 24, en combinación con el canal 20 a lo largo de una lumbrera longitudinal curvada 25 situada entre medias. La lumbrera longitudinal curvada 25 tiene una porción superior en embudo anchamente abocardada que se extiende prácticamente hasta la pared transversal 24C de la micro-cámara, opuesta al canal. El extremo delantero del canal 20 más alejado de la lumbrera 12A de comunicación, está separado del extremo terminal de la micro-cámara por una distancia de al menos 0,5 mm. Esto dejará espacio para al menos cinco embriones humanos, con un diámetro promedio de 0,1 mm

ES 2 323 666 T3

en este estadio de desarrollo, y aproximadamente para cuatro embriones de vaca, con un diámetro promedio de 0,12 mm en el mismo estadio de desarrollo.

5 El extremo delantero del canal 20 está definido, en parte, por una repisa parcialmente circular (de aproximadamente 270°) 13B en la pared transversal, y por paredes laterales de la micro-cámara (véase la Figura 10). La parte delantera del canal 20 estará configurada, preferiblemente, para dar acomodo a la punta de un catéter de recuperación 120, según se ilustra en la Figura 13, tal como un catéter de Frydman o de Wallace, ampliamente utilizados para la transferencia de embriones en IFC o IVC, o algún otro catéter para la recuperación y transferencia de embriones, o elemento similar.

10 No hace falta decir que las superficies interiores de la cámara principal 12 y de la micro-cámara 13 son lisas y redondeadas en toda su extensión, y están desprovistas de cualquier rugosidad superficial o bordes afilados que sean capaces de dañar los gametos o los embriones.

15 En el tramo o sección trasera 19 de la cámara principal 12, en posición alejada de la micro-cámara 13, se encuentra situada una primera porción cilíndrica 16 de sección transversal oval, configurada para cooperar con una porción de brida oval correspondiente 32 del miembro de válvula 30, tal y como se describe más adelante. Una segunda sección cilíndrica 17, de un diámetro mayor que el eje mayor de la porción oval, se extiende desde el extremo trasero abierto 17A hasta la primera sección cilíndrica 16. A medio camino a lo largo de la porción de la pared lateral que define la sección cilíndrica 17, se encuentran un par de pasos de guía parcialmente anulares (en arcos de aproximadamente 20 90°) 18A y 18B, diametralmente opuestos y que se extienden circunferencialmente, los cuales tienen unos extremos de ranura agrandados axialmente 19A, 19B. Los pasos de guía y los extremos de ranura son susceptibles de hacerse cooperar con unos retenedores 54A, 54B dispuestos en el miembro de accionamiento 50 y que se describen más adelante.

25 El miembro de válvula 30 está hecho, preferiblemente, de un plástico deformable biocompatible u otro material sintético y, preferiblemente, de silicona de alta pureza. El material constituyente será adaptable o dúctil, de tal manera que la abertura de acceso susceptible de volverse a obturar que define, puede cerrar herméticamente la cámara principal del cuerpo del recipiente. El miembro de válvula 30 comprende, desde su extremo frontal hasta su extremo trasero, en sucesión axial, una falda convergente o gradualmente estrechada 35, una brida oval 32, que sobresale radialmente 30 hacia fuera más allá de la falda gradualmente estrechada y es complementaria en sección transversal con la sección cilíndrica oval 16 del cuerpo del recipiente, y que está configurada para encajar con él en la posición abierta del miembro de válvula. Más hacia atrás de la brida 32, existe una porción intermedia cilíndrica 31 que tiene un par de casquetes 31B, 31B que se extienden longitudinalmente y sobresalen radialmente, diametralmente opuestos entre sí, y, más allá de éstos, en el extremo trasero del miembro de válvula, un par de patillas parcialmente cilíndricas 33A y 35 33B, situadas una de cara a la otra y que se extienden en arcos de aproximadamente 110°.

El interior del miembro de válvula 30 comprende, desde su extremo frontal hasta su extremo trasero, un paso continuo que define la abertura de acceso a la cámara principal y que incluye un tramo o sección troncocónica 36 40 divergente en sentido hacia delante, de sección transversal elíptica, unida a una sección intermedia 37 ligeramente convergente en el sentido hacia delante, también de sección transversal elíptica, seguida de un tramo o sección trasera 38, convergente en sentido hacia delante más acusadamente y también de sección transversal elíptica. Se apreciará que los ejes mayores de las secciones transversales elípticas del paso a través del miembro de válvula son sustancialmente ortogonales con el eje mayor de la brida oval o elíptica 32 situada en él.

45 El miembro 50 de accionamiento de válvula está hecho, preferiblemente, de un polietileno relativamente rígido, tal como un polietileno de alta densidad, un polietileno de baja densidad o un co-polímero de alta densidad de los mismos, o bien un homopolímero de polipropileno. El miembro de accionamiento 50 forma una tapa para el cuerpo del recipiente y comprende una pared lateral que se extiende desde un extremo delantero hasta un extremo trasero e incluye una sección delantera 53 y una sección trasera 55. Las secciones delantera y trasera son sustancialmente 50 cilíndricas con un ligero abocinamiento o abocardado hacia delante y tienen secciones transversales generalmente circulares. La sección delantera 53 comprende unos recortes diametralmente opuestos 53A y 53B, que se extienden longitudinalmente desde el borde delantero hacia atrás. Cada recorte diametralmente opuesto 53A, 53B tiene una sección recta que con lados longitudinales paralelos y un extremo trasero redondo. La configuración de los recortes es complementaria para ser recibidos, respectivamente, en los pasos de guía 18A, 18B existentes en la sección trasera 19 del cuerpo 10 del recipiente. 55 ajustadamente.

Los retenedores diametralmente opuestos y que se extienden circunferencialmente 54A, 5B están dispuestos a medio camino a lo largo de la sección delantera 53 del miembro de accionamiento 50, y están uniformemente separados de los recortes 53A, 53B a aproximadamente 90° desde sus respectivos puntos medios. Los retenedores 54A, 54B están 60 configurados para ser recibidos, respectivamente, en los pasos de guía 18A, 18B existentes en la sección trasera 19 del cuerpo 10 del recipiente.

La sección trasera 55 del miembro operativo 50 comprende un par de porciones de pared cóncavas y diametralmente opuestas 58A, 58B para los dedos del operario, que se alternan con unas porciones de pared convexas 59A, 59B que se encuentran en continuidad suave o sin interrupciones con la sección delantera 53 del miembro de accionamiento. 65 El miembro de accionamiento tiene una pared 56 de extremo trasera, parcialmente anular, que se extiende entre los bordes traseros de las porciones de pared cóncavas, 58A y 58B, y convexas 59A y 59B, y una abertura central 56A. La periferia o contorno interior de la pared de extremo trasera 56 está unido a un manguito interior 57 convergente

ES 2 323 666 T3

o gradualmente estrechado hacia dentro y separado radialmente con respecto a la pared lateral de la sección trasera 55 del miembro de accionamiento 50, a fin de recibir entre medias las patillas 33A, 33B conformadas de forma complementaria en el miembro 30 de válvula.

5 Preferiblemente, para propósitos de ensamblaje, el miembro 30 de válvula está inicialmente insertado dentro del miembro de accionamiento 50 de un modo tal, que las patillas 33A, 33B son recibidas dentro de la sección trasera de la tapa, entre el manguito interior 57 y la pared lateral de la sección trasera 55 del miembro de accionamiento, y los casquetes 31A, 31B son recibidos en los recortes 53A, 53B. Una vez formado el subconjunto 2 constituido por el miembro de accionamiento 50 y el miembro 30 de válvula, la sección delantera 53 de la tapa es empujada
10 axialmente dentro de la sección cilíndrica trasera 17 del cuerpo del recipiente hasta los retenedores 54A, 54B se ajustan por salto elástico dentro de los pasos de guía 18A, 18B. Así ensamblado, el miembro de accionamiento puede hacerse rotar en el sentido horario, o de giro de las agujas del reloj, o anti-horario, o contrario al giro de las agujas del reloj, hasta posiciones de reposo estable donde los retenedores son recibidos dentro de las porciones agrandadas 19A y 19B de los pasos de guía, y donde unos cortos hombros longitudinales se oponen a la rotación inadvertida o
15 fortuita del miembro de accionamiento desde las posiciones de extremo estables. Las posiciones de reposo estables se corresponden, respectivamente, con las posiciones abierta y cerrada del miembro de válvula.

A medida que el miembro de accionamiento 50 se hace rotar 90° desde una posición abierta a una posición cerrada, la brida oval 32 se deforma debido a la orientación no complementaria de la porción cilíndrica oval 16 del cuerpo del
20 recipiente, con lo que se deforma la porción intermedia del miembro 30 de válvula, según se muestra en la Figura 6, para llevar las paredes de la sección intermedia elíptica 37 desde la posición mostrada en la Figura 8A hasta un contacto de encaje aplanado, según se ilustra en la Figura 8B, y se aplasta con ello el paso del miembro 35 de válvula, llegándose a la obturación total de la abertura de acceso a la cámara principal y al cierre completo de la comunicación entre la cámara principal 12 del cuerpo del recipiente y el entorno ambiental.

25 A continuación se describirá el funcionamiento del presente recipiente de IVC. En primer lugar, se ensambla el recipiente y se abre el miembro 32 de válvula, según se ilustra en la Figura 4A. Llegados a este punto, se introduce el medio de cultivo dentro de la cámara principal y de la micro-cámara por medio de una pipeta convencional, tal como la que se ilustra en la Figura 4B e identifica por el número de referencia 112. El manguito interno troncocónico 57
30 cooperará con la pared gradualmente estrechada de la pipeta de tal modo que, en la posición completamente insertada, el orificio de salida de la pipeta se encuentre bien dentro de la cámara principal y, como se ilustra, por debajo del extremo delantero de la falda 35 del miembro de válvula. La cámara principal y la micro-cámara se llenarán de hasta el nivel de la sección troncocónica 36, y, en la práctica, justo por debajo de la parte más trasera de la misma. El medio de cultivo que se elige es el Medio INRA Menoza B2, disponible en el Laboratoire C.C.D., de París. Tras ello, los
35 ovocitos y el esperma son introducidos por medio de un catéter o pipeta. Generalmente, se utilizarán, de preferencia, de 60.000 a 300.000 espermatozoides móviles, y, más concretamente, 100.000 espermatozoides móviles, y entre 1 y 5 ovocitos. Sin embargo, en ciertos casos que implican un factor masculino acusado, pueden utilizarse más de 300.000 y hasta 500.000 espermatozoides móviles.

40 El esperma puede ser introducido antes o después de los ovocitos, o incluso al mismo tiempo. En general, se preferirá introducir el esperma antes o al mismo tiempo que los ovocitos.

En cada etapa del procedimiento de llenado, el miembro de válvula puede ser cerrado. Así, cuando se emplea un catéter, el miembro de válvula puede ser sustancialmente cerrado en torno al catéter sin obstruir el flujo de los ovocitos
45 y/o del esperma. El cierre del miembro de válvula garantizará, por supuesto, un contacto mínimo contacto entre el aire circundante y las cámaras del recipiente.

Antes de la incubación intravaginal, el recipiente de IVC cerrado es, preferiblemente, calentado durante aproximadamente una hora en una incubadora que funciona a 37°C. El recipiente no se envolverá, de preferencia, en la cápsula
50 que se utiliza durante la incubación.

Con el fin de impedir la contaminación del contenido del recipiente durante la estancia intravaginal y evitar cualquier daño o lesión en el curso de la introducción, de la extracción y de la estancia del recipiente 1, éste se envuelve, tras su calentamiento preliminar en la incubadora, en una cápsula de material biocompatible blando tal como la sili-
55 cona. Preferiblemente, la cápsula comprende unas porciones de cápsula delantera y trasera, 70 y 60, que se ilustran en las Figuras 5A y 5B, configuradas para ser recibidas sobre los extremos respectivos del recipiente 1, tal como se ilustra en la Figura 6. Si se desea, estas porciones de cápsula independientes pueden ser unidas entre sí, por ejemplo, por medio de, preferiblemente, una correa longitudinal elongable o un elemento similar, no mostrado.

60 La porción de cápsula delantera 70 comprende una pared lateral generalmente cilíndrica 71 con un ligero abocinamiento hacia atrás y una pared de extremo redondeada 75. La porción de cápsula delantera 70 tiene una pared interna que define un compartimiento principal 73 configurado para encajar con la porción de la pared lateral externa 11 que define la cámara principal, y un micro-compartimiento generalmente rectangular y plano 74 que tiene una pared más delantera redonda, de tal modo que el micro-compartimiento formado en el extremo engrosado y cerrado de la porción
65 de cápsula 70 es complementario con la configuración de las paredes exteriores de la micro-cámara 11. La porción de cápsula delantera 70 puede hacerse deslizar o arrollarse sobre el cuerpo 11 del recipiente desde la micro-cámara, y hacia atrás, en dirección al extremo abierto del cuerpo del recipiente. Una vez que la porción de cápsula delantera 70 se ha recibido completamente sobre el cuerpo del recipiente, el borde libre de la pared lateral 71 de la cápsula se

superpondrá ligeramente a la parte delantera de una porción troncocónica que converge o se estrecha gradualmente hacia delante, y que interconecta o une mutuamente la pared lateral cilíndrica 11 y la sección trasera 19 del cuerpo del recipiente (véase la Figura 7).

5 La porción de cápsula trasera 60 comprende también una pared lateral generalmente cilíndrica 61 que se extiende entre un extremo delantero abierto 69 y un extremo trasero cerrado 67. La porción de cápsula trasera 60 tiene una pared interna 63 que define un compartimiento de abocinamiento hacia delante 64, generalmente complementario al miembro de accionamiento 50. La pared de extremo 67 tiene un tapón gradualmente estrechado hacia delante 66, configurado para acoplarse de forma encajada con el manguito interior gradualmente estrechado 57 de sección transversal circular del miembro de accionamiento. La superficie interna de la pared de extremo 67 puede permanecer separada de la pared de extremo 56 del miembro de accionamiento en la posición completamente insertada, tal y como se ilustra. Se define una segunda etapa o nivel de obturación entre el tapón y el manguito interior de la tapa. La pared lateral 61 de la porción de cápsula trasera 60 está configurada para extenderse sobre la sección trasera 19 del cuerpo del recipiente y más allá de la zona de unión troncocónica adyacente de la pared lateral, y sobre la porción de borde libre de la cápsula delantera 70, por lo que envuelve por completo el recipiente, según se ilustra en la Figura 7.

Fijado a, e integral con, la pared trasera 67 de la porción de cápsula trasera 60, existe un bucle 68 conformado en forma de U y que se extiende hacia atrás, el cual tiene unas patas longitudinales opuestas y un tronco o porción intermedia redonda que une las patas en posición alejada de la pared trasera 67. La función principal del bucle 68 es definir unos medios de almohadillado deformables axialmente que adaptan la longitud efectiva del conjunto de IVC a la longitud cordal del fórnix posterior de la persona. Cuando el fórnix posterior es de pequeñas dimensiones, como es a menudo el caso antes del nacimiento del primer hijo, el bucle deformable quedará aplanado contra la pared de extremo 67, de tal manera que sobresale transversalmente con respecto al eje del conjunto. El bucle es de un material suficientemente blando y plegable como para que la compresión resultante no cause molestias. Con un fórnix posterior de mayores dimensiones, el bucle deformable 68 se verá sólo ligeramente deformado hasta una forma de U con las patas más o menos arqueadas, de manera que el bucle garantiza entonces que el conjunto de IVC se sujeta entonces de forma apretada, de tal forma que se elimina sustancialmente el desplazamiento o desprendimiento no deseado del recipiente de IVC en el fórnix posterior. La longitud del conjunto para la anatomía humana, con el bucle en su posición eréctil, será de entre aproximadamente 7,5 cm y 9 cm, y con el bucle aplanado contra la pared trasera 67, de entre aproximadamente 6 cm y 6,5 cm. Para uso en vacas o en otros mamíferos de gran tamaño, la longitud total del conjunto en la posición eréctil del bucle, será de entre 10 cm y 15 cm, y, preferiblemente, de aproximadamente 12 cm. Puede ser posible obtener la longitud extendida sencillamente extrayendo de forma parcial las porciones de cápsula trasera y delantera hasta la posición que se ilustra en la Figura 6, gracias a lo cual un conjunto de recipiente de IVC con un tamaño único puede tener aplicaciones tanto en personas como en otros mamíferos. Se aprecia que, en la posición de la Figura 6, la porción intermedia de la pared lateral del cuerpo del recipiente quedará expuesta o al descubierto. Con el fin de evitar tal exposición, puede ponerse en posición una ancha banda elástica sobre las porciones de borde libre de las porciones de cápsula delantera y trasera.

El conjunto de IVC puede colocarse en el fórnix posterior de tal manera que el bucle 68 quede orientado en posición anterior. En este caso, el bucle 68 puede proporcionar un apéndice adecuado para fijar una fina atadura de plástico o cadena al conjunto de recipiente de IVC. Alternativamente, y como se ilustra, una fina atadura de plástico o cadena es recibida dentro de una acanaladura anular 62 existente en la pared lateral 61 de la porción de cápsula trasera, adyacente al extremo delantero de la misma. La atadura de plástico 69A se aprieta en torno a la acanaladura 62, con lo que comprime y deforma el extremo libre de la sección trasera contra la porción de borde libre de la sección delantera, y, por tanto, mejora la obturación de la cápsula. La cadena colgante 69A se emplea, en esta posición, para facilitar la extracción del conjunto de recipiente de IVC del fórnix posterior. (Ha de apreciarse que, con el tubo de Nunc, la retirada se realizaba por el personal médico, que necesitaba un espéculo [espejo metálico cóncavo] para ese propósito).

El periodo normal de estancia vaginal del conjunto de IVC se encuentra entre 48 y 72 horas. El conjunto puede ser retirado del fórnix posterior por la usuaria o el personal médico tirando de una atadura de cadena 69A y extrayendo entonces el conjunto de la vagina. A continuación, las porciones de cápsula 60 y 70 se hacen deslizar o rodar hasta separarse del recipiente 1.

Puede entonces inspeccionarse el embrión o los embriones que se han desarrollado. Para este propósito, el recipiente se orientará, en primer lugar, como se ilustra en la Figura 4A, pero con el miembro de válvula cerrado. Esto permitirá que los embriones surgidos en el medio de cultivo caigan o se establezcan en la micro-cámara por la fuerza de la gravedad. A continuación, el recipiente se orientará de tal manera que el eje longitudinal sea sustancialmente horizontal y la parte plana 24 de la micro-cámara quede por debajo del canal 22, de tal modo que todos los embriones se recogerán entonces en esa parte. A continuación, el recipiente se volteará 90° de tal modo que las paredes 24A y 24B de la micro-cámara se encuentren horizontales y, tras ello, se llevan a alineación (a 90°) con el eje óptico del microscopio de laboratorio (no mostrado).

Una vez que los embriones se han inspeccionado y se ha tomado la decisión respecto a cuál o cuáles han de ser implantados, se introducirá un catéter 120 en el recipiente de tal modo que su punta se reciba en el canal, y el embrión o embriones seleccionados pueden ser entonces aspirados al interior del catéter y transferidos, a continuación, a la cavidad uterina para su implantación de acuerdo con los procedimientos convencionales. Preferiblemente, la recuperación se llevará a cabo bajo un microscopio, de tal manera que el orificio del catéter pueda ser colocado

inmediatamente adyacente al (a los) ovocito(s) que se ha(n) de recuperar, por ejemplo, por inclinación del recipiente. Durante la recuperación de los embriones, el miembro de válvula puede ser cerrado en torno al catéter con el fin de limitar la comunicación por el aire con el contenido del recipiente. Dada la blandura del material del miembro de válvula, aquí, silicona, la abertura de acceso puede cerrarse herméticamente u obturarse sustancialmente sin interferir en la recuperación de los embriones.

La Figura 14 ilustra el recipiente con el miembro de válvula en su posición abierta, a fin de definir un orificio para el acceso al interior del cuerpo 10 del recipiente. Un catéter de Frydman o de Wallace 120 es insertado a través del orificio de acceso, y el extremo o punta 121 del mismo es recibido en el interior del canal 20. La penetración del extremo del catéter dentro del canal se ve limitada por el hombro 13B, en su extremo más adelantado, contra el cual contacta a tope, al penetrar completamente, la punta del catéter. La distancia entre el hombro y la pared de extremo delantero de la micro-cámara es suficiente (aproximadamente 0,5 mm) como para dar acomodo a aproximadamente 5 embriones humanos, unos encima de otros, sin que haya ningún riesgo de lesiones por causa de la punta del catéter. La zona de unión gradualmente estrechada hacia delante o lumbrera 25 entre el canal y la parte rectangular plana 24 de la micro-cámara 13, garantiza que la punta del catéter será guiada al interior del canal y hasta el extremo más adelantado del mismo sin que ello plantee ninguna dificultad para el personal médico.

El recipiente se orientará con su eje generalmente en posición horizontal y el canal situado por encima de la parte rectangular plana 24 de la micro-cámara 13, inmediatamente antes de la introducción del catéter, de tal manera que los embriones que puedan haberse recogido en el canal puedan migrar hacia la parte plana 24 de la micro-cámara por la fuerza de la gravedad, a fin de evitar que los embriones queden pellizcados entre el catéter y la repisa 13B.

El recipiente puede disponerse entonces en su posición vertical o erguida. Una vez que la punta 121 del catéter está en posición con respecto a la micro-cámara, el catéter puede aspirar los embriones desde la parte plana 24 de la micro-cámara a través de la abertura de recuperación del catéter. El catéter cargado puede ser entonces utilizado de inmediato para transferir el embrión o embriones al útero para su implantación.

Similarmente, en la realización modificada de las Figuras 11-12, la estrecha lumbrera de acceso 12'A definida por los pares de bordes paralelos y bordes cóncavos entre la cámara principal 12 y la micro-cámara 24, impedirá cualquier penetración significativa de la punta del catéter en la micro-cámara, ya que la punta tiene un diámetro que es mayor que la estrecha dimensión transversal de la lumbrera de acceso. Para esta realización, la punta del catéter será libre de moverse hacia delante y hacia atrás a lo largo de la lumbrera de acceso durante la recuperación de los embriones. De forma alternativa, la punta del catéter puede ser aplicada contra una repisa cóncava de la estrecha lumbrera de acceso con el fin de situar ésta en una posición relativamente estable durante esta etapa.

En lugar de un catéter, puede emplearse una pipeta de una configuración convencional para recuperar los embriones desde la micro-cámara. La pipeta puede tener una punta gradualmente estrechada, configurada para ser recibida dentro del canal de las realizaciones de las Figuras 1-10.

De acuerdo con ello, en ningún momento desde el instante en que los gametos son introducidos en el medio de cultivo contenido en el cuerpo del recipiente, hasta el momento en que los embriones son recuperados para su transferencia al útero, están los gametos o embriones directamente en contacto con el aire y el entorno ambiental. Gracias a la invención que se divulga, resultará posible inspeccionar microscópicamente los embriones sin extraerlos del recipiente de IVC, con lo que se evita el contacto con el entorno ambiental, y también observarlos durante su colocación con respecto al orificio del catéter o pipeta, en particular, por medio de la inclinación del recipiente. Se apreciará también que, a lo largo de todo el procedimiento de cultivo y fertilización, el contenido del recipiente de IVC estará protegido de la contaminación por los medios de cierre susceptibles de volverse a obturar, definidos por el miembro de válvula, y por la obturación de segunda etapa o nivel definida por el tapón situado en la porción de cápsula trasera, que es recibido de forma encajada dentro del manguito interno gradualmente estrechado de la tapa. Otro nivel de protección está definido por la propia cápsula, que rodea o envuelve por completo el recipiente cerrado y obturado, y define una barrera aséptica para impedir la penetración de las bacterias y los virus presentes en la cavidad vaginal y reducir, con ello, el riesgo de contaminación de los embriones cuando se abre y se extraen éstos para su transferencia. Se comprenderá también que, debido al estrecho orificio elíptico de acceso existente a través del miembro de válvula en la posición abierta o parcialmente abierta, cuando los gametos son introducidos o los embriones retirados, el contacto con el aire ambiental se verá prácticamente eliminado.

En la posición cerrada del miembro de válvula, la sección frontal 36 en abocinamiento hacia delante, perteneciente al paso, y el borde anular adyacente de la falda 35 definen el extremo trasero de la cámara principal. Ha de comprenderse que esta configuración impedirá que los ovocitos fluyan hacia atrás al interior de la sección intermedia del paso del miembro de válvula, donde, de no ser así, podrían quedar inadvertidamente atrapados, dentro de las paredes conjugadas del paso del miembro de válvula, o incluso ser aplastados, y, en cualquier caso, mantenidos lejos del contacto con el medio de cultivo y el esperma. Es más, cuando el miembro de válvula es abierto o parcialmente abierto, el catéter llenará parcialmente la abertura de acceso.

Pueden emplearse con el presente recipiente de IVC otros medios de cierre susceptibles de volverse a obturar y, más particularmente, otros diseños de válvula. De acuerdo con una realización preferida del dispositivo de cierre susceptible de volverse a obturar que se ilustra en las Figuras 14 y 15, un tapón de silicona 30A con una abertura axial y una cavidad de miembro de válvula central, se ajusta dentro de una sección 17A de extremo trasero del cuerpo de

recipiente, similar a la de la segunda sección 17, sin ninguna ranura circunferencial y sin la primera sección cilíndrica 16. El tapón de silicona 30A de configuración cilíndrica y sección transversal circular tendrá unas secciones de paso delantera y trasera, 37A, B, que se extienden generalmente en dirección axial para el acceso a la cámara principal y/o a la micro-cámara cuando el miembro de válvula 30A está en su posición abierta (véase la Figura 14). El miembro de válvula está articulado en las paredes laterales de la sección 17A de extremo trasero del cuerpo del recipiente para el movimiento rotativo alrededor de un eje transversal que es ortogonal con respecto al eje del cuerpo del recipiente, entre una posición abierta (Figura 14), en la que un paso 30B a través del miembro 30A de válvula está en alineación con las secciones de paso 37A, 37B a través del tapón, y una posición cerrada (Figura 15), cuando el miembro 30A de válvula obstruye la comunicación entre las secciones de paso alineadas dentro del tapón, de tal manera que la sección de paso situada dentro del miembro de paso se encuentra en ángulos rectos con respecto a las del tapón. En los extremos de las articulaciones situadas dentro de las paredes laterales del cuerpo del recipiente, unos miembros de accionamiento 30A, 30D con forma de disco (que pueden estar ranurados para recibir un destornillador) serán accesibles a los dedos del personal médico para aplicar a los miembros de accionamiento y hacer girar el miembro de válvula, superando el rozamiento entre, entre otros, el miembro de válvula y la cavidad conjugada o correspondiente en el tapón, que da acomodo al miembro de válvula. En tal realización, el miembro de válvula relativamente rígido, que es relativamente duro y se aloja dentro de un tapón de silicona relativamente blando 30A, se utiliza para abrir y cerrar el acceso a las cámaras del recipiente, en contraposición con la realización ilustrada, que emplea un miembro de válvula deformable elásticamente para cerrar el paso por medio de la rotación de un miembro de accionamiento relativamente rígido en torno al eje del recipiente.

Alternativamente, el miembro de válvula y la cavidad existente en el tapón pueden tener forma de ovoide (no ilustrada), de tal manera que el eje mayor es ortogonal al eje del recipiente. Para cualquiera de estas realizaciones, los medios de tope cooperativos (no mostrados) existentes en la sección de extremo trasero del recipiente y el miembro de válvula rígido susceptible de volverse a obturar definirán el intervalo de desplazamiento angular del miembro de válvula, limitado a aproximadamente 90°.

Se apreciará que pueden adoptarse estas y otras modificaciones y variantes del recipiente y del conjunto de recipiente sin apartarse del ámbito de la invención, definido por las reivindicaciones que se acompañan.

REIVINDICACIONES

1. Un recipiente de fertilización y cultivo que comprende un cuerpo (10) de recipiente, que tiene un orificio para introducir un medio de cultivo, uno o más ovocitos y esperma, medios de cierre susceptibles de volverse a obturar (2), destinados a abrir y cerrar selectivamente el orificio del cuerpo del recipiente, de tal modo que dicho cuerpo de recipiente tiene una cámara principal (12) para recibir el medio de cultivo, los ovocitos y el esperma, **caracterizado** por que el recipiente tiene una cámara microscópica o micro-cámara (13) destinada a recoger uno o más embriones y a la recuperación subsiguiente de uno o más embriones desde la micro-cámara con un catéter o pipeta de recuperación.
2. Un recipiente de fertilización y cultivo de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual el cuerpo del recipiente tiene medios para restringir el acceso de un catéter o pipeta de recuperación con respecto a dicha micro-cámara.
3. Un recipiente de fertilización y cultivo de acuerdo con la reivindicación 2, en el cual los medios para restringir el acceso del catéter o pipeta de recuperación están definidos por una lumbrera de entrada de la micro-cámara a través de la cámara principal, con lo que se restringe la penetración en la micro-cámara.
4. Un recipiente de fertilización y cultivo de acuerdo con la reivindicación 2 ó la reivindicación 3, en el cual los medios para restringir el acceso del catéter de recuperación están definidos por un canal (20) que se extiende desde la cámara principal al interior de la micro-cámara y de configuración complementaria o conjugada a la de una porción de extremo de un catéter o pipeta de recuperación, a fin de situar una punta del catéter o pipeta separada de una pared de extremo delantero de la micro-cámara, en una posición de penetración total de un catéter o pipeta en el cuerpo del recipiente.
5. Un recipiente de fertilización y cultivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual al menos una porción de una pared lateral (11) del cuerpo del recipiente, que define dicha micro-cámara, es transparente y de calidad óptica para la inspección microscópica de los embriones.
6. Un recipiente de fertilización y cultivo de acuerdo con las reivindicaciones 4 y 5, en el cual el cuerpo del recipiente tiene paredes laterales transparentes, paralelas y opuestas (24A, 24B), de calidad óptica, que se extienden lateralmente desde dicho canal.
7. Un recipiente de fertilización y cultivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el volumen de la micro-cámara es menor que aproximadamente 100 μ l.
8. Un recipiente de fertilización y cultivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el volumen de la micro-cámara está comprendido entre aproximadamente 25 μ l y aproximadamente 70 μ l.
9. Un recipiente de fertilización y cultivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8, en el cual la anchura de la micro-cámara, medida entre las paredes laterales opuestas, se encuentra entre aproximadamente 0,3 mm y aproximadamente 0,8 mm.
10. Un recipiente de fertilización y cultivo de acuerdo con la reivindicación 9, en el cual el diámetro promedio de la porción delantera del canal del catéter se encuentra entre aproximadamente 2 mm y aproximadamente 3 mm.
11. Recipiente de fertilización y cultivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual el orificio del recipiente incluye medios para la colocación de un extremo de catéter o pipeta en relación con la cámara principal, para la introducción de ovocitos o esperma hacia delante con respecto a los medios de cierre susceptibles de volverse a obturar.
12. Un recipiente de fertilización y cultivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para uso intravaginal, que comprende adicionalmente una cápsula blanda y susceptible de doblarse (70, 60), destinada a encerrar el recipiente, que incluye al menos dos partes configuradas para hacerse deslizar sobre el recipiente desde extremos opuestos del mismo, de tal modo que dichas partes de cápsula tienen porciones de borde libre susceptibles de solaparse para obturar o cerrar herméticamente dicha cápsula.
13. Un conjunto de recipiente de fertilización y cultivo de acuerdo con la reivindicación 12, en el cual unos medios de almohadillado deformables (68) están dispuestos próximos a un extremo de dicha cápsula con el fin de adaptar las dimensiones longitudinales del conjunto a una dimensión cordal del fómix posterior cuando el conjunto de recipiente es recibido dentro de él.
14. Un recipiente de fertilización y cultivo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual existe una zona de acceso libre definida entre la cámara principal y la micro-cámara para el paso del medio de cultivo, y, tras la fertilización, de los uno o más embriones surgidos en el medio de cultivo.
15. Un recipiente de fertilización y cultivo de ovocitos y de recuperación de embriones, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende adicionalmente, en combinación con él, medios para re-

ES 2 323 666 T3

cuperar de la micro-cámara los uno o más embriones contenidos en dicho medio de cultivo, de tal modo que dicha micro-cámara tiene una o más zonas transparentes para ver los uno o más embriones de su interior, antes de la retirada y/o durante ésta.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65





