

Manual EndomeTRIO

Uma visão completa da saúde
endometrial

Índice

ERA – Análise de Receptividade Endometrial

Apresentação - 5

Indicações para o ERA - 8

Metodologia - 10

Laudo e interpretação dos resultados -13

Reprodutibilidade dos resultados - 18

Fluxo de decisões ERA - 19

Referências – 20

EMMA – Análise Metagenômica do Microbioma Endometrial

Apresentação - 23

Indicações para EMMA - 24

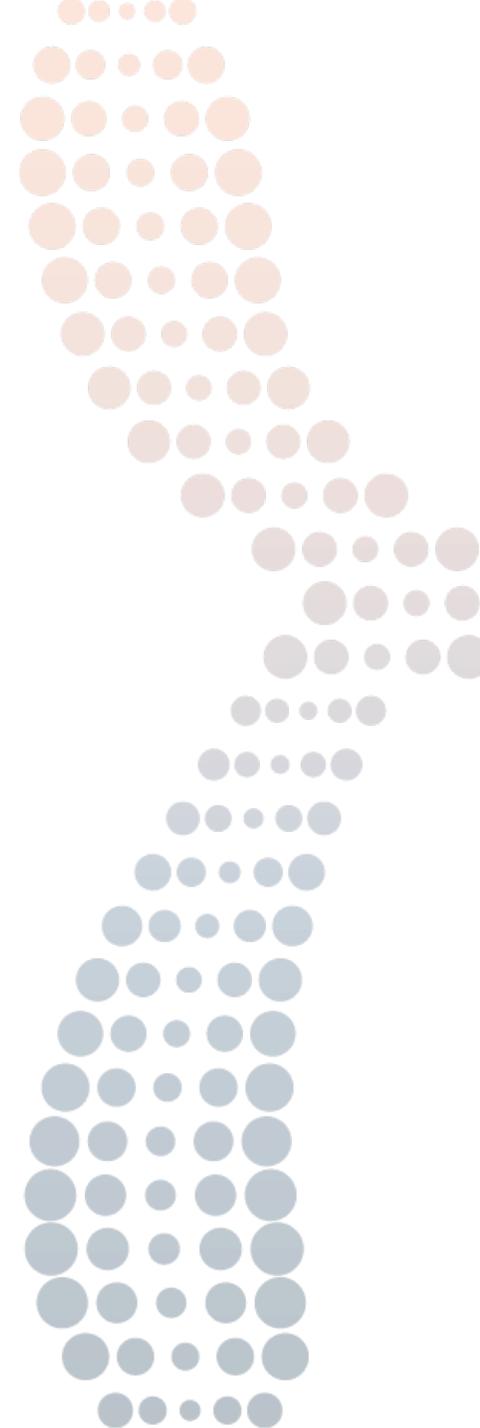
Metodologia - 25

Laudo e interpretação dos resultados – 26

Vantagens do sequenciamento de nova geração (NGS) vs cultura microbiana – 32

Fluxo de decisões EMMA - 33

Referências - 34



ALICE – Análise de Endometrite Crônica Infecciosa

Apresentação - 36

Indicações para o ALICE - 37

Metodologia - 38

Laudo e Interpretação dos resultados -39

Vantagens da detecção de patógenos por sequenciamento de nova geração (NGS) vs métodos clássicos – 42

Fluxo de decisões ALICE - 44

Referências - 45



Biópsia endometrial para ERA, EMMA, ALICE

Requisitos para fazer biópsia endometrial - 46

Dia da biópsia endometrial para ERA isoladamente ou em conjunto com EMMA/ALICE- 47

Protocolo de rotina HRT – 49

Protocolo de rotina: Ciclo natural - 53

Dia da biópsia endometrial para EMMA/ALICE (sem ERA) - 55

Dia da biópsia endometrial: Tabela resumo - 57

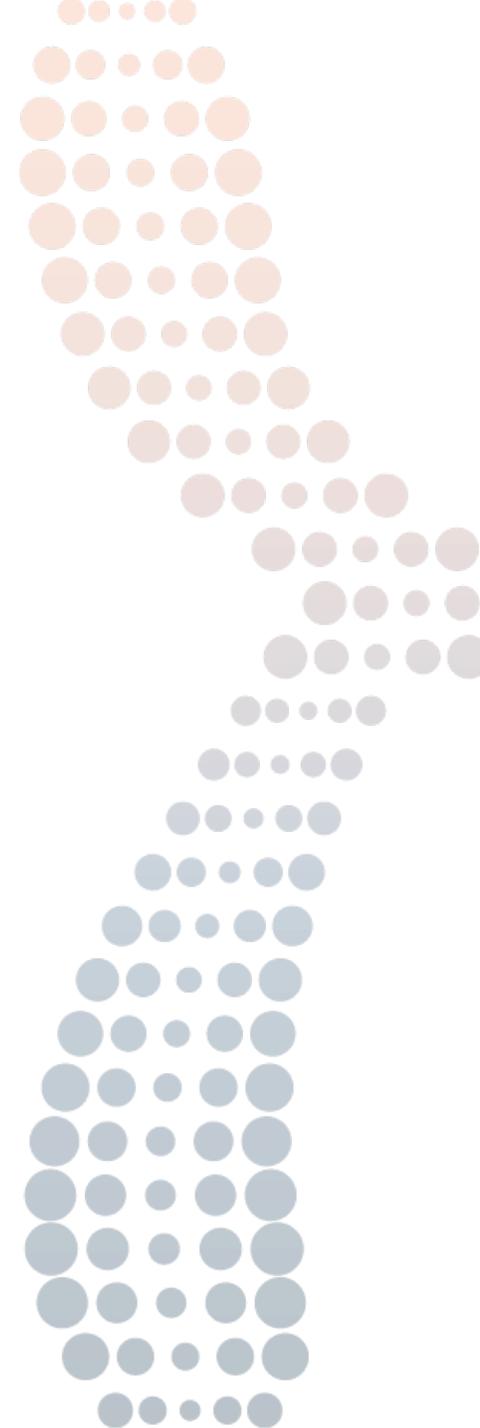
Dia da biópsia endometrial: Protocolos inválidos - 58

Protocolo de biópsia endometrial - 59

Logística - 62

Uma visão completa da saúde endometrial – 64

Lista de abreviaturas- 65



ERA[®]

Endometrial
Receptivity Analysis

ERA[®]

Endometrial
Receptivity Analysis

Apresentação

O fator endometrial é fundamental para que a implantação embrionária ocorra com sucesso. Não só é importante avaliar a presença de malformações ou anormalidades na cavidade uterina, mas também é importante determinar quando o endométrio de uma paciente adquire um fenótipo receptivo, ou seja, quando sua janela de implantação inicia. Pacientes com falha de implantação recorrente (FRI) podem apresentar um deslocamento da janela de implantação, fazendo com que a transferência do embrião seja realizada em um endométrio não receptivo (Ruiz-Alonso et al. Fertil Steril, 2013).

A assinatura de expressão gênica do endométrio permite avaliar a receptividade endometrial, identificando a janela de implantação personalizada de cada paciente.

ERA[®]

Endometrial
Receptivity Analysis

Esta análise é realizada com uma ferramenta projetada, desenvolvida e patenteada em 2009 (PCT/ES2009/000386) pela Igenomix, após mais de 10 anos de pesquisa (Diaz-Gimeno et al. Fertil Steril, 2011-2013).

Identificar o momento do ciclo endometrial em que a janela de implantação (WOI) inicia em cada paciente nos permite personalizar a transferência embrionária (pET) de acordo com este resultado.

Nosso grupo tem demonstrado nos últimos anos que a sincronização entre um embrião pronto para se implantar e um endométrio receptivo aumenta as chances de sucesso das técnicas de reprodução assistida (Ruiz-Alonso et al. Fertil Steril, 2013; Ruiz-Alonso et al. Hum Reprod, 2014; Clemente- Ciscar et al. Hum Reprod, 2018; Simon et al. Reprod BioMed Online, 2020).

ERA®

Endometrial
Receptivity Analysis

Outros grupos externos também publicaram resultados semelhantes em seus pacientes após orientar a transferência de embriões de acordo com o resultado do ERA (Mahajan J Hum Reprod, 2015; Hashimoto et al. Reprod Med Biol, 2017; Findikli et al. Hum Reprod, 2018; Pasternak et al. Fertil Steril, 2018; Taguchi et al. Fertil Steril, 2018; Med Sci Monit, 2022).

ERA (Endometrial Receptivity Analysis), determina o momento ideal do ciclo endometrial em que realizar a transferência embrionária. Desta forma, o teste ERA pode aumentar as chances de se alcançar uma gravidez, sincronizando um embrião pronto para se implantar com um endométrio receptivo.

ERA[®]

Endometrial
Receptivity Analysis

Indicações para ERA

O teste ERA é indicado para **pacientes com Falha Recorrente de Implantação (FRI)**, uma vez que apresentam maior risco de ter um deslocamento de sua janela de implantação (Ruiz-Alonso et al. Fertil Steril, 2013). Portanto, esta análise pode ser benéfica para pacientes com 2 ciclos fracassados de oócitos próprios ou 1 de doação de óvulos, em ambos os casos com embriões de boa qualidade. Por outro lado, a aplicação de ERA em pacientes sem Falha Recorrente de Implantação (FRI) também tem sido explorada (Simon et al. Reprod BioMed Online, 2020).

ERA[®]

Endometrial
Receptivity Analysis

Indicações para ERA

Nossos estudos mostraram que existem outras situações em que as pacientes estão em maior risco de ter um WOI deslocado. Nestes casos, o ERA pode ajudar a encontrar o momento ideal para a transferência de embriões:

- Pacientes com **IMC > 30** (Comstock et al, 2017; Bellver et al, 2021)
- Pacientes com **atrofia endometrial** (espessura endometrial < 6 mm) (Valbuena et al, 2016)
- Pacientes com **adenomiose** (Mahajan et al, 2018)
- Pacientes com **gestações bioquímicas recorrentes** (Diaz-Gimeno et al, 2017)

ERA[®]

Endometrial
Receptivity Analysis

Metodologia

Este teste usa **tecnologia de sequenciamento de nova geração (NGS) para analisar a expressão gênica de 248 genes relacionados ao status de receptividade endometrial.**

Os resultados do teste são baseados na análise da expressão desses 248 genes com um preditor computacional projetado e desenvolvido pela Igenomix. Após o sequenciamento do material genético (RNA) de uma biópsia endometrial, é possível avaliar se o endométrio da paciente é receptivo ou não receptivo em um determinado momento do seu ciclo endometrial. **Esse resultado será acompanhado de uma recomendação para a realização da transferência personalizada de embriões, em cada paciente de acordo com seu perfil endometrial.** Em alguns casos (10%), a janela de implantação personalizada pode precisar ser validada através da realização de uma segunda biópsia no dia especificado pela análise do primeiro teste ERA.

ERA[®]

Endometrial
Receptivity Analysis

Para que o resultado seja reproduzível, o teste ERA deve ser realizado reproduzindo exatamente as mesmas condições que terá para o ciclo de transferência embrionária (tipo de ciclo, medicação, forma de administração...), e sempre em ciclos naturais ou terapias de reposição hormonal (HRT). Este teste não pode ser realizado em ciclos de estimulação ovariana.

Em alguns casos em que foi necessária mais de uma biópsia, nossa equipe pode entrar em contato com para coletar informações sobre os ciclos da paciente. Isso é para entender se os protocolos foram exatamente replicados e se os resultados das execuções podem ou não ser correlacionados. A correlação dos resultados ajuda nossa equipe de diagnóstico a revisar ambos os resultados e fornecer uma recomendação mais personalizada, por exemplo, no caso de um janela de implantação estreita. Se não confirmarmos esta informação e não levarmos em conta a correlação, podemos estar perdendo uma observação especial que requer uma recomendação mais personalizada para a transferência, além do que nosso algoritmo fornece.

ERA[®]

Endometrial
Receptivity Analysis

A **primeira biópsia endometrial deve ser sempre realizada após 5 dias completos de administração de progesterona (P+5) em um ciclo de HRT (120 horas com administração de progesterona). Em ciclo natural, a primeira biópsia deve ser realizada 7 dias (168 horas) após o uso de hCG (hCG+7) ou após o pico de LH (LH+7). Também pode ser realizada 6 dias após a ovulação confirmada por ultrassom** (embora a última opção não seja ideal, pois é difícil garantir a reprodutibilidade de resultados).

No caso de transferência de embriões no dia 3, a biópsia também deve ser feita em P+5 ou hCG+7, uma vez que o teste ERA analisa o endométrio no momento da implantação. Desta forma, se um resultado receptivo for obtido em P + 5, um blastocisto deve ser transferido em P + 5 ou um embrião do dia 3 dois dias antes, ou seja, em P + 3.

Laudo e interpretação dos resultados

O laudo do ERA indicará o momento ideal para realizar a transferência embrionária personalizada (pET) ou para a realização de uma nova biópsia do ERA (conforme apropriado).

Receptivo: O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio receptivo. Recomenda-se a transferência de blastocisto(s) nas mesmas condições em que o teste ERA foi realizado.

Receptivo tardio: O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio no final da fase receptiva. Recomenda-se adiantar a transferência do (s) blastocisto(s) em 12 horas em comparação com o tempo em que o teste ERA foi realizado.

ERA[®]

Endometrial
Receptivity Analysis

Pré-receptivo: O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio na fase pré-receptiva. Isso pode ser devido a um deslocamento da janela de implantação. Em 5% dos casos (quando esse deslocamento é de 2 dias) uma nova biópsia endometrial pode ser necessária para validação no dia indicado.

Pós-receptivo: O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio na fase pós-receptiva. Isso pode ser devido a um deslocamento da janela de implantação. Para validação, uma nova biópsia endometrial deve ser realizada no dia indicado.

Proliferativo: O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio na fase proliferativa. Recomenda-se entrar em contato com o laboratório de ERA para avaliar o protocolo em que a biópsia endometrial foi realizada.

* Em aproximadamente 3,3% das amostras recebidas, não é possível obter um diagnóstico, o que se deve à obtenção de um perfil não informativo ou à baixa quantidade/qualidade do material genético obtido.

* Seguir as recomendações do laudo do ERA não garante a implantação. As falhas de implantação podem ser causadas por outros fatores.

ERA[®]

Endometrial
Receptivity Analysis

Seguimos rigorosos critérios de qualidade para garantir que a integridade e a quantidade de RNA sejam adequadas, evitando possíveis resultados artefatuais que possam afetar negativamente o resultado clínico do seu pacientes.

RNA inválido: Na análise transcriptômica (qualquer que seja a técnica), a integridade adequada do RNA é necessária para garantir a confiabilidade do resultado. Nos casos em que o RNA é altamente degradado, o perfil de expressão gênica obtido não seria confiável. Isso ocorre em aproximadamente 1,2% das amostras recebidas. Nestes casos, é necessário avaliar uma nova biópsia endometrial (gratuita). Possíveis causas: tamanho de amostra muito grande, contaminação e/ou alta temperatura (≥ 35 °C) durante o transporte.

RNA insuficiente: Embora com NGS a quantidade mínima de RNA necessária para análise seja muito baixa, às vezes uma baixa concentração de RNA pode levar a um resultado impreciso. Nossos rigorosos sistemas de controle nos permitem identificar a confiabilidade do resultado obtido. Somente em cerca de 1,5% das amostras recebidas não é possível determinar um perfil de expressão gênica preciso, pois não há material genético suficiente. Nestes casos, é necessário avaliar uma nova biópsia endometrial (gratuita). Possíveis causas: baixa quantidade de tecido adequado.

Não Informativo: Este resultado é obtido quando o perfil analisado não corresponde aos perfis de expressão gênica de controle presentes no preditor de ERA. Nestes casos, a nossa equipe de ERA irá contatá-lo para avaliar o protocolo em que a biópsia endometrial foi realizada. Ocorre apenas em <0,7% das amostras analisadas e em >95% dos casos, está relacionada à amostra em si, não ao endométrio, já que com uma nova biópsia (sem custo) é possível obter um resultado válido.

Em qualquer um desses casos, nossa equipe de ERA irá apoiá-lo e orientá-lo, certificando-se de que podemos encontrar um resultado válido para o seu paciente, confiando que buscamos qualidade e confiabilidade.

Laudo

O objetivo deste teste é fornecer aos médicos um diagnóstico molecular objetivo da receptividade endometrial.

Este teste deve ser prescrito e interpretado pelo médico que realizará a transferência embrionária subsequente.

CLIA #9902146167

PART OF VITROLIFE GROUP

ERA (DIAGNÓSTICO DE RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL)

Información Paciente	Información Muestra	Información Clínica
NHC:	Fecha recepción:	Clinica:
Tipo de muestra: Biopsia endometrial	Fecha informe:	Doctor:
Nombre paciente:	Progesterona:*	Nº biopsia:
Fecha nacimiento:	Fecha medida:	
	Fecha inicio P4:	
	Fecha biopsia:	
	Tipo de ciclo:	

RESULTADO DEL TEST:

RECEPTIVO: RECEPTIVO TARDÍO

Recomendación: La transferencia embrionaria personalizada (pET) de blastocisto/s debe realizarse con 113 ± 3 horas con administración de progesterona (12 horas menos con administración de progesterona respecto al momento en el que se tomó esta biopsia endometrial). No se requiere una nueva biopsia endometrial. **

Pre-Receptivo Receptivo Post-Receptivo

INTERPRETACIÓN DE SU RESULTADO:

El perfil de expresión génica es compatible con un endometrio receptivo tardío. Por lo tanto recomendamos realizar la transferencia de blastocisto/s con 113 ± 3 horas con administración de progesterona (12 horas menos con administración de progesterona respecto al momento en el que se tomó esta biopsia endometrial). Para ello puede comenzar la administración de progesterona 12 horas más tarde o bien adelantar 12 horas la transferencia embrionaria respecto al momento en el que se tomó esta biopsia endometrial.

Para transferir embriones de día 3, se deberá realizar la transferencia dos días antes respecto a la recomendación anterior para transferencia de blastocistos.

* Nivel de la progesterona basal antes de la primera toma de progesterona o pico de LH/hCG administración: Menor que 1 ng/ml. Fecha de la medida: 30/01/23.

** Este resultado es reproducible únicamente para el mismo tratamiento en el que se ha realizado esta biopsia endometrial y siempre que la progesterona endógena previa a la primera toma de progesterona exógena haya sido <1ng/ml.

DESCRIPCIÓN DEL TEST:

ERA (Análisis de receptividad endometrial) es un test diagnóstico molecular que se utiliza para determinar si el endometrio (la membrana mucosa que recubre el útero) presenta un perfil receptivo después de 5 días con exposición a progesterona, el momento en que el endometrio está normalmente listo para la implantación del embrión. Este método de diagnóstico molecular se basa en medir el perfil de expresión génica del tejido endometrial. En consecuencia, ERA ayuda a determinar cuándo el endometrio presenta las condiciones ideales para la implantación del embrión, aumentando la posibilidad de un tratamiento de fertilización in vitro exitoso.

Igenomix SPAIN LAB, S.LU, C/ Navas Montural nº11, Edificio Europark B, Parque Tecnológico, ES-46980 PATERNAL, Valencia, Tel: +34 963 905 330

Buenos Aires | Dubai | Hangzhou | Istanbul | Kobe | Kuwait City | Lima | London | Los Angeles | Ciudad de México | Miami | Moscow | New Delhi | New York | Recife | Riyadh | Santiago de Chile | São Paulo | Taipei | Tokyo | Toronto | Valencia | Vicenza

MJE-0882773 1 | 4

SPA_UJ_PP_SPA_RL_23 v1.0

Source: ICM-08/2022

Para obter uma recomendação de pET expressa em horas, precisamos da data e hora da biópsia endometrial e de um dos seguintes dados (dependendo do tipo de ciclo):

- Data e hora da primeira dose de P4 (ciclo HRT)
- Data e hora da injeção de hCG, ou pico de LH ou ovulação (Ciclos Naturais)

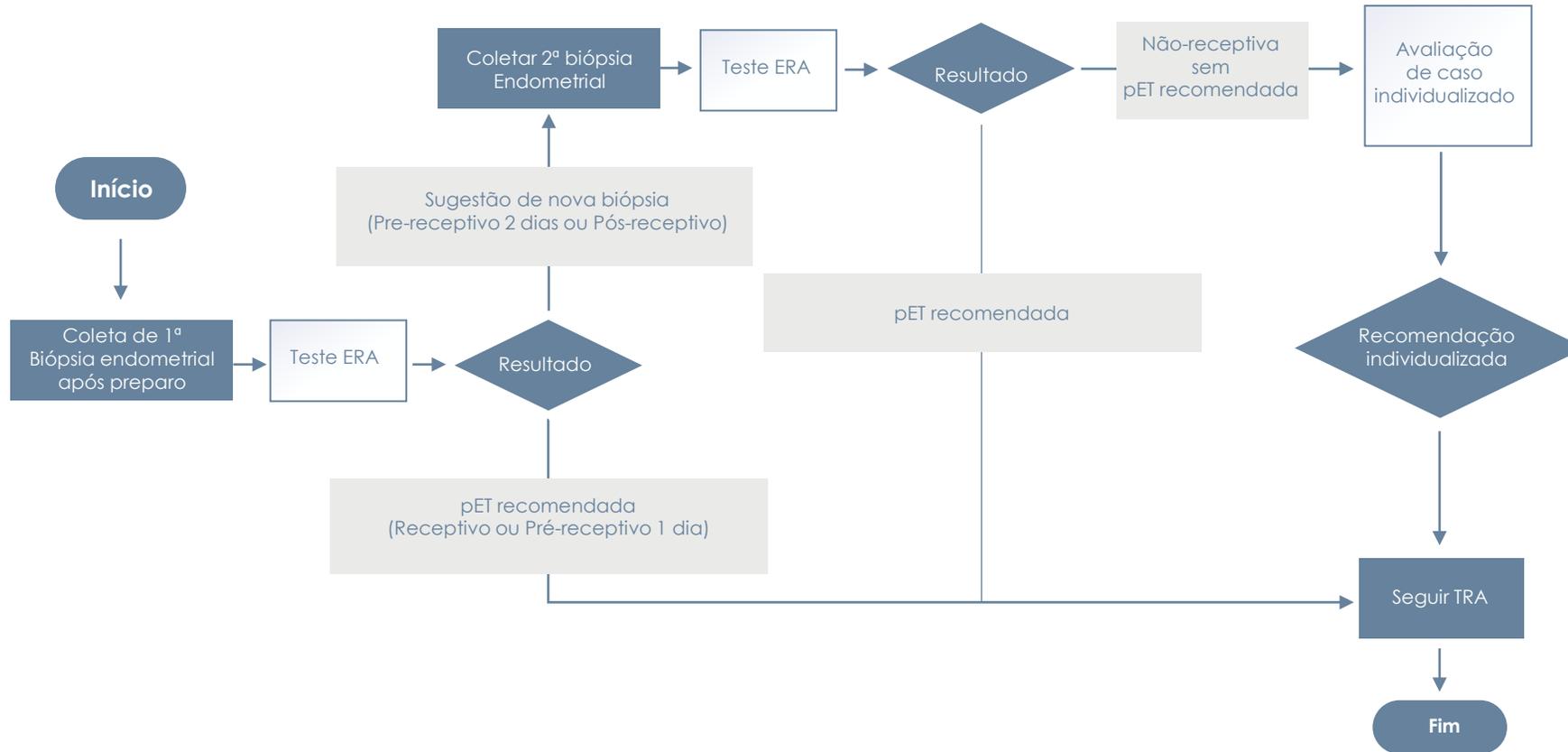
O laudo ERA indicará o momento ideal para realizar a transferência personalizada de embriões (pET) ou quando realizar uma nova biópsia ERA (conforme apropriado).

Reprodutibilidade dos resultados

O resultado do ERA demonstrou ser reprodutível durante, pelo menos, 36 meses, desde que se cumpra o seguinte:

- O protocolo de **preparo endometrial** deve ser replicado exatamente para os ciclos de biópsia e transferência.
- A **espessura do endométrio** deve estar dentro da mesma faixa de um dos três seguintes: **<6 mm, 6-12 mm, >12 mm**; tanto na biópsia quanto no ciclo de transferência.
- **Alterações no IMC podem ser acompanhadas por uma alteração na janela de implantação.** O teste ERA pode precisar ser repetido após mudanças significativas no IMC (mudando de > 30 para < 30) para garantir a precisão dos resultados.
- **Intervenções a nível uterino pode afetar a WOI.** Após este tipo de intervenção, deve avaliar-se se é necessário realizar um novo teste ERA. De fato, se o seu paciente precisar de qualquer intervenção a nível uterino antes da transferência do embrião, o teste ERA deve ser realizado após este procedimento.
- A **progesterona endógena** devidamente controlada em ciclos de biópsia e de transferência, **deve ser < 1 ng/ml** dentro de 24 horas antes da primeira ingestão de progesterona (ciclos HRT) ou LH + 0 / hCG + 0 (ciclos naturais).

ERA | Fluxo de decisão



Referências

Bellver, J., Marín, C., Lathi, R.B. et al. Obesity affects Endometrial Receptivity by displacing the Window of Implantation. *Reprod. Sci.* 2021; 1-10.

Carranza F, González-Ravina A, Blasco V, Fernández-Sánchez M. Different Endometrial Receptivity in Each Hemiuterus of a Woman With Uterus Didelphys and Previous Failed Embryo Transfers. *J Hum Reprod Sci.* 2018;11(3):297-299.

Clemente-Ciscar M, Ruiz-Alonso M, Blesa D, Jimenez-Almazan J, Bahceci M, Banker M et al. Endometrial receptivity analysis (ERA) using a next generation sequencing (NGS) predictor improves reproductive outcome in recurrent implantation failure (RIF) patients when compared to ERA arrays. *Hum Reprod.* 2018; 33(Supp1):8-8.

Comstock IA, Diaz-Gimeno P, Cabanillas S, Bellver J, Sebastian-Leon P, Shah M et al. Does an increased body mass index affect endometrial gene expression patterns in infertile patients? A functional genomics analysis. *Fertil Steril.* 2017 Mar;107(3):740-748.e2.

Cruz F, Bellver J. Live birth after embryo transfer in an unresponsive thin endometrium. *Gynecol Endocrinol.* 2014;30(7):481-4.

Díaz-Gimeno P, Horcajadas JA, Martínez-Conejero JA, Esteban FJ, Alamá P, Pellicer A, Simón C. A genomic diagnostic tool for human endometrial Receptivity based on the transcriptomic signature. *Fertil Steril.* 2011; 95(1):50-60, 60.e1-15.

Díaz-Gimeno P, Ruiz-Alonso M, Blesa D, Bosch N, Martínez-Conejero JA, Alamá P et al. The accuracy and reproducibility of the endometrial Receptivity array is superior to histology as a diagnostic method for endometrial Receptivity. *Fertil Steril.* 2013; 99(2):508-17.

Díaz-Gimeno P, Ruiz-Alonso M, Sebastian-Leon P, Pellicer A, Valbuena D, Simón C. Window of implantation transcriptomic stratification reveals different endometrial subsignatures associated with live birth and biochemical pregnancy. *Fertil Steril.* 2017;108(4):703-710.e3.

ERA®

Endometrial
Receptivity Analysis

Referências

Findikli N, Gultomruk M, Boynukalin K, Kavrut M, Oral E, Bahceci M. Combinatorial use of Endometrial Receptivity Array (ERA) and PGT-A can improve the clinical outcome in cases with previous ART failures. *Hum Reprod.* 2018; 33(Suppl 1):84-85.

Hashimoto T, Koizumi M, Doshida M, Toya M, Sagara E, Oka N et al. Efficacy of the endometrial Receptivity Array for repeated implantation failure in Japan: A retrospective, two-centers study. *Reprod Med Biol.* 2017; 16(3):290-296.

Hromadová L, Tokareva I, Veselá K, Trávník P, Veselý J. Endometrial Receptivity Analysis - a tool to increase an implantation rate in assisted reproduction. *Ceska Gynekol.* 2019; 84(3): 177-183.

Jia Y, Sha Y, Qiu Z, Guo Y, Tan A, Huang Y. et al. Comparison of the Effectiveness of Endometrial Receptivity Analysis (ERA) to Guide Personalized Embryo Transfer with Conventional Frozen Embryo Transfer in 281 Chinese Women with Recurrent Implantation Failure. *Med Sci Monit.* 2022;28:e935634.

Kasahara Y, Hashimoto T, Yokomizo R, Takeshige Y, Yoshinaga K, Toya M et al. Evaluation of pregnancy outcomes of vitrified-warmen blastocyst transfer before and after Endometrial Receptivity Analysis in identical patients with Recurrent Implantation Failure. *Fertility & Reproduction.* 2020; 3(2):35-41.

Mahajan N. Endometrial receptivity array: Clinical application. *J Hum Reprod Sci.* 2015; 8(3):121-9.

Mahajan N, Kaur S, Ruiz-Alonso M. Window of implantation is significantly displaced in patients with adenomyosis with previous implantation failure as determined by endometrial receptivity assay. *Journal of human reproductive sciences.* 2018; 11(4):353.

Ota T, Funabiki M, Tada Y, Karita M, Hayashi T, Maeda K et al. The Reproductive Outcomes for the Infertile Patients with Recurrent Implantation Failures May Be Improved by Endometrial Receptivity Array Test. *Journal of Medical Cases.* 2019;10(5):138-140.

Patel JA, Patel AJ, Banker JM, Shah SI, Banker MR. Personalized Embryo Transfer Helps in Improving In vitro Fertilization/ICSI Outcomes in Patients with Recurrent Implantation Failure. *J Hum Reprod Sci.* 2019; 12(1):59-66.



Referências

Pasternak M, Schattman G, Rosenwaks Z. Pregnancy outcomes in patients undergoing embryo transfer in cycle following endometrial Receptivity assay. *Fertil Steril*. 2018; 110(4):e243-244.

Ruiz-Alonso M, Blesa D, Díaz-Gimeno P, Gómez E, Fernández-Sánchez M, Carranza F et al. The endometrial Receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril*. 2013; 100(3):818-24.

Ruiz-Alonso M, Galindo N, Pellicer A, Simón C. What a difference two days make: "personalized" embryo transfer (pET) paradigm: a case report and pilot study. *Hum Reprod*. 2014; 29(6):1244-7.

Simón C, Gómez C, Cabanillas S, Vladimirov I, Castillón G, Giles J et al. A 5-year multicentre randomized controlled trial comparing personalized, frozen and fresh blastocyst transfer in IVF. *Reproductive BioMedicine Online* 2020; 41(3):402-415.

Simrandeep K, Padmaja N. Why results of endometrial receptivity assay testing should not be discounted in recurrent implantation failure? *The Onco Fertility Journal*. 2019; 2(1):46-49.

Stankewicz T, Valbuena D, Ruiz-Alonso M. Inter-cycle consistency versus test compliance in endometrial receptivity analysis test. *J Assist Reprod Genet*. 2018; 35(7):1307-1308.

Taguchi S, Funabiki M, Hayashi T, Tada Y, Iwaki Y, Karita M et al. The implantation rate of Japanese infertile patients with repeated implantation failure can be improved by endometrial Receptivity array (ERA) test: A randomized controlled trial. *Fertil Steril*. 2018; 110(4):e90.

Valbuena D, Ruiz-Alonso M, Marin C, Soria J, Simon C, Garcia Velasco J. A. Endometrial thickness does not predict endometrial receptivity. In *HUMAN REPRODUCTION 2016 (ESHRE)*; 31:255-256.

EMMA

Endometrial Microbiome
Metagenomic Analysis

Apresentação

O Projeto Microbioma Humano (HMP) destaca a **importância dos diferentes microrganismos e seus genomas na saúde e no estudo das doenças humanas** (Human Microbiome Project Consortium, 2012).

Este estudo demonstrou a importância da identificação de desequilíbrios (disbiose) ou patógenos na microbiota para melhorar o manejo clínico em diferentes áreas da medicina.

Um estudo científico realizado pela Igenomix confirmou a **existência do microbioma endometrial** e mostrou que a disbiose da cavidade uterina está associada a resultados reprodutivos insatisfatórios em pacientes submetidas a tratamentos de reprodução assistida. Isso sugere que os desvios patogênicos nos níveis de bactérias endometriais desempenham um papel fundamental na infertilidade. (Moreno et al. J Obstet Gynecol, 2016).

EMMA

Endometrial Microbiome
Metagenomic Analysis

O EMMA (Endometrial Microbiome Metagenomic Analysis) pode determinar se o ambiente microbiano uterino é ideal para a implantação do embrião.

O EMMA fornece uma visão abrangente da composição bacteriana do endométrio, incluindo patógenos causadores de endometrite crônica (EC) que podem ser estudados especificamente no ALICE.

Indicações para o EMMA

As vantagens da análise do microbioma endometrial em pacientes com Falha Recorrente de Implantação (FRI) e Aborto Espontâneo Recorrente foram demonstradas (Moreno et al. Am J Obstet Gynecol, 2016). No entanto, o teste **EMMA pode ser benéfico para qualquer mulher que com desejo de engravidar**, analisando o DNA microbiano presente no ambiente que receberá o embrião.

EMMA

Endometrial Microbiome
Metagenomic Analysis

Metodologia

O **EMMA é um teste molecular** que fornece informações sobre a microbioma no tecido endometrial, analisando um painel personalizado de bactérias que inclui informações sobre as espécies de *Lactobacillus* mais frequentes e bactérias potencialmente patogênicas do trato reprodutivo (algumas delas relacionadas à endometrite crônica). Este método **baseia-se na detecção de DNA bacteriano por RT-PCR, o que resulta em diferentes perfis que têm sido relacionados ao sucesso da gravidez. A extração de DNA seguida pela amplificação específica do microrganismo permite quantificar as bactérias** específicas presentes em uma amostra.

Uma única biópsia endometrial contém tanto células endometriais quanto bacterianas. Ambos os tipos de células podem ser analisados por sequenciamento para fornecer informações sobre a receptividade e o microbioma endometrial. **O teste EMMA fornece uma visão microbiológica do endométrio com o objetivo de melhorar o manejo clínico das pacientes.**

EMMA

Endometrial Microbiome
Metagenomic Analysis

Interpretação de resultados e Laudo

O relatório EMMA apresenta 3 tabelas com os intervalos de referência e os valores obtidos para cada bactéria do painel, através da análise de uma amostra endometrial:



Igenomix
PART OF VITROLIFE GROUP

ENDOMETRIAL MICROBIOME METAGENOMIC ANALYSIS (EMMA)

Información de la paciente	Información de la muestra	Información de la clínica
NHC:	Fecha de recepción:	Clínica:
Nombre de la paciente:	Fecha/hora del informe:	Doctor:
Fecha de nacimiento:	Tipo de muestra:	
Alergia a antibióticos:	Tipo de ciclo:	
	Día del ciclo:	
	No. Biopsia:	
	Fecha de la biopsia:	

RESULTADOS DEL TEST EMMA:

LACTOBACILLUS			
BACTERIA	RESULTADO	VALOR	RANGO DE REFERENCIA
<i>Lactobacillus crispatus</i>	No detectada	N/A	≥ 3.71
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Detectada	4.26	≥ 3.60
<i>Lactobacillus iners</i>	No detectada	N/A	> 3.57
<i>Lactobacillus jensenii</i>	No detectada	N/A	≥ 3.70

PATÓGENOS DEL TRACTO REPRODUCTIVO			
BACTERIA	RESULTADO	VALOR	RANGO DE REFERENCIA
<i>Actinomyces israelii</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Atopobium vaginae</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Bacteroides fragilis</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Bifidobacterium spp</i>	No detectada	N/A	≤ 4.22
<i>Clostridium sordellii</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Dialister spp</i>	Detectada	3.62*	≤ 3.57
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Gardnerella vaginalis</i>	No detectada	N/A	≤ 3.72
<i>Haemophilus ducreyi</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Mobiluncus spp</i>	Detectada	3.77*	≤ 3.57
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Prevotella bivia</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Prevotella disiens</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Sneathia spp</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Treponema pallidum</i>	No detectada	N/A	absent

RESULTADOS DEL TEST ALICE:

PATÓGENOS RELACIONADOS CON ENDOMETRITIS CRÓNICA			
BACTERIA	RESULTADO	VALOR	RANGO DE REFERENCIA
<i>Chlamydia trachomatis</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Enterococcus faecalis</i>	No detectada	N/A	≤ 3.63
<i>Escherichia coli</i>	No detectada	N/A	≤ 3.58
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma genitalium</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma hominis</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Staphylococcus aureus</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Streptococcus agalactiae group B/ Streptococcus viridans</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	No detectada	N/A	≤ 3.58

*Valores fuera del rango de referencia.

RECOMENDACIÓN

Igenomix recomienda realizar una transferencia de embriones en un endometrio Lactobacillus-dominado para aumentar las probabilidades de lograr un embarazo exitoso (1,2,3). Según las guías estándares de Microbiología (4,5), en caso de posible infección por las bacterias, cuyo ADN ha sido detectado, el tratamiento sugerido sería amoxicilina 500mg/8h, vía oral durante 7 días. Para recolonizar posteriormente el tracto reproductivo, se sugiere el uso de probióticos vaginales compuestos por Lactobacillus durante el periodo de días establecido por el fabricante y en la dosis indicada por el mismo.

Asimismo, recomendamos el análisis de una nueva biopsia una vez completado dicho tratamiento, siguiendo las instrucciones del test para la toma de muestras.

Interpretação de resultados e Laudo

Os intervalos de referência para todas as bactérias incluídas no teste EMMA foram calculados a partir da análise de amostras de mulheres com nascidos vivos pertencentes a um estudo clínico que deu origem à publicação científica Moreno et al, Microbiome 2022.

Os resultados do teste EMMA são apresentados em 3 tabelas com as seguintes informações:

1) **Tabela 1: Quantidades de *Lactobacillus*** mais frequentemente encontradas no trato reprodutivo.

LACTOBACILLUS			
BACTERIA	RESULTADO	VALOR	RANGO DE REFERENCIA
<i>Lactobacillus crispatus</i>	No detectada	N/A	≥ 3.71
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Detectada	3.21*	≥ 3.60
<i>Lactobacillus iners</i>	No detectada	N/A	> 3.57
<i>Lactobacillus jensenii</i>	No detectada	N/A	≥ 3.70

*Valores fora do intervalo de referencia.

Interpretação de resultados e Laudo

Os valores fora do intervalo de referência são identificados em negrito e com um asterisco:

- **Se pelo menos uma das espécies de *Lactobacillus* estiver dentro do intervalo de referência, é considerado um resultado normal.**
- Os níveis de *Lactobacillus* serão considerados fora da faixa quando nenhuma das espécies analisadas for detectada ou forem detectadas com valores abaixo da faixa de referência estabelecida.

Interpretação de resultados e Laudo

2) Tabela 2: Patógenos comuns do trato reprodutivo com relevância clínica e não relacionados à endometrite crônica:

PATÓGENOS DEL TRACTO REPRODUCTIVO			
<i>Actinomyces israelii</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Atopobium vaginae</i>	Detectada	3.72*	≤ 3.57
<i>Bacteroides fragilis</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Bifidobacterium spp</i>	No detectada	N/A	≤ 4.22
<i>Clostridium sordelii</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Dialister spp</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Gardnerella vaginalis</i>	No detectada	N/A	≤ 3.72
<i>Haemophilus ducreyi</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Mobiluncus spp</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Prevotella bivia</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Prevotella disiens</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Sneathia spp</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Treponema pallidum</i>	No detectada	N/A	absent

Valores de patógenos **fora do intervalo de referência** são identificados em negrito com um asterisco.

Observação: Se algum dos patógenos associados a Infecções Sexualmente Transmissíveis (*Haemophilus ducreyi* e/ou *Treponema pallidum*) estiver fora do intervalo de referência, um teste confirmatório adicional será recomendado. As infecções causadas por estas bactérias são de notificação obrigatória às Autoridades Sanitárias locais nos diferentes países. Caso esses patógenos sejam identificados, é responsabilidade do médico declarar essas infecções.

*Valores fora do intervalo de referencia.

3) **Tabela 3:** patógenos mais frequentes que causam endometrite crônica (teste ALICE)**RESULTADOS DEL TEST ALICE:**

PATÓGENOS RELACIONADOS CON ENDOMETRITIS CRÓNICA			
BACTERIA	RESULTADO	VALOR	RANGO DE REFERENCIA
<i>Chlamydia trachomatis</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Enterococcus faecalis</i>	No detectada	N/A	≤ 3.63
<i>Escherichia coli</i>	No detectada	N/A	≤ 3.58
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma hominis</i>	Detectada	3.71*	≤ 3.57
<i>Myoplasma genitalium</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Staphylococcus aureus</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Streptococcus agalactiae</i> group B/ <i>Streptococcus viridans</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	No detectada	N/A	≤ 3.58

*Valores fora do intervalo de referencia.

Valores de patógenos **fora do intervalo de referência** são identificados em negrito com um asterisco.

Observação: Se algum dos patógenos associados a infecções sexualmente transmissíveis (*Chlamydia trachomatis* e/ou *Neisseria gonorrhoeae*) estiver fora do intervalo de referência, testes confirmatórios adicionais serão recomendados. As infecções causadas por estas bactérias são de notificação obrigatória às Autoridades Sanitárias locais nos diferentes países. Caso esses patógenos sejam identificados, é responsabilidade do médico declarar essas infecções.

Interpretação de resultados e Laudo

O relatório do EMMA também inclui uma recomendação (se necessário) para alcançar um trato reprodutivo dominado por *Lactobacillus*, aumentando as chances de alcançar a gravidez, conforme descrito na literatura científica. Da mesma forma, também é incluída uma seção com a interpretação de todos os resultados obtidos. Exemplos:

RECOMENDACIÓN

Igenomix recomienda realizar una transferencia de embriones en un endometrio *Lactobacillus*-dominado para aumentar las probabilidades de lograr un embarazo exitoso (1,2,3). Según las guías estándares de Microbiología (4,5), en caso de posible infección por las bacterias, cuyo ADN ha sido detectado, el tratamiento sugerido sería azitromicina 500mg/24h el primer día y 250mg/12h durante 4 días. Para recolonizar posteriormente el tracto reproductivo, se sugiere el uso de probióticos vaginales compuestos por *Lactobacillus* durante el periodo de días establecido por el fabricante y en la dosis indicada por el mismo.

Asimismo, recomendamos el análisis de una nueva biopsia una vez completado dicho tratamiento, siguiendo las instrucciones del test para la toma de muestras.

INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO DE EMMA:

No se ha detectado DNA de bacterias potencialmente patógenas del tracto reproductivo, no relacionadas con endometritis crónica, en la muestra endometrial.

No se ha detectado DNA de *Lactobacillus* en la muestra endometrial. *Lactobacillus* es la bacteria predominante en el tracto reproductivo femenino durante la edad reproductiva. No es necesario tener diferentes especies de *Lactobacillus*, pero al menos una de ellas debería estar dentro del rango establecido como valor normal.

INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO DE ALICE:

Se ha detectado ADN de bacterias potencialmente patógenas del tracto reproductivo relacionadas con endometritis crónica fuera del rango de referencia. Igenomix recomienda normalizar esos valores antes de realizar una transferencia embrionaria para aumentar las probabilidades de lograr un embarazo según lo descrito en la bibliografía científica (1,2,3).

Vantagens da análise molecular do microbioma vs cultura microbiana

A cultura microbiana é o método padrão utilizado para a avaliação da população bacteriana e infecções. No entanto, foi demonstrado que, dependendo da localização, entre 20% e 60% das bactérias não podem ser cultivadas. A avaliação molecular do microbioma permite a detecção de bactérias cultiváveis e não cultiváveis presentes na amostra.

	CULTIVO	MOLECULAR
BASEADO EM	Identificação de patógenos endometriais cultiváveis	O uso de RT-PCR para detectar todas as bactérias (incluindo aquelas de cultura difícil)
OBJETIVIDADE NOS RESULTADOS	SIM	SIM
ESPECIFICIDADE (DIRIGIDO ABT TTO)	SIM	SIM
DETECC. BACT. NÃO CULTIVÁVEL	NÃO	SIM
TEMPO DE RESULTADOS CURTOS	NÃO	SIM

EMMA

Endometrial Microbiome
Metagenomic Analysis

Referências

Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012; 486:207–14.

Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez-Almazan J, Alonso R, Alama P, Remohi J, Pellicer A, Ramon D, Simon C. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol.* 2016; 215:684-703.

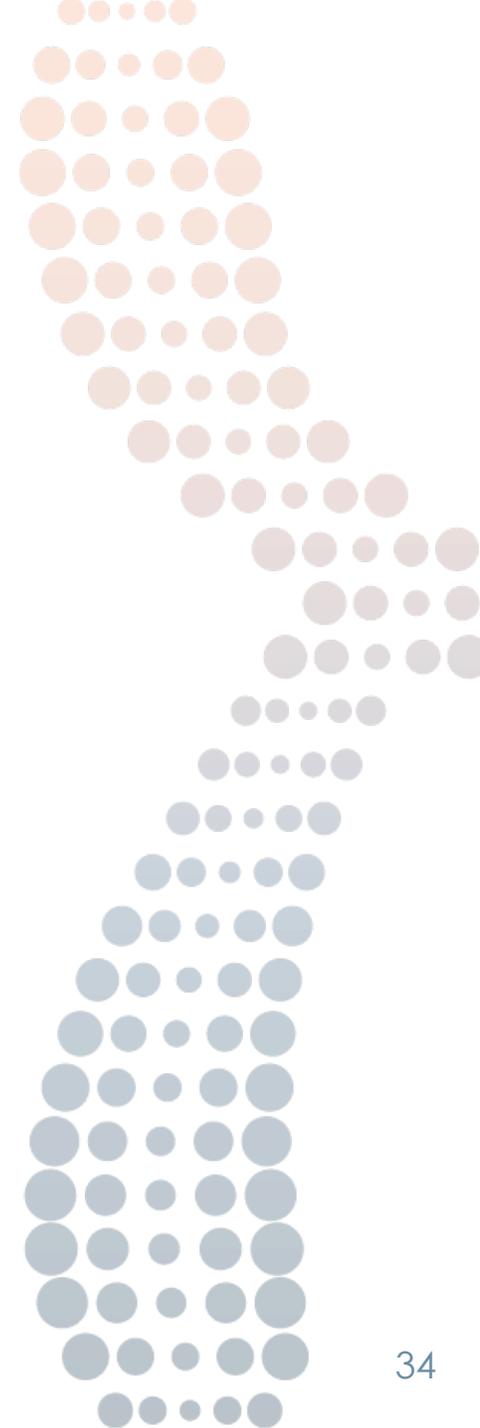
Inmaculada Moreno; Jason M Franasiak. Endometrial microbiota - new player in town. *Fertility and Sterility.* 2017;108, pp. 32 - 39.

Jason M Franasiak; Inmaculada Moreno; Carlos Simon. Microbiome in Embryonic Implantation and Implantation Failure. In: *Recurrent Implantation Failure, Etiologies and Clinical Management.* 2018; Chapter 11, pp. 175 - 195. Springer, Cham. ISBN 978-3-319-71966-5

Carlos Simon; Inmaculada Moreno. Deciphering the effect of reproductive tract microbiota on human reproduction. *Reproductive Medicine and Biology.* 2018;18 - 1, pp. 40 - 50.

Inmaculada Moreno; Carlos Simon. Relevance of assessing the uterine microbiota in infertility. *Fertility and Sterility.* 2018 Aug;110(3):337-343. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.04.041.

Garcia-Grau I, Simon C, Moreno I. Uterine microbiome-low biomass and high expectations. *Biol Reprod.* 2018 Dec 13; doi: 10.1093/biolre/ioy257. PMID: 30544156



EMMA

Endometrial Microbiome
Metagenomic Analysis

Inmaculada Moreno and Carlos Simon. Screening the Uterine Microbiome Prior to Embryo Transfer. In: How to Prepare the Endometrium to Maximize Implantation Rates and IVF Success Edited by G. Kovacs & L. Salamonsen; 2019. Chapter 6 (pp. 54-64). Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/9781108236263.007

Inmaculada Moreno, Iolanda Garcia-Grau, Carlos Simon. Microbiota and Pathogen Screening in the Female Reproductive Tract. In: Encyclopedia of Reproduction. 2018; Chapter 9, vol. 4, pp. 36 - 44. Academic Press: Elsevier. DOI: 10.1016/B978-0-12-801238-3.64730-X

Garcia-Grau, I., Perez-Villaroya, D., Bau, D., Gonzalez-Monfort, M., Vilella, F., Moreno, I., Simón, C. Taxonomical and functional assessment of the endometrial microbiota in a context of recurrent reproductive failure: a case report. Pathogens 2019,8, 205.

Moreno, I., Garcia-Grau, I., Bau, D., Perez-Villaroya, D., Gonzalez-Monfort, M., Vilella, F., Romero, R., Simón, C. The first glimpse of the endometrial microbiota in early pregnancy. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2020 Apr;222(4):296-305.

Moreno, I., Garcia-Grau, I., Perez-Villaroya, D., Gonzalez-Monfort, M., Bahçeci, M., Barrionuevo, M.J., Taguchi, S., Puente, E., Dimattina, M., Lim, M.W., Meneghini, G., Aubuchon, M., Leondires, M., Iquierdo, A., Perez Olgiati, M., Chavez, A., Seetharm K., Bau, D., Gomez, C., Valbuena, D., Vilella, F., Simón, C. Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in fertile patients. Microbiome. 2022 Jan 4;10(1):1. doi: 10.1186/s40168-021-01184-w

ALICE

Analysis of Infectious
Chronic Endometritis

ALICE

Analysis of Infectious
Chronic Endometritis

Apresentação

O melhor exemplo de uma patologia causada por uma microbiota anormal é a Endometrite Crônica (EC). **A EC é uma inflamação persistente do endométrio, causada por uma infecção uterina causada por bactérias patogênicas.** Geralmente é assintomática e os métodos usuais de diagnóstico (histologia, histeroscopia e cultura microbiana) são insatisfatórios, de modo que a doença muitas vezes é pouco investigada, embora acometa aproximadamente 30% das pacientes inférteis, podendo chegar a 66% das pacientes com Falha Recorrente de Implantação e Aborto Espontâneo Recorrente.

Um estudo realizado pela Igenomix mostrou que a análise molecular da EC é um método diagnóstico confiável em comparação com os métodos clássicos (*Moreno et al. Am J Obstet Gynecol, 2018*). **Esta nova abordagem deve melhorar a detecção desta patologia endometrial, muitas vezes não diagnosticada, identificando microorganismos específicos e permitindo um tratamento guiado e personalizado.**

ALICE

Analysis of Infectious
Chronic Endometritis

ALICE (Analysis of Infectious Chronic Endometritis), detecta as bactérias mais frequentes que causam endometrite crônica. Isso amplia o serviço oferecido pela Igenomix, para avaliar o endométrio em nível microbiológico, com o objetivo de melhorar o manejo clínico das pacientes com essa doença silenciosa.

Indicações para o teste ALICE

O teste ALICE é benéfico para qualquer mulher desejando engravidar, analisando o ambiente microbiológico que o embrião irá encontrar no momento da implantação, mas é especialmente indicado para pacientes com histórico de Falha Recorrente de Implantação e Aborto Espontâneo Recorrente, uma vez que a EC está ligada a esses eventos.

ALICE

Analysis of Infectious
Chronic Endometritis

Metodologia

O teste ALICE usa RT-PCR para fornecer triagem molecular para a EC no tecido endometrial, analisando as bactérias mais frequentemente associadas à doença (*Streptococcus agalactiae* (grupo B) e *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*). A tecnologia utilizada para o efeito baseia-se na extração de DNA seguida de uma amplificação específica do microrganismo que permite quantificar a bactéria alvo presente numa amostra. Depois de receber a biópsia endometrial e extrair o material genético (DNA), os requisitos mínimos de qualidade da amostra são avaliados antes de utilizar as técnicas de detecção.

Uma única amostra endometrial contém células endometriais e bacterianas. Estas podem ser analisados por sequenciamento para prever a receptividade endometrial e por RT-PCR para estudar os patógenos mencionados.

ALICE

Analysis of Infectious
Chronic Endometritis

Interpretação de resultados e Laudo

O relatório ALICE mostra uma tabela com os intervalos de referência e os valores obtidos para cada bactéria do painel, obtidos a partir da análise de uma amostra endometrial:


PART OF VITROLIFE GROUP

ANALYSIS OF INFECTIOUS CHRONIC ENDOMETRITIS (ALICE)

Información de la paciente	Información de la muestra	Información de la clínica
NHC:	Fecha de recepción:	Clínica:
Nombre de la paciente:	Fecha/hora del informe:	Doctor:
Fecha de nacimiento:	Tipo de muestra:	
Alergia a antibióticos:	Tipo de ciclo:	
	Día del ciclo:	
	No. Biopsia:	
	Fecha de la biopsia:	

RESULTADOS DEL TEST ALICE:

PATÓGENOS RELACIONADOS CON ENDOMETRITIS CRÓNICA			
BACTERIA	RESULTADO	VALOR	RANGO DE REFERENCIA
<i>Chlamydia trachomatis</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Enterococcus faecalis</i>	No detectada	N/A	≤ 3.63
<i>Escherichia coli</i>	No detectada	N/A	≤ 3.58
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma genitalium</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma hominis</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Staphylococcus aureus</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Streptococcus agalactiae</i> group B/ <i>Streptococcus viridans</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	No detectada	N/A	≤ 3.58

RECOMENDACIÓN

No recomendamos realizar ninguna intervención microbiológica.

INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO DE ALICE

No se ha detectado DNA de bacterias potencialmente patógenas, relacionadas con endometritis crónica, en la muestra endometrial.

COMENTARIOS ADICIONALES

Ninguno

ALICE

Analysis of Infectious
Chronic Endometritis

Interpretação de resultados e Laudo

Valores de patógenos **fora do intervalo de referência** são identificados em negrito com um asterisco.

RESULTADOS DEL TEST ALICE:

PATÓGENOS RELACIONADOS CON ENDOMETRITIS CRÓNICA			
BACTERIA	RESULTADO	VALOR	RANGO DE REFERENCIA
<i>Chlamydia trachomatis</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Enterococcus faecalis</i>	No detectada	N/A	≤ 3.63
<i>Escherichia coli</i>	No detectada	N/A	≤ 3.58
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma genitalium</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma hominis</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	No detectada	N/A	absent
<i>Staphylococcus aureus</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Streptococcus agalactiae group B/ Streptococcus viridans</i>	No detectada	N/A	≤ 3.57
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	No detectada	N/A	≤ 3.58

*Valores fora do intervalo de referencia.

Observação: Se algum dos patógenos associados a infecções sexualmente transmissíveis (*Chlamydia trachomatis* e/ou *Neisseria gonorrhoeae*) estiver fora do intervalo de referência, testes confirmatórios adicionais serão recomendados. As infecções causadas por estas bactérias são de notificação obrigatória às Autoridades Sanitárias locais nos diferentes países. Caso esses patógenos sejam identificados, é responsabilidade do médico declarar essas infecções.

ALICE

Analysis of Infectious
Chronic Endometritis

Interpretação de resultados e Laudo

O relatório ALICE também apresenta uma recomendação (se necessário) para aumentar as chances de uma gravidez saudável, conforme descrito na literatura científica, bem como uma interpretação do resultado obtido.

RECOMENDACIÓN

Igenomix recomienda realizar una transferencia de embriones en un endometrio Lactobacillus-dominado para aumentar las probabilidades de lograr un embarazo exitoso (1,2,3). Según las guías estándares de Microbiología (4,5), en caso de posible infección por las bacterias, cuyo ADN ha sido detectado, el tratamiento sugerido sería amoxicilina 500 mg/8h, vía oral durante 7 días. Para recolonizar posteriormente el tracto reproductivo, se sugiere el uso de probióticos vaginales compuestos por Lactobacillus durante el periodo de días establecido por el fabricante y en la dosis indicada por el mismo.

Asimismo, recomendamos el análisis de una nueva biopsia una vez completado dicho tratamiento, siguiendo las instrucciones del test para la toma de muestras.

INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO DE ALICE:

Se ha detectado ADN de bacterias potencialmente patógenas del tracto reproductivo relacionadas con endometritis crónica fuera del rango de referencia. Igenomix recomienda normalizar esos valores antes de realizar una transferencia embrionaria para aumentar las probabilidades de lograr un embarazo según lo descrito en la bibliografía científica (1,2,3).

En caso de prescribir un tratamiento, recomendamos analizar una nueva biopsia una vez terminado para confirmar la normalización de los valores de las bacterias patógenas. La nueva muestra debe tomarse siguiendo las indicaciones del test.

COMENTARIOS ADICIONALES

Ninguno.

Nota: os números entre parênteses no texto do relatório referem-se às publicações científicas indicadas no final do relatório.

ALICE

Analysis of Infectious
Chronic Endometritis

Vantagens da detecção de patógenos por análise molecular da microbiota vs histologia, histeroscopia e cultura microbiana.

Os métodos tradicionais para a detecção de EC são, histologia, histeroscopia e cultura microbiana. No entanto, **esses três métodos clássicos fornecem resultados inconclusivos ou confusos em 80% dos casos**. Enquanto a histologia geralmente subdiagnostica a EC, a histeroscopia muitas vezes superdiagnostica a doença. Esses métodos não são capazes de identificar o patógeno causador, de modo que o tratamento é baseado em antibióticos de amplo espectro.

A cultura microbiana é capaz de isolar o patógeno causador, no entanto, estima-se que entre 20% e 60% das bactérias não possam ser cultivadas em condições laboratoriais padrão.

A microbiologia molecular obtém resultados equivalentes aos obtidos com a combinação dos três métodos em conjunto (histologia, histeroscopia e cultura microbiana) (Moreno et al., Am J Obstet Gynecol, 2018).

ALICE

Analysis of Infectious
Chronic Endometritis

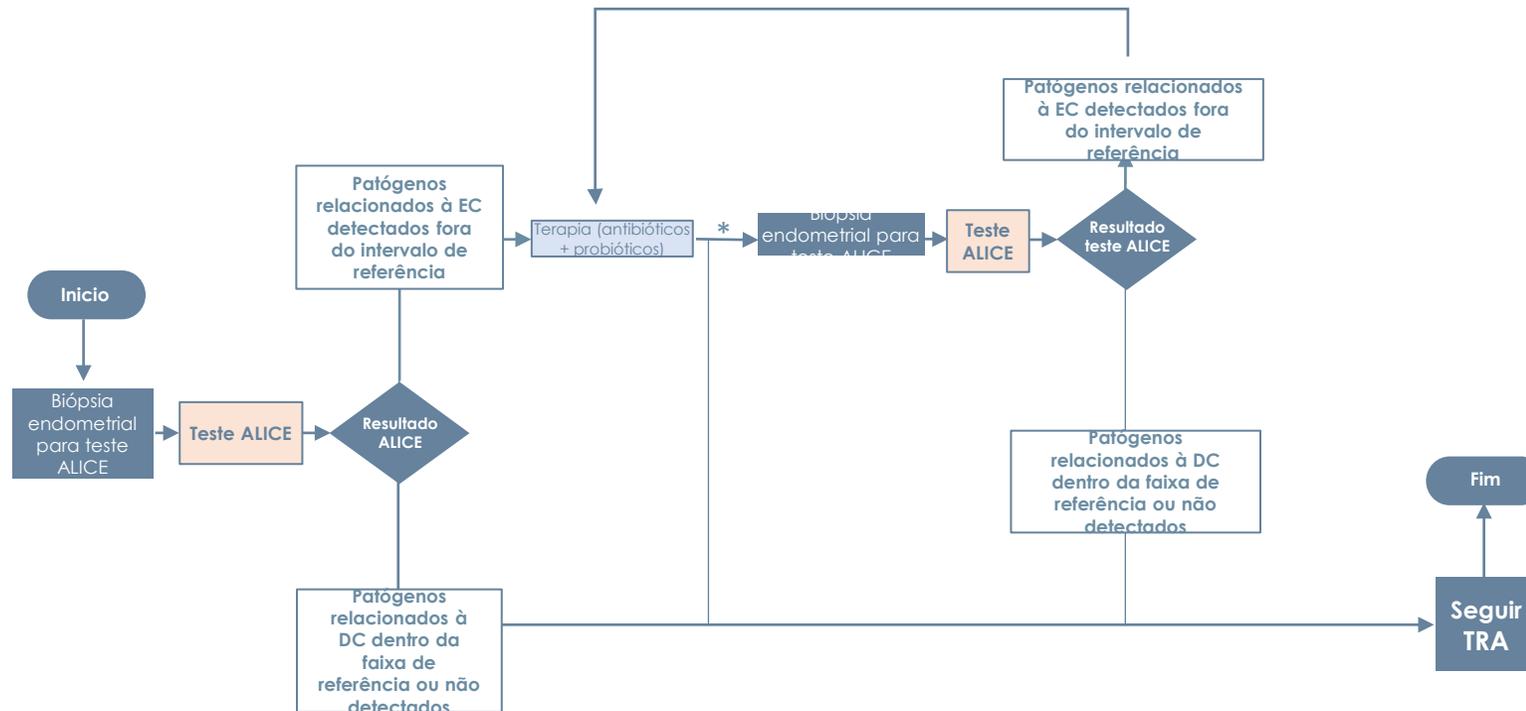
Vantagens da detecção de patógenos por análise molecular da microbiota vs histologia, histeroscopia e cultura microbiana.

	HISTOLOGIA	HISTEROSCOPIA	CULTIVO	MOLECULAR
BASEADO EM	Identificação de plasmócitos CD138+ no estroma endometrial	Identificação de edema estromal, hiperemia epitelial focal ou difusa e/ou presença de micropólipos	Identificação de patógenos endometriais cultiváveis	Usando RT-PCR para detectar o DNA de todas as bactérias (mesmo as difíceis de cultivar)
OBJETIVIDADE NOS RESULTADOS	NÃO	NÃO	SIM	SIM
ESPECÍFICO (Tfo AB dirigido)	NÃO	NÃO	SIM	SIM
DETECC. BACT NÃO CULTIVÁVEL	NÃO	NÃO	NÃO	SIM
TEMPO DE RESULTADOS CURTOS	NÃO	SIM	NÃO	SIM

ALICE

Analysis of Infectious
Chronic Endometritis

ALICE | Fluxo de decisão



* Após o tratamento, deve-se decidir se procedemos diretamente à transferência do embrião ou repetimos o teste EMMA para garantir a eficácia do tratamento.

ALICE

Analysis of Infectious
Chronic Endometritis

Referências

Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Lepera A, Alfonso R, Indraccolo U, Marocchella S, Greco P, Resta L. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum Reprod*, 2015; 30(2):323-30.

Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Pinto V, Marinaccio M, Indraccolo U, De Ziegler D, Resta L. Chronic endometritis due to common bacteria is prevalent in women with recurrent miscarriage as confirmed by improved pregnancy outcome after antibiotic treatment. *Reprod Sci* 2014; 21(5):640-7.

Moreno I, C. Simón. Microbiological diagnosis: the human endometrial microbiome—Endometritis. In: *The Endometrial Factor, A Reproductive Precision Medicine Approach*. Edited by Simón C and Giudice L. Taylor & Francis Group; 2017. Chapter 5. DOI: 10.1201/9781315151472

Moreno I, Cicinelli E, Garcia-Grau I, Gonzalez M, Bau D, Vilella F, De Ziegler D, Resta L, Valbuena D, Simon C. The diagnosis of chronic endometritis in infertile asymptomatic women: a comparative study of histology, microbial cultures, hysteroscopy, and molecular microbiology. *Am J Obstet Gynecol*. 2018; 218(6):602.e1-602.e16

Biópsia Endometrial



Requisitos para realizar uma biópsia endometrial

- A biópsia endometrial para testes ERA, EMMA, ALICE ou EndomeTRIO deve ser feita seguindo todas as indicações dadas neste manual.
- A biópsia endometrial pode ser realizada no consultório do ginecologista, sem a necessidade de anestesia. **Se a coleta for durante uma histeroscopia, só pode ser realizada se a referida histeroscopia for observacional e não envolver qualquer intervenção.** Recomenda-se fazer a biópsia no início do procedimento, antes de distender a cavidade uterina e sem tratamento ou antibiótico antes, durante ou após o procedimento.
- **Para os testes EMMA/ALICE/EndomeTRIO, os antibióticos devem ser evitados por pelo menos 7 dias antes da coleta da amostra, bem como durante e após a coleta, até que os resultados dos testes sejam finalizados e entregues.** Isso garante que o microbioma no dia da coleta seja representativo do microbioma real do paciente no momento em que o resultado é recebido. As informações **sobre os medicamentos prescritos à paciente que possam alterar o seu estado imunitário ou microbiota devem também ser incluídas no formulário de solicitação do teste**, incluindo todos os dados relativos à tratamentos de antibióticos durante o mês anterior à biópsia (princípio ativo, via de administração, dose e duração do tratamento).



Dia de biópsia endometrial para ERA isoladamente ou em conjunto com EMMA/ALICE

Somente uma única biópsia endometrial é necessária, tanto para analisar apenas um dos testes, quanto para realizar um EndomeTRIO (resultado para ERA, EMMA e ALICE). A biópsia endometrial deve ser realizada seguindo as instruções descritas abaixo:

- 1. O diagnóstico ERA é válido para o tipo de ciclo em que o teste é realizado**, de modo que o embrião deve ser transferido no mesmo tipo de ciclo e janela de implantação personalizada no qual foi obtido um diagnóstico 'Receptivo'. Portanto, o tipo de ciclo de biópsia deve corresponder ao tipo de ciclo planejado para a transferência de embriões.
- 2. Tipo de ciclo:** Terapia de reposição hormonal (HRT) (P+5) ou ciclo natural (hCG+7/LH+7/Ovulação+6), conforme explicado abaixo. Nota: Se os embriões do dia 3 forem transferidos, a biópsia também deve ser realizada em P+5 ou hCG+7/LH+7/Ovulação+6, pois o teste ERA avalia o endométrio no momento da implantação. Desta forma, se tiver um resultado receptivo em P+5, transferirá um blastocisto em P+5 ou um embrião de 3 dias antes, ou seja, em P+3.



EndomeTRIO

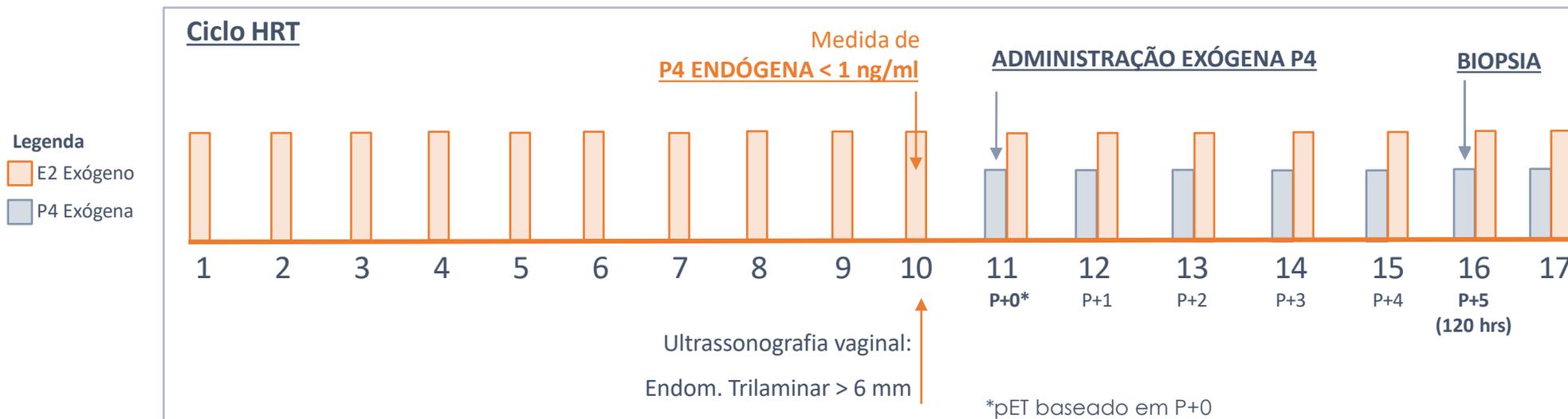
The endometrium
matters
by Igenomix

2a) Ciclo de Terapia de Reposição Hormonal (HRT): Consiste no tratamento com Estrogênios e Progesterona durante o preparo do endométrio, de forma controlada e semelhante à como acontece em um ciclo natural, para a transferência embrionária, utilizando o protocolo de rotina da clínica ou nosso protocolo padrão:

A paciente inicia o preparo com estradiol a partir do 1º ou 2º dia do ciclo menstrual. A avaliação por ultrassonográfica é feita 7 a 10 dias depois. Tenha em conta que, não recomendamos que a terapia com estradiol dure mais de 17 dias antes do início da ingestão de progesterona.

Iniciar a progesterona (P4) quando um endométrio trilaminar >6 mm com um P4 sérico < 1 ng/ml for atingido (dentro de 24 horas antes do início da P4 exógena), continuando com o tratamento com estradiol. O dia em que o tratamento com P4 é iniciado é chamado de P + 0, e a biópsia é realizada no dia P + 5, após 5 dias completos (120 horas desde a primeira injeção até a biópsia).

Protocolo de rotina da HRT





EndomeTRIO

The endometrium
matters
by Igenomix

Em um ciclo HRT é muito importante certificar-se de que não haja ovulação e portanto o nível de P4 endógena sempre deve ser medido dentro de 24 horas prévias à primeira dose de P4 exógena. O nível deve ser $<1\text{ng/ml}$, caso contrário, recomenda-se cancelar o ciclo e iniciar um novo. **Se a P4 endógena não for adequadamente controlada, pode ocorrer um resultado artefactual que pode afetar a precisão e a reprodutibilidade do teste ERA.**

A recomendação para a transferência personalizada de embriões (pET) deve basear-se no tempo de exposição à **progesterona** (ou seja, o ponto de referência de início deve ser de acordo com a primeira dose de progesterona exógena: P+0).



EndomeTRIO

The endometrium
matters
by Igenomix

2b) **Ciclo natural:** para Ciclos Naturais sempre é preciso ter uma data de referência com respeito ao momento da ovulação. Podendo ser uma das três opções seguintes:

i. Data do hCG: o hCG é administrado de acordo com parâmetros de rotina em um ciclo natural (tamanho do folículo >17 mm). O dia de administração de hCG é considerado como hCG+0 e a biópsia será realizada 7 dias depois, em hCG+7 (168 horas após a injeção de hCG).

ii. Data de pico do LH: Para detectar corretamente o pico de LH, os níveis de LH na urina ou no sangue devem ser medidos por vários dias seguidos (a partir do dia 9 em um ciclo regular) obtendo ao menos um resultado positivo ladeado por dois negativos. O dia do pico de LH é considerado LH+0 e a biópsia será realizada 7 dias depois, em LH+7.

iii. Data da ovulação: De forma natural, A ovulação induz a produção de estrogênio e progesterona. O dia da ovulação determinado por ultrassonografia será considerado como Ov+0 e a biópsia será coletada 6 dias depois, em Ov+6.



EndomeTRIO

The endometrium
matters
by Igenomix

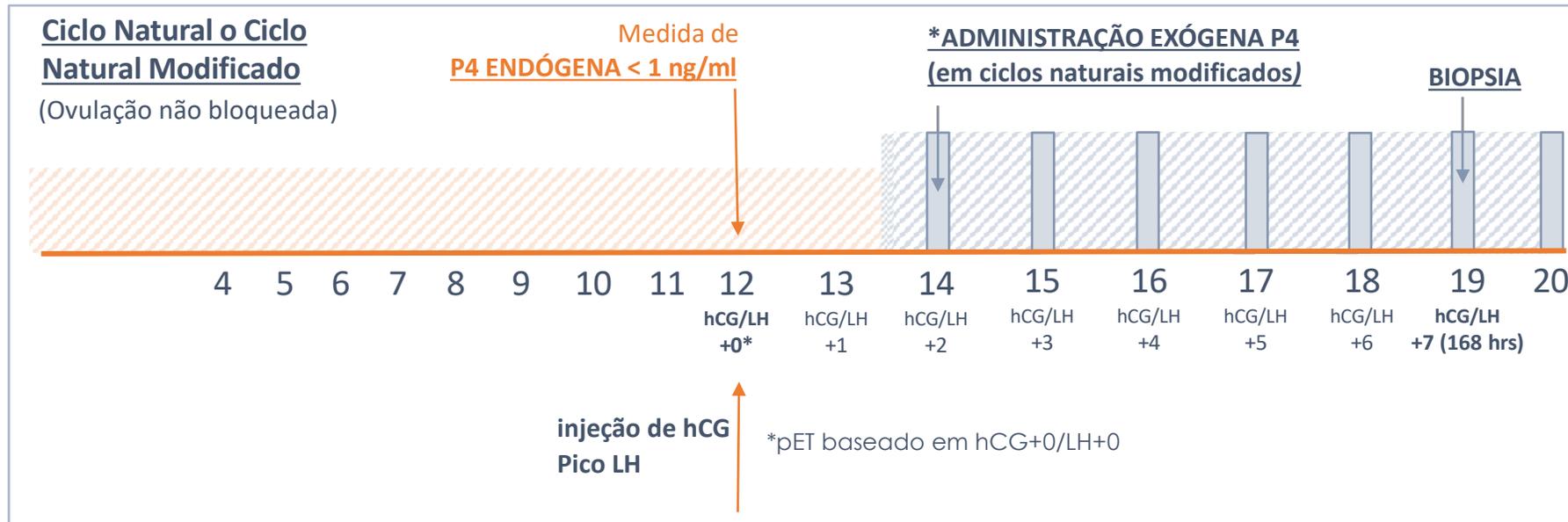
Em ciclos naturais se pode administrar suplemento de progesterona, sendo chamado então Ciclos Naturais Modificados. Nesses ciclos a data de referência para recomendação da pET continua a ser a data hCG/LH/Ovulação. A suplementação com progesterona pode iniciar desde LH+1/hCG+1/Ov+0, ou no momento que se inicia a prática clínica em seu centro (nunca antes do hCG ou o pico de LH). Tendo em conta que o momento que se iniciou o suplemento de progesterona, deve ser replicado também para o ciclo de transferência (ou seja, se uma paciente inicia a suplementação de progesterona em hCG+2 para o ciclo de biópsia, deve iniciar também em hCG+2 para o ciclo de transferência, independentemente do resultado obtido).



Protocolo de Rotina: Ciclo Natural

Legenda

- P4 Exógena
- ▨ E2 endógeno
- ▨ P4 Endógena





EndomeTRIO

The endometrium
matters
by Igenomix

Para garantir que não haja escape de progesterona endógena no momento da injeção de hCG/pico De LH, o **nível de P4 endógena sempre deve medido em hCG+0/LH+0 e deve ser <1 ng/ml**; do contrário a recomendação seria cancelar o ciclo e iniciar um novo ciclo. **Se não controlado adequadamente a P4 endógena, pode ser produzido um resultado artefactual que possa afetar a precisão e a reprodutibilidade do teste ERA.**

A transferência personalizada de embriões (pET) será baseada na data de hCG/LH/ovulação. Se essas informações não estiverem disponíveis, nossa recomendação é cancelar a análise. O teste ERA não pode ser realizado sem esta data de referência, uma vez que o resultado não seria reprodutível.



Dia de biópsia endometrial para EMMA e/ou ALICE (sem ERA)

Para o teste EMMA/ALICE, a paciente deve **evitar antibióticos pelo menos 7 dias antes da biópsia, durante o procedimento e após o procedimento até que a análise seja finalizada e resultados entregues.**

As biópsias endometriais para os testes EMMA&ALICE devem ser sempre coletadas na fase secretora, pois é o período de máxima estabilidade da microbiota do trato reprodutivo devido à influência de estrogênio e progesterona. **Uma amostra colhida fora desta fase poderia nos dar um resultado não confiável.**

Se apenas um teste EMMA ou ALICE for solicitado, a biópsia endometrial pode ser feita seguindo o mesmo protocolo que para ERA. Se o protocolo ERA não for seguido, deve ser realizado do seguinte método:

a) **Ciclos de HRT:** as amostras devem ser colhidas durante os dias de utilização de progesterona (a partir de P+1), mas de preferência no dia P + 5.



EndomeTRIO

The endometrium
matters
by Igenomix

b) Ciclo Natural ou Natural Modificado: O biópsia deve ser realizada entre os dias 15 e 25 do ciclo menstrual se a paciente tem ciclos regulares (entre 26 e 32 dias).

Para pacientes com ciclos não regulares, recomendamos a realização de um ciclo de HRT ou monitorar a ovulação.

Nesse caso, a amostra pode ser coletada durante os dias:

- LH+2 a LH+12 (ambos incluídos)
- hCG+2 a hCG+12 (ambos incluídos)
- dias Ov+1 a Ov+11 (ambos incluídos)

c) Pílulas Anticoncepcionais Orais: válido apenas para pílulas orais com determinadas composições. **Sempre confirme com nossos especialistas clínicos antes de agendar a biópsia.** A biópsia deve ser realizada entre os dias 14 a 21 da ingestão de pílulas ativas (quando o paciente toma pílulas placebo), ou a partir de 14 se o paciente realizar uma ingestão contínua (sem semana de folga ou sem ingestão de pílulas placebo).



Dia da Biópsia Endometrial: Tabela Resumida

Tipo ciclo	ERA	EMMA&ALICE	Comentários
HRT	P+5 (120hrs)	P+1 em diante	
Natural ou Natural Modificado	hCG+7 (168 hrs) LH+7 (168 hrs) Ov+6 (144 hrs)	hCG+2 a hCG+12 LH+2 a LH+12 Ov+1 a Ov+11 Dias de ciclo 15 a 25 (somente para pacientes com ciclos regulares)	Para pacientes com ciclos não regulares que solicitam testes EMMA/AICE, recomendamos a realização de um ciclo de HRT ou monitoramento da ovulação. Para cada período, a primeira e a última data são incluídas.
Durante ACOs	NÃO	Dias 14 - 21 ingestão de comprimidos ativos (se o paciente tomar pílulas placebo) Dia 14 em diante (ingestão contínua de comprimidos ativos)	Nem todos os ACOs são adequados para testes EMMA/AICE. Recomendamos consultar a adequação do mesmo antes de agendar a biópsia. Você pode fazer isso escrevendo um e-mail para labbrasil@igenomix.com Para cada período, a primeira e a última data são incluídas.



Dia da Biópsia Endometrial: Protocolos Inválidos

Tipo de ciclo	Dia de ciclo	ERA	EMMA&ALICE	Comentários
Ciclo de estimulação ovariana	NA	NÃO	NÃO	As amostras não podem ser coletadas em um ciclo de estimulação, pois as condições não podem ser replicadas durante o ciclo pET e o microbioma não é representativo porque os níveis hormonais não são comparáveis aos de um ciclo Natural ou HRT.
Biópsia durante a fase folicular	NA	NÃO	NÃO	As amostras só devem ser coletadas durante a fase secretora para garantir a estabilidade do microbioma.



Protocolo de biópsia endometrial

Uma única biópsia endometrial é suficiente para um teste individual ou para o EndomeTRIO (ERA, EMMA ou ALICE). Igenomix irá fornecer um criotubo para cada biópsia. O criotubo contém 1,5 ml de uma solução límpida para preservar o material genético.



1. **Limpe o colo do útero com gaze estéril e seca** (evite usar betadina) e não introduza fluido no endométrio.
2. **Rotule o tubo com:** Iniciais do nome do paciente e a data de nascimento.
3. **A biópsia endometrial deve ser retirada do fundo uterino usando um cateter de Pipelle** (Genética, Hamont Achel, Bélgica) ou similar.



EndomeTRIO

The endometrium
matters
by Igenomix

- 4. Coletar para o menos 70 mg de tecido (Correspondente a uma peça cúbica de tecido** com lados de aproximadamente 7mm). O volume da amostra não deve superar o linha branca marcada no criotubo (correspondente 1/3 do volume total do criotubo; ver imagem). Para quantidades maior de tecido, não haverá solução suficiente para estabilização da amostra no criotubo podendo ocasionar a degradação do RNA.
- 5. Certifique-se de que a amostra realmente contenha tecido endometrial, não apenas sangue ou muco.** Quantidades excessivas de sangramento ou muco também devem ser evitadas.
- 6. Evitar o contato da amostra com qualquer solução que não seja a solução estabilizadora do criotubo (não lave a amostra).**
- 7. Uma vez realizada a biópsia, a amostra deve ser transferida imediatamente para o criotubo fornecido, evitando tocar o tubo com a pipelle, e deve-se agitar vigorosamente por pelo menos 10 segundos** (para garantir que a solução penetre no tecido e estabilize o RNA na amostra).



EndomeTRIO

The endometrium
matters
by Igenomix

8. O criotubo que contém a amostra deve ser imediatamente transferido para uma geladeira (4-8 ° C / 39-46 ° F) e armazenado lá por pelo menos 4 horas (não coloque no congelador antes de completar estas 4 horas).

9. Após a refrigeração durante pelo menos 4 horas, as amostras podem ser enviadas para a Igenomix à temperatura ambiente. Se as amostras forem expostas a temperaturas >35 ° C / 95 ° F, recomendamos o envio de amostras com uma embalagem de gelo gel. As entregas à temperatura ambiente nunca devem exceder 5 dias.

10. As amostras também podem ser armazenadas em um refrigerador por até 3 semanas ou congeladas a -20°C/-4°F (após as primeiras 4 horas a 4-8°C/39-46°F) se não forem enviadas para a Igenomix imediatamente. No entanto, no caso de um teste EMMA, ALICE, ou EndomeTRIO, a recomendação é processar a amostra o mais rápido possível após a coleta, pois o microbioma pode flutuar ao longo do tempo. Não recomendamos atrasar o envio de amostras por mais de uma semana.



EndomeTRIO

The endometrium
matters
by Igenomix

Logística

Amostras e documentação:

- Leia e preencha devidamente as informações exigidas no "Formulário de Solicitação do Teste" e no "Termo de Consentimento Informado".
- Coloque o criotubo fornecido pela Igenomix, que já contém a biópsia endometrial, dentro do recipiente plástico no kit e feche-o. Insira o recipiente na caixa do kit e o no envelope de plástico de retorno.
- Inclua o documento " Formulário de Solicitação do Teste e Termo de Consentimento" dentro do envelope de devolução.
- No caso de envios de fora do Brasil, certifique-se de que inclui a etiqueta "UN3373" no envelope de devolução. Esta etiqueta está incluída no kit fornecido. Por fim, cole a guia de remessa fornecida pelo Suporte ao Cliente no envelope de devolução.



EndomeTRIO

The endometrium
matters
by Igenomix

- Os envios à temperatura ambiente não devem exceder 5 dias para garantir a ação estabilizadora do líquido do criotubo. Quando 35 ° C é excedido, recomenda-se adicionar um gelo gel à embalagem. Em caso de dúvida, entre em contato com nosso departamento de Atendimento ao Cliente (atendimentoaocliente@igenomix.com)

Envio:

Por favor, informe-nos por e-mail de cada remessa (labbrasil@igenomix.com), indicando o número de amostras e seu histórico médico ou número de referência.

Você pode usar uma empresa de correio de sua preferência, ou se desejar, podemos informá-lo sobre o nosso serviço de coleta.

Uma visão completa da saúde endometrial



*pET: transferência personalizada de embriões



Lista de abreviaturas

ACOs	Pílulas Anticoncepcionais Orais
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ALICE	Análise da Endometrite Infecciosa Crônica
RNA	Ácido Ribonucleico
E2	Estrógenos
EC	Endometrite crônica
EMMA	Análise Metagenômica do Microbioma Endometrial
ERA	Análise da Receptividade Endometrial
hCG	Gonodotrofina coriônica humana
HMP	Projeto de Microbioma Humano
IMC	Índice de massa corporal
LH	Hormônio Luteinizante
NGS	Sequenciamento de nova geração
Ov	Ovulação
P4	Progesterona
pET	Transferencia embrionaria personalizada
FRI	Falhas recorrentes de implantação
AR	Aborto Recorrente
RT-PCR	Reação em cadeia polimerase em tempo real
HRT	Terapia de Reposição Hormonal
WOI	Janela de Implantação

Igenomix[®]
PART OF VITROLIFE GROUP™

