

Manual EndomeTRIO

Uma visão completa
da saúde endometrial

Sumário

ERA – Endometrial Receptivity Analysis - 4

- Apresentação - 5
- Indicações para o ERA - 6
- Metodologia – 7
- Interpretação dos resultados - 9
- Exemplo laudo ERA - 11
- Reprodutibilidade do teste - 12
- Fluxo de decisão ERA - 13
- Referências - 14

EMMA – Endometrial Microbiome Metagenomic Analysis - 17

- Apresentação - 18
- Indicações para o EMMA - 19
- Metodologia - 19
- Exemplo laudo EMMA - 20
- Benefícios da análise molecular da microbiota vs cultura microbiana - 25
- Fluxo de decisão EMMA - 26
- Referências - 27

ALICE – Analysis of Infectious Chronic Endometritis - 29

- Apresentação - 30
- Indicações para o ALICE - 30
- Metodologia - 31
- Exemplo laudo ALICE - 32
- Benefícios da análise molecular da microbiota vs histologia, histeroscopia e cultura microbiana – 34
- Fluxo de decisão ALICE- 35
- Referências- 36

Biópsia endometrial- 37

Requisitos para fazer uma biópsia endometrial - 38

Dia da biópsia endometrial para ERA sozinho ou associado ao EMMA/ALICE - 39

HRT: protocolo de rotina - 40

Ciclo natural: protocolo de rotina - 42

Dia da biópsia endometrial para EMMA e/ou ALICE (sem ERA) - 43

Dia da biópsia endometrial: tabela resumida - 44

Dia da biópsia endometrial: protocolos inválidos - 45

Protocolo de biópsia endometrial - 46

Logística - 48

Uma visão completa da saúde endometrial - 49

Lista de abreviaturas - 50



ERA[®]

Endometrial
Receptivity Analysis

Apresentação

O fator endometrial desempenha um papel fundamental na implantação do embrião. Além de avaliar malformações ou anomalias na cavidade uterina, também é importante determinar quando o endométrio é receptivo, ou seja, quando começa a janela de implantação (WOI). Pacientes com falha de implantação recorrente (RIF) podem ter uma janela de implantação deslocada, levando à transferência de embriões para um endométrio não receptivo (Ruiz-Alonso et al. Fertil Steril, 2013).

A assinatura da expressão gênica endometrial permite a avaliação da receptividade endometrial, identificando uma janela personalizada de implantação para cada paciente. Essa análise é realizada por 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) para identificar a janela de implantação no ciclo endometrial, possibilitando uma transferência embrionária personalizada (pET).

Pesquisas realizadas pela Igenomix têm demonstrado que a sincronização entre um embrião pronto para implantação e um endométrio receptivo aumenta as chances de sucesso em tratamentos 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).

Outros grupos também publicaram resultados semelhantes de seus próprios pacientes após a transferência guiada de embriões de acordo com os resultados 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; Jia et al. Med Sci Monit, 2022).

ERA (Endometrial Receptivity Analysis), determina o momento ideal no ciclo endometrial para realizar a transferência de embriões. Assim, o ERA pode aumentar as chances de gravidez sincronizando um embrião pronto para implantação com um endométrio receptivo.

Indicações para o ERA

ERA é indicado para **pacientes com falha de implantação recorrente (RIF)**, uma vez que essas pacientes correm maior risco de ter uma janela de implantação deslocada (Ruiz-Alonso et al. Fertil Steril, 2013). Por outro lado, a aplicação do teste ERA a pacientes sem RIF também foi explorada (Simon et al. Reprod BioMed Online, 2020).

Nossos estudos mostraram que existem outras circunstâncias em que as pacientes correm maior risco de ter uma WOI deslocada. Nestes casos, o ERA pode ajudar a encontrar o momento ideal para a transferência do embrião:

- 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 **adeniose** (Mahajan et al, 2018)
- Pacientes com **gestações bioquímicas recorrentes** (Diaz-Gimeno et al, 2017)

Metodologia

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

Os resultados deste teste são baseados na análise da expressão desses 248 genes junto a 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 é Receptivo ou Não Receptivo em algum momento específico durante o ciclo endometrial. **Esse resultado será acoplado a uma recomendação de transferência de embriões personalizada de acordo com o perfil endometrial específico de cada paciente.** Em 10% dos casos, pode ser necessário validar a janela personalizada de implantação realizando uma segunda biópsia endometrial no dia específico designado pelo primeiro teste ERA.

Para permitir a reprodutibilidade dos resultados, o teste ERA deve ser realizado em condições idênticas às do ciclo de transferência de embriões subsequente (tipo de ciclo, tratamento, modo de administração...), **e sempre durante uma terapia de reposição hormonal (HRT) ou ciclo natural.** Esse teste não pode ser realizado em ciclos de estimulação ovariana controlada.

Em alguns casos em que se tenha precisado mais de uma biópsia, nossa equipe pode entrar em contato com você para colar informações relacionadas aos ciclos da paciente. Isso serve para entender se os protocolos foram exatamente replicados, a fim de saber se os resultados dos ciclos podem ser correlacionados ou não. **A correlação dos resultados ajuda nossa equipe de diagnóstico a analisar ambos os resultados e fornecer uma recomendação mais personalizada,** por exemplo, no caso de uma WOI estreita. Sem confirmar essas informações e considerar a correlação, podemos estar perdendo uma observação especial que exige uma recomendação mais personalizada para a transferência, além do que é fornecido pelo nosso algoritmo.

A primeira biópsia endometrial deve ser feita após 5 dias completos de administração de progesterona (P+5) em ciclos HRT (120 horas de administração de progesterona). Nos ciclos naturais, a primeira biópsia endometrial deve ser feita 7 dias (168 horas) após o trigger de hCG (hCG+7) ou após o pico de LH (LH+7). Ela também pode ser feita 6 dias após a ovulação confirmada por ultrassom (embora esta última opção não seja ideal uma vez que se torna difícil garantir a reprodutibilidade dos resultados).

No caso de transferência de embriões dia 3, a biópsia ainda deve ser realizada em P+5 ou hCG+7, uma vez que o ERA verifica o endométrio no momento da implantação. Dessa forma, se você tiver um resultado receptivo em P + 5, você transferirá um blastocisto em P + 5 ou um embrião de dia 3 dois dias antes, ou seja, em P + 3.

Interpretação dos resultados

Receptivo: O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio receptivo. A recomendação é realizar uma transferência de blastocisto(s) seguindo o mesmo protocolo e horários utilizados durante o teste ERA.

Receptivo tardio: O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio no final da fase receptiva. Se recomenda adiantar a transferência de blastocisto(s) 12 horas em relação ao momento em que se realizou o teste ERA.

Pré-receptivo: O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio que ainda não atingiu a fase receptiva. Isso pode ser devido a um deslocamento da janela de implantação. Em alguns casos, uma nova biópsia endometrial pode ser necessária para validar a WOI prevista.

Pós-receptivo: O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio que já passou da fase receptiva. Isso pode ser devido a um deslocamento da janela de implantação. Para validar a WOI prevista, é necessária a análise de uma nova biópsia endometrial no dia recomendado.

Proliferativo: O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio que não foi exposto à progesterona ou que não foi responsivo a ela. Recomenda-se entrar em contato com a Igenomix para avaliar o protocolo em que a biópsia endometrial foi realizada.

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

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

Seguimos critérios rigorosos de qualidade, garantindo que a integridade e a quantidade de RNA sejam adequadas, evitando possíveis resultados artefatuais que poderiam afetar negativamente o resultado clínico de seus 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 estiver altamente degradado, o perfil de expressão gênica obtido não será confiável. Isso ocorre em aproximadamente 1,2% das amostras recebidas. Nestes casos, é necessário avaliar uma nova biópsia endometrial (a análise não será cobrada). Possíveis causas: tamanho da amostra muito grande, contaminação e/ou alta temperatura ($\geq 35^{\circ}\text{C}$) durante o transporte.

RNA insuficiente. Embora com o NGS a quantidade mínima de RNA necessária para prosseguir com a 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. Em aproximadamente 1,5% das amostras recebidas, não é possível determinar um perfil de expressão gênica preciso porque não há material genético suficiente. Nesses casos, é necessário avaliar uma nova biópsia endometrial (a análise não será cobrada). Possíveis causas: baixa quantidade de tecido adequado.

Não informativo. Esse resultado é obtido quando o perfil analisado não corresponde aos perfis de expressão gênica de controle presentes no preditor ERA. Nesses casos, nossa equipe entrará em contato para avaliar o protocolo em que a biópsia endometrial foi realizada. Isso só acontece em $< 0,7\%$ das amostras analisadas e, em $>95\%$ dos casos, está relacionado à amostra em si, não ao endométrio, já que com uma nova biópsia (a análise não será cobrada) é possível obter um resultado válido.

Em qualquer um desses casos, nossa equipe ERA irá apoiá-lo e orientá-lo, garantindo que possamos encontrar um resultado válido para sua paciente, com base na qualidade e confiabilidade.

Exemplo laudo ERA

O objetivo deste teste é fornecer aos médicos uma avaliação molecular objetiva da receptividade endometrial da paciente.

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



Igenomix[®]
PART OF VITROLIFE GROUP


ERA (DIAGNÓSTICO DE RECEPTIVIDADE ENDOMETRIAL)

Informação Paciente	Informação Amostra	Informação Clínica
NHC:	Data recepção:	Clinica:
Tipo de amostra:	Data resultado:	Médico:
Nome da paciente:	Progesterona:*	Nº biópsia:
Data nascimento:	Data medição P4:	
	Data pico LH:	
	Data biópsia:	
	Tipo de ciclo:	

RESULTADOS DO TESTE:

RECEPTIVO

Recomendação: Proceder com a transferência de blastocisto em ciclo Natural LH+5 (121 ± 3 horas desde o pico de LH)**



Pré-Receptivo Receptivo Pós-Receptivo

INTERPRETAÇÃO DO SEU RESULTADO:

Recomendamos proceder com a transferência de blastocisto no mesmo dia e tipo de ciclo no qual foi realizada a biópsia em ciclo natural LH+5 (121 ± 3 horas desde o pico de LH).

Para transferir embriões de dia 3, a transferência deve ser realizada dois dias antes com respeito a recomendação anterior para a transferência de blastocistos.

* Nível de progesterona endógena basal antes de tomar a primeira dose de progesterona exógena OU pico de LH/hCG admiti: Menor que 1 ng/ml. Data da medição da P4: 01/04/24.

** Este resultado é reproduzível exclusivamente para o mesmo tipo de tratamento no qual foi realizado está biópsia endometrial.

DESCRIÇÃO DO TESTE:

ERA (Análise de receptividade endometrial) é um teste de diagnóstico molecular que é utilizado para determinar se o endométrio (a mucosa que cobre o útero) apresenta um perfil receptivo depois de 5 dias com exposição a progesterona, o período em que o endométrio está normalmente no momento adequado para a implantação do embrião. Este método de diagnóstico molecular está baseado em analisar o perfil de expressão gênica do tecido endometrial. Em consequência, o ERA ajuda a determinar quando o endométrio apresenta as condições ideais para a implantação do embrião, aumentando a possibilidade de um tratamento de fertilização in vitro exitoso.

COMENTÁRIOS

Nenhum

Igenomix Brasil LTDA, República do Líbano 500, Itaipuqem, SP São Paulo, 04503-000, Email: info@igenomix.com

NUMERO-002100004 1 | 3 | 2024
Atendimento On-line: +55(11)33737000
info@igenomix.com
LAB CLIA No: 102298707

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

- Data e hora da primeira ingestão de P4 (ciclos HRT)
- Data e hora da injeção de hCG, pico de LH ou ovulação (ciclos naturais)

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

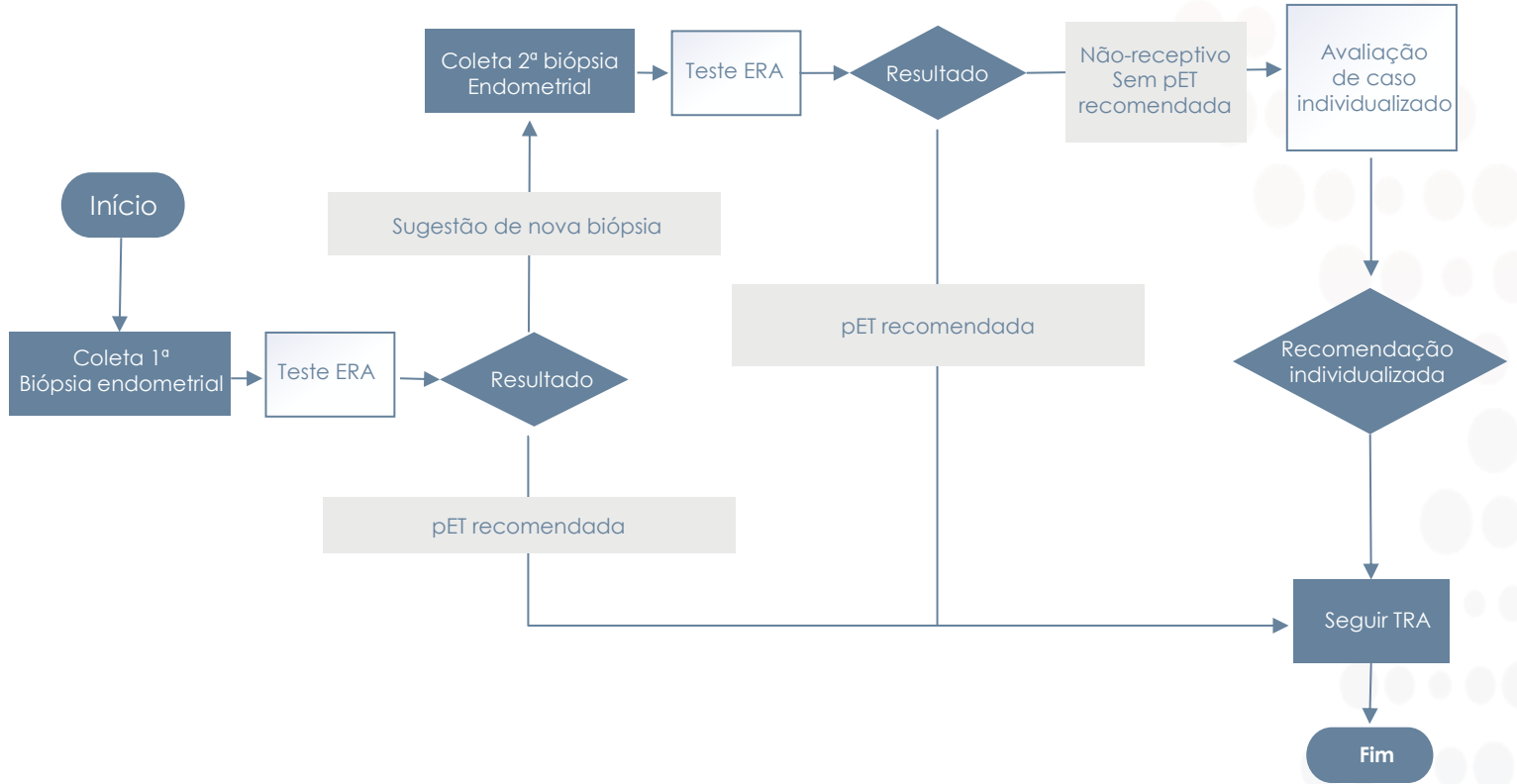
* Seguir as recomendações do relatório ERA não garante a implantação. A falha de implantação pode ser causada por outros fatores.

Reprodutibilidade dos resultados

Foi demonstrado que o resultado **ERA é reprodutível durante pelo menos 36 meses**, sempre que se cumpra o seguinte:

- O **protocolo de preparação** do endométrio deve ser exatamente replicado nos ciclos de biópsia e transferência.
- A **espessura endometrial** deve estar dentro da mesma faixa (**<6mm, 6-12mm, >12mm**) tanto no ciclo da biópsia como no ciclo da transferência.
- **As alterações no IMC podem ser acompanhadas por uma mudança na janela de implantação.** O teste ERA pode precisar ser repetido após alterações significativas no IMC (mudança de > 30 para < 30) para garantir a acurácia dos resultados.
- **Intervenções a nível** uterino podem afetar a WOI. Após esse tipo de intervenção, deve-se avaliar se um novo ERA precisa ser realizado. De fato, se sua paciente precisar de qualquer **intervenção no útero** antes da transferência do embrião, o teste ERA deve ser feito após esse procedimento.
- **Progesterona endógena** devidamente controlada nos ciclos de biópsia e transferência. **Deve ser < 1 ng/ml** dentro das 24 horas anteriores à primeira ingestão de progesterona (ciclos HRT) ou em LH+0/hCG+0 (ciclos Naturais).

Fluxo de decisão ERA



Referências relevantes

- 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
- 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(Supp1):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.
- 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, Castellón 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 arrat (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.

*Você pode verificar as referências atualizadas em nosso site.

EMMA

Endometrial Microbiome
Metagenomic Analysis



EMMA

Evaluates the
endometrium at the
microbiological level

Apresentação

O Projeto Microbioma Humano (HMP) ressaltou a **importância de diferentes microrganismos e seus genomas na saúde e nas doenças humanas** (Human Microbiome Project Consortium, 2012).

A identificação de microbiomas disbióticos ou patogênicos pode ser fundamental para melhorar os resultados clínicos em várias 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) 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 de Implantação Recorrente (RIF) e Aborto Espontâneo Recorrente foram demonstradas (Moreno et al. Am J Obstet Gynecol, 2016). Portanto, o **EMMA pode ser especialmente útil em pacientes com falha de implantação recorrente ou aborto espontâneo de repetição**. O ALICE também pode ser benéfico para pacientes com histórico de RPL e/ou RIF, já que a EC foi associada a esses resultados adversos. O EMMA inclui o ALICE, portanto, também pode ser benéfico para pacientes com histórico de RPL.

Metodologia

EMMA é um teste molecular que fornece informações sobre a microbiota no tecido endometrial por meio da análise de um painel personalizado de bactérias, incluindo informações sobre as espécies mais frequentes de *Lactobacillus* e bactérias potencialmente patogênicas do trato reprodutivo (algumas delas relacionadas à endometrite crônica). Esse método **baseia-se na detecção de DNA bacteriano por meio de RT-PCR, que se traduz em diferentes perfis que foram associados ao sucesso da gravidez. A extração de DNA seguida pela amplificação específica do microrganismo** permite a quantificação de bactérias específicas presentes em uma amostra.

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

Exemplo laudo EMMA

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

ANÁLISE METAGÊNOMICA DO MICROBIOMA ENDOMETRIAL (EMMA)

Dados da paciente	Informações da amostra	Informações da clínica
Únique pat Id:	Data recebimento:	Clínica:
Nome da Paciente :	Data/hora laudo:	Médico:
Data de Nascimento:	Tipo de amostra:	
Alergia a antibióticos:	Tipo de Ciclo:	
	Dia do ciclo:	
	No. da biópsia:	
	Data da biópsia:	

RESULTADO DO TESTE EMMA

LACTOBACIOS			
	RESULTADO	VALOR	INTERVALO DE REFERÊNCIA
<i>Lactobacillus crispatus</i>	Não detectado	N/A	≥ 3.71
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Não detectado	N/A	≥ 3.50
<i>Lactobacillus iners</i>	Detectado	4.54	> 3.57
<i>Lactobacillus jensenii</i>	Não detectado	N/A	≥ 3.70

AGENTES PATOGENICOS DO TRATO REPRODUTIVO			
	RESULTADO	VALOR	INTERVALO DE REFERÊNCIA
<i>Actinomyces israelii</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Atopodilum vaginae</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Bacteroides fragilis</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Bifidobacterium</i> spp. ?	Não detectado	N/A	≤ 4.22
<i>Clostridium sorrelletii</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.72
<i>Haemophilus ducreyi</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Mobiluncus</i> spp	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Prevotella dista</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Prevotella distens</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Sneathia</i> spp	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Tropivonia pallidum</i>	Não detectado	N/A	Ausente

RESULTADO DO TESTE ALICE

PATÓGENOS RELACIONADOS À ENDOMETRITE CRÔNICA			
	RESULTADO	VALOR	INTERVALO DE REFERÊNCIA
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Enterococcus faecalis</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.63
<i>Escherichia coli</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.58
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma hominis</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Streptococcus agalactiae</i> group B/ <i>Streptococcus viridans</i>	Detectado	3.68*	≤ 3.57
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.58

?Bifidobacterium spp, quando detectado sem outros patógenos, pode ser deslocado de seu nicho usando probióticos.
 *Valor fora do intervalo de referência.

RECOMENDAÇÃO

O tratamento sugerido para bactérias das quais detectamos DNA seria Amoxicilina 500mg/8h por 7 dias por via oral, de acordo com os Guias de Microbiologia padrão (4,5). Para recolonizar posteriormente o trato reprodutivo, sugere-se também o uso de probióticos vaginais feitos apenas por cepas de *Lactobacillus* (preferencialmente vaginal) seguindo as instruções do fabricante quanto à dose e duração do tratamento.

A análise de uma nova biópsia também é recomendada após o tratamento. A nova amostra deve ser coletada seguindo o protocolo de teste padrão.

Nota: Os números entre parênteses no texto do relatório referem-se a publicações científicas, que são listadas no final do relatório.



EMMA

Evaluates the
endometrium at the
microbiological level

Os intervalos de referência para todas as bactérias incluídas no teste EMMA foram calculados analisando amostras de mulheres com nascido vivo de um estudo clínico que levou à publicação científica Moreno et al, Microbiome 2022.

Os resultados do teste EMMA incluem informações sobre:

1) **Tabela 1: quantidades de *Lactobacillus*** mais frequentemente encontrados no trato reprodutivo.

LACTOBACILOS			
	RESULTADO	VALOR	INTERVALO DE REFERÊNCIA
<i>Lactobacillus crispatus</i>	Não detectado	N/A	≥ 3.71
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Detectado	3.59*	≥ 3.60
<i>Lactobacillus iners</i>	Não detectado	N/A	> 3.57
<i>Lactobacillus jensenii</i>	Não detectado	N/A	≥ 3.70

*Valores fora do intervalo de referência.

Os valores **fora do intervalo de referência** são identificados em negrito, destacados e com um asterisco.

Nos casos em que não há patógenos detectados fora de sua faixa de referência:

- Se pelo menos uma das espécies de *Lactobacillus* estiver dentro do intervalo de referência, se considera um resultado normal.
- Os níveis de *Lactobacillus* serão considerados fora da faixa normal quando não se detecta nenhuma das espécies analisadas ou quando se detecta com valores abaixo da faixa de referência estabelecida.



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

AGENTES PATOGÊNICOS DO TRATO REPRODUTIVO			
<i>Actinomyces israelii</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Atopobium vaginae</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Bacteroides fragilis</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Bifidobacterium spp †</i>	Não detectado	N/A	≤ 4.22
<i>Clostridium sordellii</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.72
<i>Haemophilus ducreyi</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Mobiluncus spp</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Prevotella bivia</i>	Detectado	3.68*	≤ 3.57
<i>Prevotella disiens</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Sneathia spp</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Treponema pallidum</i>	Não detectado	N/A	Ausente

† *Bifidobacterium spp*, quando detectado sem outros patógenos, pode ser deslocado de seu nicho usando probióticos.
*Valores fora do intervalo de referência.

Os valores de **patógenos fora do intervalo de referência** são identificados em negrito, destacados e com um asterisco.

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

**EMMA**Evaluates the
endometrium at the
microbiological level

3) **Tabela 3:** patógenos mais comumente associados à endometrite crônica (teste ALICE)

PATÓGENOS RELACIONADOS À ENDOMETRITE CRÔNICA			
	RESULTADO	VALOR	INTERVALO DE REFERÊNCIA
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Enterococcus faecalis</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.63
<i>Escherichia coli</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.58
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Detectado	4.15*	≤ 3.57
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma hominis</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Streptococcus agalactiae group B/ Streptococcus viridans</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.57
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Não detectado	N/A	≤ 3.58

***Valores fora do intervalo de referência.**

Os valores de **patógenos fora do intervalo de referência** são identificados em negrito, destacados e com um asterisco.

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



EMMA

Evaluates the
endometrium at the
microbiological level

O laudo EMMA também inclui uma recomendação (se necessário) para garantir que as quantidades de todas as bactérias analisadas no painel estejam dentro dos valores de referência. Nesses casos, a recomendação antibiótica fornecida no laudo se baseia nos guias Microbiológicos.

Tanto o resultado obtido por este teste como a recomendação de tratamento sugerida são informações que devem ser avaliadas clinicamente por um médico. É o profissional médico quem deve considerar a possível prescrição de um tratamento antibiótico e/ou probiótico em função dos achados clínicos de cada paciente. As pacientes não devem tomar nenhum antibiótico sem consulta médica prévia.

Além disso, também está incluída uma seção com interpretação de todos os resultados obtidos.

Exemplo:

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DO EMMA

Nenhum DNA de bactérias potencialmente patogênicas do trato reprodutivo, não relacionadas à endometrite crônica, foi detectado.

A quantidade de DNA de Lactobacillus detectada na amostra endometrial está dentro da faixa normal. Lactobacillus é a bactéria predominante no trato reprodutivo feminino durante a idade reprodutiva. Não é necessário ter diferentes cepas de Lactobacillus, mas pelo menos uma delas deve estar dentro da faixa dos valores normais estabelecidos. Tenha em mente que o uso de antibióticos pode afetar a população atual de Lactobacillus causando seu declínio ou até mesmo seu desaparecimento.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DO ALICE

Nenhum DNA de bactérias potencialmente patogênicas relacionadas à endometrite crônica foi detectado.

Em uma porcentagem muito baixa de casos, alguns dos seguintes resultados podem ser obtidos:

- Inconclusivo: Não é possível determinar o perfil bacteriano da amostra.
- Amostra inválida: A amostra não atende aos parâmetros mínimos de qualidade exigidos para obter um resultado confiável. Isso pode ser devido à falta de quantidade ou qualidade do material genético obtido.

Em ambos os casos, será necessária uma nova biópsia seguindo as indicações do teste (a análise não será cobrada).

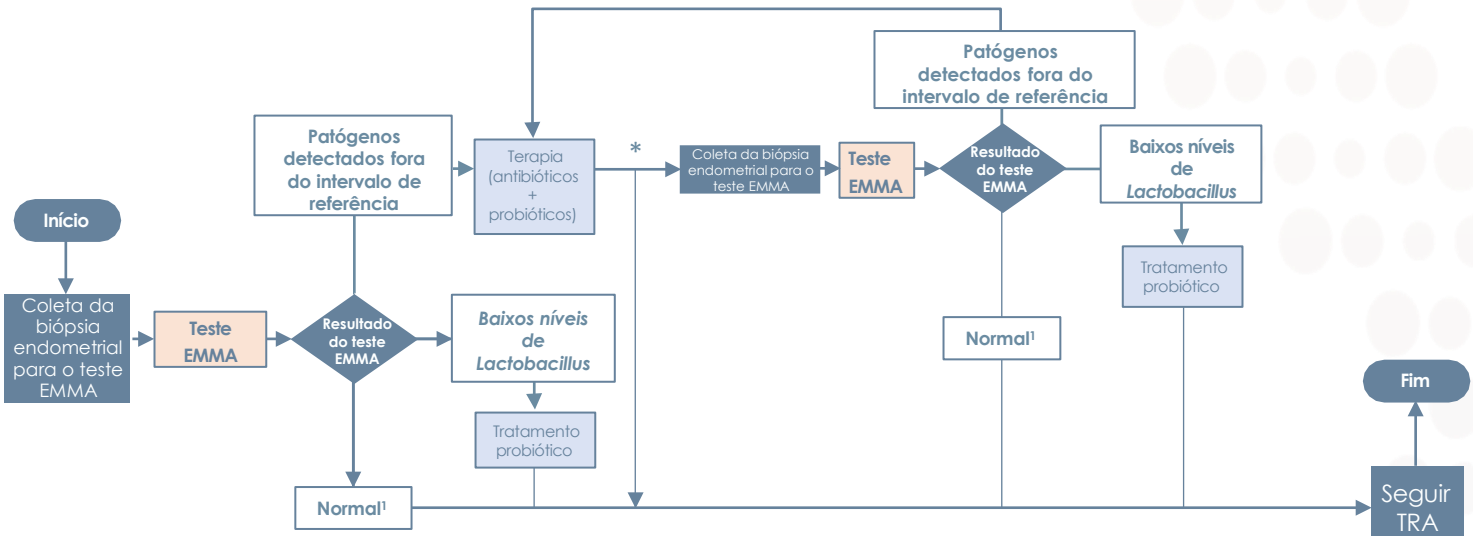


Benefícios da análise molecular da microbiota vs cultura microbiana

A cultura microbiana é o método padrão-ouro atual para avaliação de populações bacterianas e infecção. No entanto, foi demonstrado que 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 em uma amostra.

	CULTURA	MOLECULAR
BASEADO EM	Identificação de patógenos endometriais cultiváveis	Uso de RT-PCR para detectar todas as bactérias (incluindo as difíceis de cultivar)
RESULTADOS OBJETIVOS	SIM	SIM
ESPECÍFICO (TRATAMENTO ATB DIRECIONADO)	SIM	SIM
DETECTA BACT NÃO CULTIVÁVEL	NÃO	SIM
TEMPO DE RESPOSTA CURTO	NÃO	SIM

Fluxo de decisão EMMA



¹ Normal: nenhum patógeno detectado e *Lactobacillus* dentro da faixa de referência

* Após o tratamento, deve-se decidir se será feita diretamente a transferência do embrião ou se será repetido o teste EMMA para garantir a eliminação dos patógenos.



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/iroy257. PMID: 30544156
- 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.



EMMA

Evaluates the
endometrium at the
microbiological level

- 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 Olgati, 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

*Você pode verificar referências atualizadas em nosso site.

ALICE

Analysis of Infectious
Chronic Endometritis



ALICE

Detects the bacteria
causing chronic
endometritis

Apresentação

Um bom exemplo de patologia causada por uma microbiota endometrial alterada é a endometrite crônica (EC). **A EC é uma inflamação persistente do revestimento endometrial, causada por infecção da cavidade uterina, principalmente por patógenos bacterianos.** Por ser geralmente assintomática e os métodos de diagnóstico clássicos atuais (histologia, histeroscopia e cultura microbiana) serem insatisfatórios, a EC é frequentemente negligenciada. A EC afeta aproximadamente 30% das mulheres inférteis, e pode atingir porcentagens ainda mais altas em pacientes com Falha de Implantação Recorrente (RIF) e Perda Gestacional Recorrente (RPL).

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

ALICE (Análise da endometrite crônica infecciosa), detecta as bactérias mais frequentes que causam endometrite crônica. Este teste permite a avaliação do endométrio a nível microbiológico, com o objetivo de melhorar o manejo clínico de pacientes com esta doença silenciosa.

Indicações para o ALICE

O ALICE pode ser benéfico para pacientes com suspeita de EC ou com história de RPL e/ou RIF, uma vez que a EC tem sido associada a esses desfechos adversos.



ALICE

Detects the bacteria
causing chronic
endometritis

Metodologia

O teste ALICE utiliza RT-PCR para fornecer uma triagem molecular de EC no tecido endometrial, analisando as bactérias mais comumente causadoras da doença (*Streptococcus agalactiae* (grupo B) & *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 esses fins é baseada na extração de DNA seguida de amplificação específica de microrganismos que permite a quantificação de bactérias-alvo presentes em uma amostra. Depois de receber a biópsia endometrial e extrair o material genético (DNA), os requisitos mínimos de qualidade da amostra são avaliados antes do teste.

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

Detects the bacteria causing chronic endometritis

Exemplo laudo ALICE

O laudo ALICE mostra uma tabela 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

ANALYSIS OF INFECTIOUS CHRONIC ENDOMETRITIS (ALICE)

Patient information	Sample information	Clinic information
Unique pat id:	Date received:	Clinic:
Patient name:	Report date/time:	Clinician:
Patient DOB:	Sample type:	
Allergy to antibiotics:	Cycle type:	
	Cycle day:	
	No. Biopsy:	
	Date of biopsy:	

RESULTS OF ALICE TEST :

PATHOGENS RELATED TO CHRONIC ENDOMETRITIS			
BACTERIA	RESULT	VALUE	REFERENCE RANGE
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Not detected	N/A	Absent
<i>Enterococcus faecalis</i>	Not detected	N/A	≤ 3.63
<i>Escherichia coli</i>	Not detected	N/A	≤ 3.58
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Not detected	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Not detected	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma hominis</i>	Not detected	N/A	≤ 3.57
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Not detected	N/A	Absent
<i>Staphylococcus aureus</i>	Not detected	N/A	≤ 3.57
<i>Streptococcus agalactiae</i> group B/ <i>Streptococcus viridans</i>	Detected	4.36*	≤ 3.57
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Not detected	N/A	≤ 3.58

*Values out of reference range.

RECOMMENDATION

The suggested treatment for the bacteria which DNA has been detected would be Levofloxacin 500mg/24h for 5 days orally, according to the standard Microbiology Guides (4,5). Subsequently, to recolonize the reproductive tract, it is suggested to use probiotics composed exclusively of Lactobacillus strains (preferably vaginal) following the manufacturer's instructions regarding dose and duration.

The analysis of a new biopsy is also recommended after treatment. The new sample must be taken following the standard test protocol.

The antibiotic recommendation given in this report is based on the Microbiological guidelines (4, 5). Both, the result obtained by this test and the suggested treatment recommendation, constitute information that must be assessed by a physician in the setting of a clinical consultation. It is the medical professional who must consider the possible prescription of an antibiotic and/or probiotic treatment in conjunction with the available clinical findings of each patient. Thus, patients should not take any antibiotic without previous physician consultation.

Os valores de **patógenos fora do intervalo de referência** são identificados em **negrito**, destacados e com um asterisco.

PATHOGENS RELATED TO CHRONIC ENDOMETRITIS			
BACTERIA	RESULT	VALUE	REFERENCE RANGE
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Not detected	N/A	Absent
<i>Enterococcus faecalis</i>	Not detected	N/A	≤ 3.63
<i>Escherichia coli</i>	Not detected	N/A	≤ 3.58
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Not detected	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Not detected	N/A	≤ 3.57
<i>Mycoplasma hominis</i>	Not detected	N/A	≤ 3.57
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Not detected	N/A	Absent
<i>Staphylococcus aureus</i>	Not detected	N/A	≤ 3.57
<i>Streptococcus agalactiae</i> group B/ <i>Streptococcus viridans</i>	Detected	4.36*	≤ 3.57
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Not detected	N/A	≤ 3.58

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

O laudo ALICE também inclui uma recomendação (se necessário) para garantir que as quantidades de todas as bactérias analisadas no painel estejam dentro dos valores de referência. Nesses casos, a recomendação antibiótica fornecida no laudo se baseia nos guias Microbiológicos.

Tanto o resultado obtido por este teste como a recomendação de tratamento sugerida são informações que devem ser avaliadas clinicamente por um médico. É o profissional médico quem deve considerar a possível prescrição de um tratamento antibiótico e/ou probiótico em função dos achados clínicos de cada paciente. As pacientes não devem tomar nenhum antibiótico sem consulta médica prévia.

Além disso, também está incluída uma seção com interpretação do resultado obtido.

Exemplo:

INTERPRETATION OF ALICE RESULTS

DNA from potentially pathogenic bacteria related to chronic endometritis has been detected out of reference range in the endometrial sample. Igenomix recommends normalizing these values before performing an embryo transfer to improve the chances of a successful pregnancy according to scientific evidence (1,2,3).

Both, the result obtained by this test and the suggested treatment recommendation, constitute information that must be assessed by a physician in the setting of a clinical consultation. It is the medical professional who must consider the possible prescription of an antibiotic and/or probiotic treatment in conjunction with the available clinical findings of each patient. In the case of prescribed treatment, it is also recommended to analyze a new biopsy after its completion to confirm normalized values of pathogens. The new sample must be taken following the standard test protocol.

Nota: os números entre parênteses no texto do relatório referem-se a publicações científicas, que são listadas no final do relatório.

Em uma porcentagem muito baixa de casos, alguns dos seguintes resultados podem ser obtidos:

- Inconclusivo: Não é possível determinar o perfil bacteriano da amostra.
- Amostra inválida: A amostra não atende aos parâmetros mínimos de qualidade exigidos para se obter um resultado confiável. Isso pode ser devido à falta de quantidade ou qualidade do material genético obtido.

Em ambos os casos, será necessária uma nova biópsia seguindo as indicações do teste (a análise não será cobrada).



ALICE

Detects the bacteria causing chronic endometritis

Benefícios da análise molecular da microbiota vs histologia, histeroscopia e cultura microbiana

O diagnóstico atual de EC é tradicionalmente baseado em histologia, histeroscopia e/ou cultura microbiana. No entanto, **esses três métodos clássicos fornecem resultados inconclusivos ou incorretos em 80% dos casos**. Enquanto a histologia geralmente subdiagnostica a EC, a histeroscopia geralmente superdiagnostica a doença. Esses métodos não conseguem identificar com precisão os patógenos que causam a doença, e geralmente antibióticos de amplo espectro são prescritos.

A cultura microbiana é capaz de isolar o patógeno causador; no entanto, entre 20% e 60% das bactérias não podem ser cultivadas em condições laboratoriais padrão ou geralmente não são avaliadas na prática clínica.

A microbiologia molecular fornece resultados equivalentes aos resultados combinados obtidos usando histologia, histeroscopia e cultura microbiana (Moreno et al. Am J Obstet Gynecol, 2018).

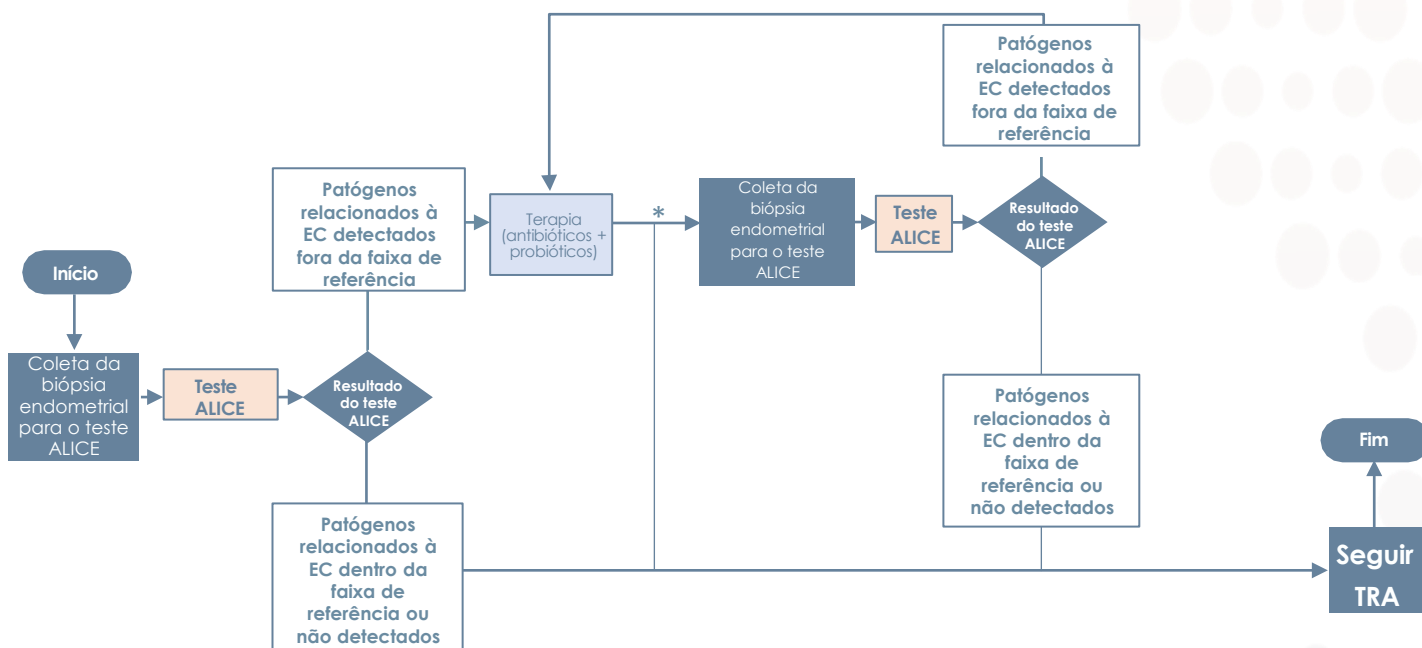
	HISTOLOGIA	HISTEROSCOPIA	CULTURA	MOLECULAR
BASEADO EM	Identificação de células plasmáticas CD138+ no estroma endometrial	identificação de edema estromal, hiperemia epitelial focal ou difusa e/ou presença de micropólipos	Identificação de patógenos endometriais cultiváveis	Uso de RT-PCR para detectar todas as bactérias (inclusive as difíceis de cultivar)
RESULTADOS OBJETIVOS	NÃO	NÃO	SIM	SIM
ESPECÍFICO (TRATAMENTO ATB DIRECIONADO)	NÃO	NÃO	SIM	SIM
DETECTA BACT NÃO CULTIVÁVEL	NÃO	NÃO	NÃO	SIM
TEMPO DE RESPOSTA CURTO	NÃO	SIM	NÃO	SIM



ALICE

Detects the bacteria causing chronic endometritis

Fluxo de decisão ALICE



* Após o tratamento, deve-se decidir se será feita diretamente a transferência do embrião ou se será repetido o teste ALICE para garantir a eliminação dos patógenos.



ALICE

Detects the bacteria
causing 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

*Você pode verificar referências atualizadas em nosso site.

Biópsia Endometrial



Requisitos para fazer uma biópsia endometrial

- **A biópsia endometrial para os testes ERA, EMMA, ALICE ou EndomeTRIO deve ser feita seguindo todas as indicações deste manual.**
- A biópsia endometrial pode ser tomada no consultório ginecológico, sem necessidade de anestesia. **Se a biópsia for ser realizada durante uma histeroscopia, recomendamos que seja coletada no início do procedimento,** antes de distender a cavidade uterina e sem tratamento com antibióticos antes, durante ou após o procedimento. A biópsia só pode ser coletada se a histeroscopia for observacional, sem nenhuma intervenção.
- **Para realizar os testes EMMA ou ALICE (sozinhos ou com teste ERA), a ingestão de antibióticos deve ser evitada por pelo menos 7 dias anteriores à coleta da amostra, durante o procedimento e até o recebimento dos resultados do teste.** Desta forma, o microbioma do dia da biópsia será representativo do microbioma da paciente no dia em que os resultados do teste forem recebidos. **Quaisquer medicamentos que possam alterar a microbiota ou o estado imunológico da paciente também devem ser incluídos no formulário de requisição de teste,** incluindo todos os dados relacionados ao uso de antibióticos durante o mês anterior à biópsia (princípio ativo, via de administração, dose e duração do tratamento).



Dia da biópsia endometrial para ERA sozinho ou associado ao EMMA/ALICE

No caso de ser solicitado um teste ERA (sozinho ou em conjunto com outros testes), a biópsia endometrial deve ser realizada de acordo com as indicações descritas abaixo:

- 1. O diagnóstico ERA é válido para o tipo de ciclo em que o teste foi realizado, e,** portanto, o embrião deve ser transferido no mesmo tipo de ciclo e na janela personalizada de implantação dentro da qual um diagnóstico 'Receptivo' foi obtido. Portanto, o tipo de ciclo para biópsia deve corresponder ao tipo de ciclo planejado para a transferência do embrião.
- 2. Tipo de ciclo:** Terapia de Reposição Hormonal (P+5) ou Ciclo Natural (hCG+7/LH+7/Ovulação+6) como explicado a seguir. Nota: Se embriões Dia 3 forem ser transferidos, a biópsia ainda deve ser realizada em P+5 or hCG+7/LH+7/Ovulação+6, uma vez que o ERA verifica o endométrio no momento da implantação. Desta forma, se você obtiver um resultado Receptivo em P+5, você transferirá um blastocisto em P+5 ou um embrião dia 3 dois dias antes, ou seja, em P+3.

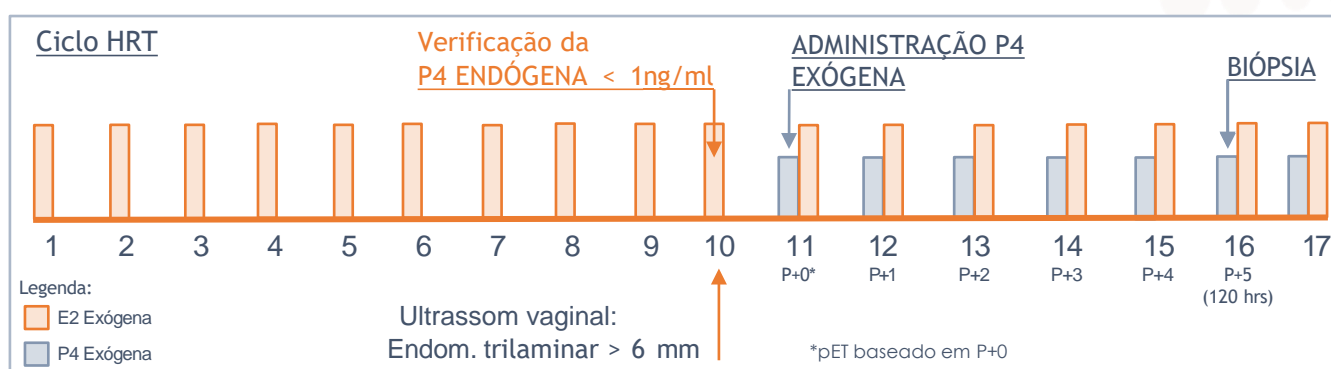
2a) Ciclo de terapia de reposição hormonal (HRT): envolve tratamento com estrogênio e progesterona para preparar o endométrio de forma controlada, semelhante a um ciclo natural para transferência de embriões, usando o protocolo de rotina da clínica ou nosso protocolo padrão:

A paciente inicia a terapia com estradiol a partir do 1º ou 2º dia do ciclo menstrual. A avaliação por ultrassom é realizada 7 a 10 dias depois. Observe que não recomendamos que a terapia com estradiol seja superior a 17 dias antes do início da ingestão de progesterona.



Inicie a ingestão de progesterona (P4) quando for atingido um endométrio trilaminar >6 mm com P4 sérica <1 ng/ml (nas 24 horas anteriores ao início da P4 exógena), continuando com o tratamento de estradiol. O dia em que o tratamento com P4 começa é chamado de P+0, e a biópsia é feita no dia P+5, após 5 dias completos (120 horas da primeira ingestão até a coleta da biópsia).

HRT: Protocolo de rotina



- Em um ciclo de HRT, é muito importante garantir que não haja ovulação e, portanto, o nível endógeno de P4 deve sempre ser medido nas 24 horas anteriores à primeira ingestão de P4. O nível deve ser <1ng/ml, caso contrário, a recomendação é cancelar o ciclo e iniciar um novo. A falha no controle adequado da P4 endógena pode resultar em um artefato de P4 endógena que pode afetar a precisão e a reprodutibilidade dos resultados do ERA.
- O tempo de transferência de embriões personalizado (pET) será baseado no tempo total de exposição à progesterona exógena (O ponto de referência será o dia P+0).



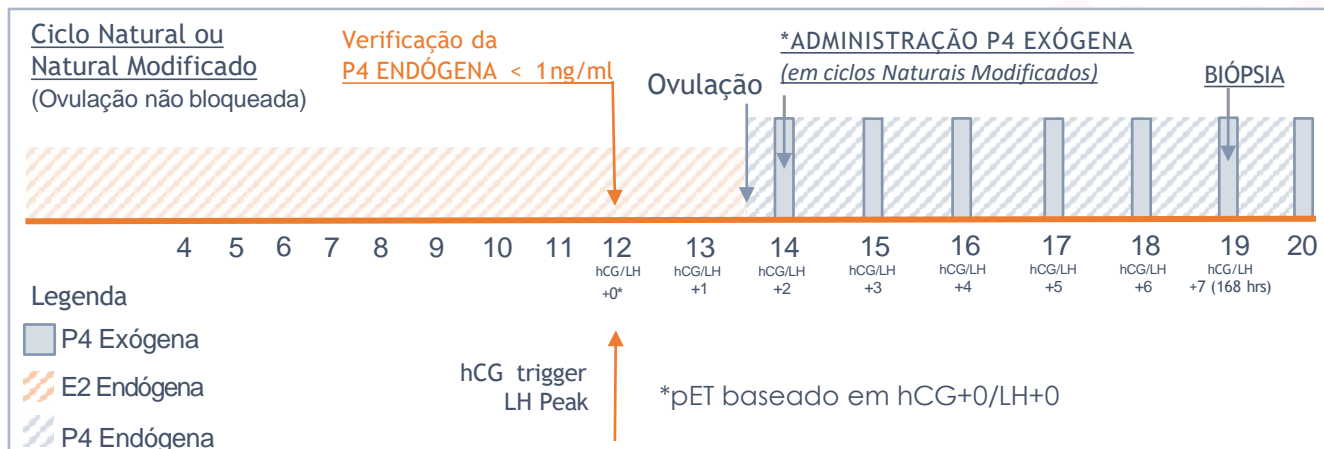
2b) Ciclo natural: Para os Ciclos Naturais, sempre precisamos ter uma data de referência em relação ao momento da ovulação, que pode ser uma das três opções a seguir:

- i. **Data do hCG (recombinante ou urinário):** hCG é administrado de acordo com os parâmetros de rotina em um ciclo natural (tamanho do folículo >17 mm). O dia da administração de hCG é considerado como hCG+0 e a biópsia será feita 7 dias depois, em hCG+7 (168 horas após o início da administração de hCG).
- ii. **Data do pico de LH:** para detectar adequadamente o pico de LH, os níveis de LH na urina ou no sangue devem ser medidos durante vários dias consecutivos (a partir do dia 9 em um ciclo regular), obtendo-se pelo menos um resultado positivo entre dois negativos. O dia do pico de LH é considerado como LH+0 e a biópsia será feita 7 dias depois, em LH+7.
- iii. **Data da ovulação:** a amostra também pode ser coletada em um ciclo natural, durante a fase secretora, pois a ovulação induz a produção de estrogênios e progesterona. O dia da ovulação determinado por ultrassom será considerado como Ov+0 e a biópsia será coletada 6 dias depois, em Ov+6.

Nos ciclos Naturais, a suplementação de progesterona pode ser administrada, sendo então chamados de ciclos Naturais Modificados. Nesses ciclos, a data de referência para a recomendação do pET ainda é a data de hCG/LH/Ovulação. A suplementação de progesterona pode começar a partir de LH+1/hCG+1/Ov+0, no momento em que normalmente é feito na prática clínica de rotina de seu centro (nunca antes do trigger de hCG ou do pico de LH). O protocolo de suplementação de progesterona usado no ciclo de ERA deve ser replicado no ciclo de transferência (ou seja, se uma paciente iniciar a suplementação de progesterona em hCG+2 para o ciclo de biópsia, ela deve ser iniciada também em hCG+2 no ciclo de transferência, independentemente do resultado obtido).



Ciclo Natural: protocolo de rotina



Para garantir que não houve escape de progesterona endógena no momento do trigger de hCG ou do pico de LH, o nível de P4 endógena deve ser sempre medido em hCG+0/LH+0 e deve ser <1ng/ml, caso contrário, a recomendação é cancelar o ciclo e iniciar um novo. A falha no controle adequado de P4 endógena pode resultar em um artefato de P4 endógena que pode afetar a precisão e a reprodutibilidade dos resultados ERA.

A transferência personalizada de embriões (pET) será baseada em hCG/LH/ovulação. Observe que, se não tivermos essas informações nos Ciclos Naturais, nossa recomendação é cancelar a análise. O teste ERA não pode ser realizado sem essa data de referência, pois o resultado não seria reproduzível.



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

Para testes EMMA/ALICE, a paciente deve **evitar antibióticos por pelo menos 7 dias antes da coleta da biópsia, durante o procedimento e após o procedimento até que os resultados sejam recebidos.**

As **biópsias endometriais para os testes EMMA&ALICE devem ser sempre coletadas na fase secretora**, pois esse é o período de máxima estabilidade da microbiota do trato reprodutivo devido à influência dos estrogênios e da progesterona. **Uma amostra coletada fora das condições indicadas abaixo pode nos dar um resultado não confiável.**

Se um teste EMMA ou ALICE for solicitado isoladamente, a biópsia endometrial pode ser feita seguindo o mesmo protocolo ERA. Se o protocolo ERA não for seguido, a biópsia deve ser feita da seguinte forma:

- a) **Ciclo HRT:** as amostras devem ser coletadas durante os dias de ingestão de progesterona (P+1 em diante), de preferência no dia P+5.
- b) **Ciclo Natural ou Natural Modificado:** a biópsia deve ser coletada entre os dias 15 e 25 do ciclo menstrual se a paciente tiver ciclos regulares (entre 26 a 32 dias).

Para pacientes com ciclos irregulares, recomendamos a realização de um ciclo HRT ou o monitoramento da ovulação. Nesse caso, a biópsia pode ser feita nos dias:

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



c) Pílulas Anticoncepcionais Orais (ACOs): apenas para ACOs com determinadas composições. Por favor, confirme sempre com a Igenomix antes de agendar a biópsia. A biópsia deve ser feita entre os dias 14 a 21 do ACOs (dias de ingestão das pílulas ativas quando a paciente também toma pílulas placebo, ou do dia 14 em diante (se a paciente não toma pílulas placebo ou não faz pausa e está sob uso contínuo).

Dia da biópsia endometrial: tabela resumida

Tipo de 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 15 a 25 do ciclo (apenas para pacientes com ciclos regulares)	Para as pacientes com ciclos irregulares que solicitam os testes EMMA/ALICE, recomendamos realizar um ciclo HRT ou monitoração da ovulação. Na coluna anterior, também são válidas a primeira e a última data para a coleta de amostra.
Durante ACOs	NÃO	14 - 21 (dias de ingestão de pílulas ativas se a paciente também tomar pílulas placebo) 14 em diante (ingestão contínua de pílulas ativas)	Nem todos os ACOs serão adequados para EMMA/ALICE. Recomendamos consultar nossos especialistas clínicos sobre a composição antes de programar a biópsia. Na coluna anterior, também são válidas a primeira e a última data para a coleta de amostra.



Dia da biópsia endometrial: protocolos inválidos

Tipo de ciclo	Dia do Ciclo	ERA	EMMA&ALICE	Comentários
Estimulação ovariana controlada	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. O microbioma não é representativo porque os níveis de hormônio não são comparáveis a 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 EndomeTRIO (ERA, EMMA e ALICE). A Igenomix fornecerá um criotubo para cada biópsia. O criotubo contém 1,5 ml de uma solução transparente para preservar o material genético.

- 1. Limpe o colo do útero com gaze estéril e seca** (evite o uso de betadine) e não introduza fluido no endométrio.
- 2. Rotule o tubo** com: nome da paciente, data de nascimento e data da biópsia.
- 3. A biópsia endometrial deve ser retirada do fundo uterino usando a Pipelle fornecida no kit Endometrio.** No caso excepcional de ter que usar um cateter diferente do fornecido pela Igenomix, certifique-se de que ele tenha a marca CE e informe-nos por e-mail sobre suas características.
- 4. Colete pelo menos 70mg de tecido**(corresponde a um pedaço cúbico de tecido com lados de aproximadamente 7 mm). **O volume da amostra não deve exceder a linha branca marcada no criotubo (correspondente a 1/3 do volume total do criotubo; veja a figura abaixo).** Para quantidades maiores de tecido, não haverá estabilização suficiente no criotubo (o que levará à degradação do material genético).





5. Certifique-se de que a amostra seja composta de tecido endometrial, não apenas sangue ou muco. Quantidades excessivas de sangue ou muco também devem ser evitadas.

6. Evitar o contato da amostra com qualquer solução que não seja o tampão no tubo (não lave a amostra).

7. Após a realização da biópsia, a amostra deve ser transferida imediatamente para o criotubo fornecido, evitando tocar no tubo com a Pipelle e agitando vigorosamente por pelo menos 10 segundos(para garantir que o tampão penetre no tecido e estabilize o material genético da amostra).

8. O criotubo contendo a amostra deve ser imediatamente transferido para a geladeira (4-8 ° C / 39-46 ° F) e armazenado por pelo menos 4 horas (não coloque no freezer antes de completar essas 4 horas).

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

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



Logística

Amostra e documentos:

- Leia e preencha corretamente o “Formulário de Requisição do Teste” e o “Termo de Consentimento”.
- 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.
- Os envios à temperatura ambiente não devem exceder 5 dias para garantir a ação estabilizadora do líquido do criotubo. Em temperaturas superiores à 35°C, 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

TESTE SOLICITADO

TESTES INCLUÍDOS E APLICAÇÃO

<p>EndomeTRIO The endometrium matters</p>	<p>ANÁLISE DA RECEPTIVIDADE ENDOMETRIAL Expressão de 248 genes para guiar a pET*</p>	<p>ANÁLISE DO MICROBIOMA ENDOMETRIAL <i>Lactobacillus</i> e bactérias patogênicas do trato reprodutivo Detecção molecular de bactérias presentes para permitir um tratamento mais personalizado</p>	<p>ENDOMETRITE CRÔNICA Bactérias patogênicas Relacionadas à EC Detecção molecular dos patógenos de EC para permitir um tratamento mais personalizado</p>
<p>ERA® Endometrial Receptivity Analysis</p>	<p>ANÁLISE DA RECEPTIVIDADE ENDOMETRIAL Expressão de 248 genes para guiar a pET*</p>		
<p>EMMA Endometrial Microbiome Metagenomic Analysis</p>		<p>ANÁLISE DO MICROBIOMA ENDOMETRIAL <i>Lactobacillus</i> e bactérias patogênicas do trato reprodutivo Detecção molecular de bactérias presentes para permitir um tratamento mais personalizado</p>	<p>ENDOMETRITE CRÔNICA Bactérias patogênicas Relacionadas à EC Detecção molecular dos patógenos de EC para permitir um tratamento mais personalizado</p>
<p>ALICE Analysis of Infectious Chronic Endometritis</p>			<p>ENDOMETRITE CRÔNICA Bactérias patogênicas Relacionadas à EC Detecção molecular dos patógenos de EC para permitir um tratamento mais personalizado</p>

*pET: transferência de embriões personalizada



Lista de abreviaturas

ALICE	Análise da Endometrite Crônica Infecciosa
ACOs	Pílulas contraceptivas orais
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
E₂	Estrogênios
EC	Endometrite Crônica
EMMA	Análise Metagenômica do Microbioma Endometrial
ERA	Análise da Receptividade Endometrial
hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
HMP	Projeto Microbioma Humano
HRT	Terapia de reposição hormonal
IMC	Índice de Massa Corporal
LH	Hormônio luteinizante
NGS	Sequenciamento de nova geração
Ov	Ovulação
P₄	Progesterona
pET	Transferência de embriões personalizada
RIF	Falha de implantação recorrente
RNA	Ácido ribonucleico
RPL	Perda gestacional recorrente
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase em tempo real
WOI	Janela de implantação



Igenomix[®]
PART OF VITROLIFE GROUP