

Manual EndomeTRIO

Uma visão completa da saúde endometrial

Índice

ERA – Endometrial Receptivity Analysis - 4

- Antecedentes - 5
- Indicações para o ERA - 6
- Metodologia - 7
- Interpretação dos resultados - 9
- Exemplo laudo ERA - 11
- Reprodutibilidade dos resultados - 12
- Árvore de decisões ERA - 13
- Referências - 14

EMMA – Endometrial Microbiome Metagenomic Analysis - 17

- Antecedentes - 18
- Indicações para o EMMA - 19
- Metodologia – 19
- Exemplo laudo EMMA - 20
- Benefícios da análise molecular da microbiota vs cultivo microbiano - 25
- Árvore de decisões EMMA – 26
- Referências - 27

ALICE – Analysis of Infectious Chronic Endometritis - 29

- Antecedentes - 30
- Indicações para o ALICE – 30
- Metodologia – 31
- Exemplo laudo ALICE – 32
- Benefícios da análise molecular da microbiota vs histologia, histeroscopia y cultivo microbiano - 34
- Árvore de decisões ALICE - 35
- Referências - 36

Biópsia endometrial - 37

Requisitos para a coleta da biópsia endometrial - 38

Dia da biópsia endometrial para ERA sozinho ou combinado com EMMA/ALICE – 39

Protocolo HRT 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: resumo – 44

Dia da biópsia endometrial: Protocolos inválidos – 45

Protocolo biópsia endometrial - 46

Logística – 48

Una visão completa da saúde endometrial - 49

Lista de abreviaturas - 50

ERA[®]

Endometrial Receptivity Analysis

Antecedentes

O fator endometrial é fundamental para que a implantação embrionária ocorra com sucesso. Além de ser importante avaliar a presença de malformações ou anomalias na cavidade uterina, também é necessário determinar o momento em que o endométrio de uma paciente adquire um fenótipo receptivo, ou seja, quando começa sua janela de implantação. Pacientes com falha recorrente de implantação (RIF) podem apresentar um deslocamento dessa janela, resultando em uma transferência embrionária em um endométrio não receptivo (Ruiz-Alonso et al. Fertil Steril, 2013).

A assinatura da expressão gênica do endométrio permite avaliar a receptividade endometrial, identificando a janela de implantação personalizada de cada paciente. Essa análise se realiza com uma ferramenta desenhada, desenvolvida e patenteada em 2009 (PCT/ES2009/000386) pela Igenomix, depois de 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) está aberta em cada paciente nos permite personalizar a transferência embrionária (pET) de acordo com este resultado.

As pesquisas da Igenomix tem demonstrado que a sincronização entre um embrião pronto para implantar e um endométrio receptivo aumenta as probabilidade de sucesso das técnicas de reprodução assistida (Ruiz-Alonso et al. Fertil Steril, 2013; Ruiz-Alonso et al. Hum Reprod, 2014; ClementeCiscar et al. Hum Reprod, 2018; Simon et al. Reprod BioMed Online, 2020).

Outros grupos externos também têm publicado resultados similares em seus pacientes após a transferência embrionária guiada segundo 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; Jia et al. Med Sci Monit, 2022).

ERA (Análise da Receptividade Endometrial), determina o momento ótimo do ciclo endometrial para realizar a transferência embrionária. Desta forma, o teste ERA pode aumentar as probabilidades de alcançar uma gravidez ao sincronizar um embrião pronto para implantar com um endométrio receptivo.

Indicações para o ERA

O teste ERA é indicado para **pacientes com Falha Recorrente de Implantação (RIF)**, uma vez que apresentam um risco maior de ter um deslocamento de sua janela de implantação (Ruiz-Alonso et al. Fertil Steril, 2013). Por outro lado, também já foi explorada a aplicação do ERA em pacientes sem RIF (Simon et al. Reprod BioMed Online, 2020).

Nossos estudos têm demonstrado que existem outras circunstâncias em que as pacientes apresentam um risco maior de ter uma WOI deslocada. Nesses casos, o ERA poderia ajudar a encontrar o momento ótimo para a transferência embrionária:

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

Metodologia

Esse teste utiliza tecnologia de **sequenciamento massivo (NGS)** para analisar a **expressão gênica de 248 genes relacionados com o status de receptividade endometrial**.

Os resultados do teste se baseiam na análise da expressão desses 248 genes com um preditor informático desenhado e desenvolvido pela Igenomix. Após sequenciar o material genético (RNA) de uma biópsia endometrial, é possível avaliar se o endométrio da paciente é Receptivo ou Não Receptivo em um dado momento de seu ciclo endometrial. **Esse resultado irá acompanhado de uma recomendação para realizar a transferência embrionária personalizada em cada paciente segundo seu perfil endometrial.** Em alguns casos (10%), poderá ser necessário validar a janela de implantação personalizada realizando uma segunda biópsia no dia recomendado pela análise do primeiro teste ERA.

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

Em casos nos quais mais de uma biópsia tenha sido necessária, nossa equipe pode entrar em contato para coletar informações em relação aos ciclos da paciente. Isso serve para entender se os protocolos foram exatamente replicados, uma vez que **a correlação dos resultados ajuda nossa equipe de diagnóstico a proporcionar uma recomendação mais personalizada**, por exemplo, no caso de uma WOI mais estreita. Se não confirmamos essa informação e não fizermos essa correlação, podemos perder uma observação especial que exige uma recomendação mais personalizada para a transferência, além do que é fornecido pelo nosso algoritmo.

A primeira biópsia endometrial deverá ser realizada sempre após 5 dias completos de administração de progesterona (P+5) em um ciclo HRT (120 horas de administração de progesterona). Em um Ciclo Natural, a primeira biópsia deve ser coletada 7 dias (168 horas) depois do uso do hCG (hCG+7) ou depois do pico de LH (LH+7). Também pode ser coletada 6 dias após a confirmação da ovulação por ultrassonografia (entretanto esta última opção não é ideal, uma vez que se torna difícil garantir a reprodutibilidade dos resultados).

No caso de transferência de embriões em dia 3 (D3), a biópsia deverá ser realizada do mesmo modo em P+5 ou hCG+7, uma vez que o teste ERA analisa o endométrio no momento da implantação. Desta maneira, se você obtiver um resultado receptivo em P+5 deverá transferir um blastocisto em P+5 ou um embrião D3 dois dias antes, ou seja, em P+3.

Interpretação dos resultados

Receptivo: O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio receptivo. Se recomenda a transferência de blastocisto(s) nas mesmas condições nas quais se realizou 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 alcançou a fase receptiva. Isso pode ser devido a um deslocamento da janela de implantação. Em alguns casos pode-se recomendar uma nova biópsia para validar a janela de implantação.

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

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 contatar a Igenomix para avaliação do protocolo no qual a biópsia endometrial foi realizada.

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

* Seguir as recomendações do laudo ERA não garante a implantação. As falhas de implantação pode ocorrer devido a outros fatores.

Seguimos critérios rigorosos de qualidade para garantir 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 (seja qual for a técnica) é necessária uma integridade adequada do RNA para garantir a confiabilidade do resultado. Nos casos em que o RNA está muito degradado, o perfil de expressão gênica obtido não será confiável. Isso ocorre em aproximadamente 1,2% das amostras recebidas. Nesses 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 envio.

RNA insuficiente: Mesmo que a quantidade mínima de RNA necessária para a análise por NGS seja muito baixa, as vezes, uma baixa concentração pode levar a um resultado impreciso. Nossos rigorosos sistemas de controle nos permitem identificar a confiabilidade do resultado obtido. Apenas em aproximadamente 1,5% das amostras recebidas não é possível determinar um perfil de expressão gênica preciso por falta de material genético suficiente. Nesses casos é necessário avaliar uma nova biópsia endometrial (análise sem custo). Possíveis causas: baixa quantidade de tecido adequado.

Não Informativo: Este resultado se obtém quando o perfil analisado não coincide com os perfis de expressão gênica de controle presentes no preditor do ERA. Nesses casos, nossa equipe entrará em contato para avaliar o protocolo em que se realizou a biópsia endometrial. Ocorre em apenas <0,7% das amostras analisadas e em >95% dos casos está relacionado com a amostra em si, não com o endométrio, uma vez que com uma nova biópsia (análise sem custo) é possível obter um resultado válido.

Em qualquer desses casos, nossa equipe irá apoiá-lo e guiá-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 proporcionar aos médicos uma avaliação molecular objetiva da receptividade endometrial da paciente.

Este teste deverá ser prescrito e interpretado pelo médico que realizará a transferência embrionária posteriormente.

Igenomix®
PART OF VITROLIFE GROUP

ERA (ANÁLISE DE RECEPTIVIDADE ENDOMETRIAL)

Informações da paciente	Informações da amostra	Informações da clínica
ID da paciente:	Data de recebimento:	Clínica:
Tipo de amostra:	Data resultado:	Médico:
Nome da paciente:	Progesterona*: Data de medição:	Nº biópsia:
Data de nascimento da paciente:	Primeira administração de P4: Data da biópsia: Tipo de ciclo:	

RESULTADOS DO TESTE:

RECEPTIVO

Recomendação: realizar a transferência de blastocisto(s) no HRT P+5 (121 ± 3 horas de administração de progesterona)**

INTERPRETAÇÃO DO SEU RESULTADO:

Recomendamos realizar a transferência de blastocisto(s) seguindo o mesmo protocolo utilizado na análise de receptividade endometrial (ERA) no ciclo de HRT P+5 (121 ± 3 horas de administração de progesterona).

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

* Nível basal de progesterona endógena antes de tomar a primeira dose de progesterona exógena OU do pico de LH/administração de hCG; inferior a 1 ng/ml. Data de medição: 25/09/25

** Esta recomendação se aplica apenas ao mesmo tipo de tratamento em que esta biópsia endometrial foi realizada, desde que a progesterona endógena medida antes da primeira dose de progesterona exógena tenha sido <1ng/ml.

DESCRIÇÃO DO TESTE:

A análise de receptividade endometrial (ERA) é um teste de diagnóstico molecular utilizado para determinar se o endométrio (a mucosa que cobre o útero) apresenta um perfil receptivo depois de 5 dias de exposição à progesterona, o período em que o endométrio está normalmente no momento adequado para a implantação do embrião. Este método de diagnóstico molecular se baseia na análise do perfil de expressão genética do tecido endometrial. Portanto, a análise ERA ajuda a determinar quando o endométrio apresenta as condições ideais para a implantação do embrião, aumentando a possibilidade de êxito de um tratamento de fertilização in vitro.

COMENTÁRIOS

Nenhum

Igenomix Brasil LTDA, República do Líbano 500, Ibirapuera, SP São Paulo, 04502-000, Email: info@brasil.igenomix.com

Este relatório é uma tradução literal do relatório original em inglês/espanhol.

HLER01-01/2023 1 | 4
Atendimento Clínico: +55(11) 3079-9400
info@brasil.igenomix.com
LAB CLIA No.: 100386797

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

- Data e hora da prima 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 ótimo para realizar a transferência personalizada de embriões (pET), ou quando realizar uma nova biópsia ERA (se necessário).

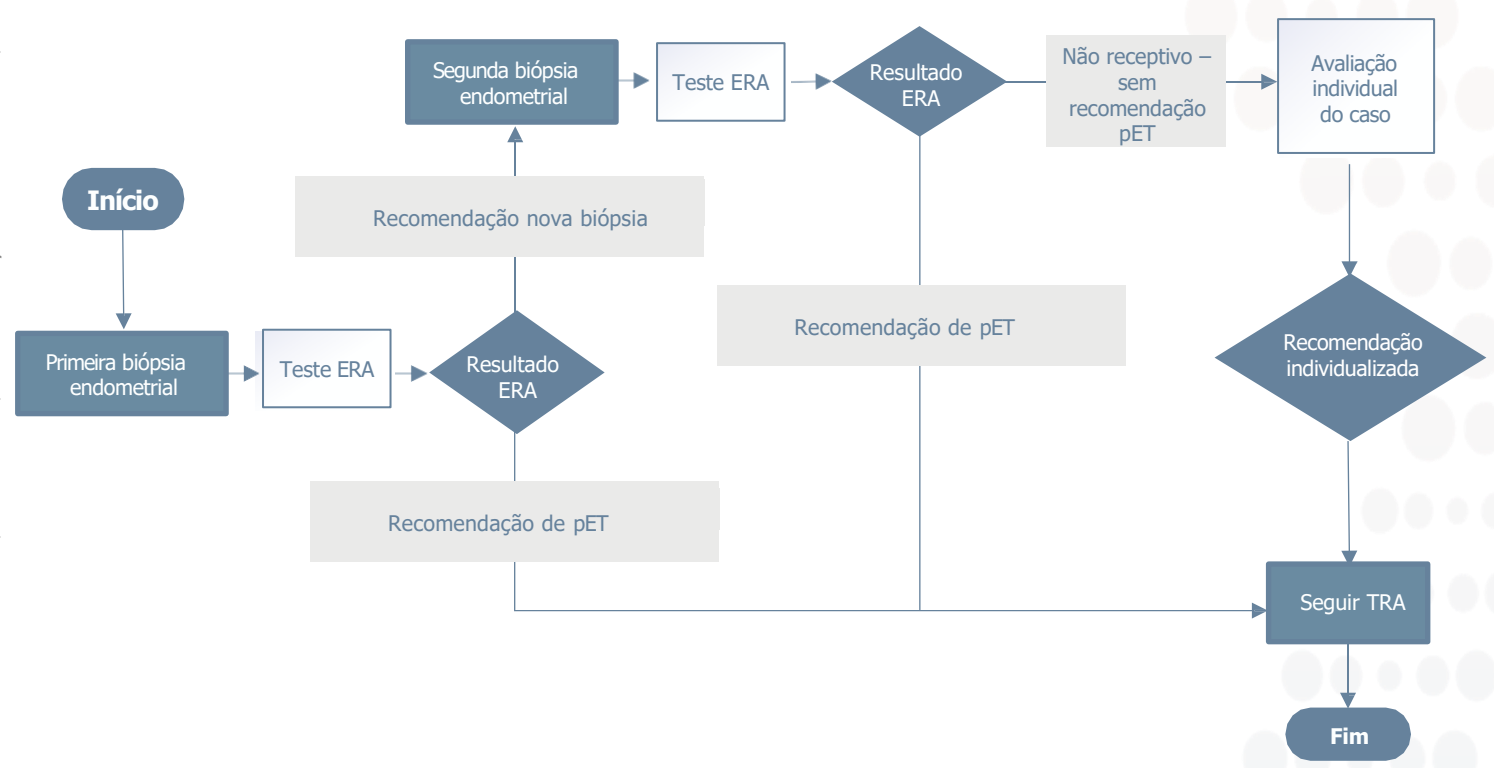
* Seguir as recomendações do laudo do ERA não garante a implantação. A falha de implantação pode ocorrer devido a outros fatores.

Reprodutibilidade dos resultados

Foi demonstrado que o resultado do **ERA é reprodutível por pelo menos 36 meses**, desde que se cumpra o seguinte:

- O **protocolo de preparo** endometrial deve ser replicado exatamente nos ciclos de biópsia e transferência.
- A **espessura do endométrio** deve estar dentro da mesma faixa (**<6 mm, 6-12 mm, >12mm**) tanto no ciclo de biópsia como no de transferência.
- **Mudanças no IMC podem ser acompanhadas de mudanças na janela de implantação.** O ERA pode precisar ser repetido depois de mudanças significativas no IMC (mudar de >30 a < 30, ou vice-versa) para garantir a precisão dos resultados.
- **Intervenções a nível uterino** podem afetar a WOI. Após esse tipo de intervenção, deve-se avaliar a necessidade de realização de um novo teste ERA. Se sua paciente precisar de alguma **intervenção uterina** antes da transferência embrionária, o teste deve ser realizado depois do procedimento.
- **Progesterona endógena** devidamente controlada em ciclo de biópsia e transferência: **deve ser < 1 ng/ml** dentro das 24 horas prévias a primeira dose de progesterona (ciclos HRT) ou em LH+0/hCG+0 (ciclos Naturais).

Árvore de decisão ERA



Title: Manual EndomeTRIO_Custom OA (PT) | Index: SPA_L_I ERA_013_PT | Version: 3.1 | Authorised By: Maria Ruiz Alonso | Authorised: 13-Jun-2025

Referências

- Barbakadze T, Shervashidze M, Charkviani T, Zhorzholadze T, Kbilashvili T, Gabadze M et al. Assessment of the Role of Endometrial Receptivity Analysis in Enhancing Assisted Reproductive Technology Outcomes for Advanced-Age Patients. *Cureus*. **2024**; 16(6):e62949.
- Imoto S, Funabiki M, Nakamura Y, Taguchi S. Endometrial Receptivity Array (ERA) Test in a 32-Year-Old Female With Refractory Infertility: A Case Report. *Cureus*. **2024**; 16(3):e55703.
- Jia Y, Huang Y, Ai ZH, Dong YJ, Guo YH, Yang Y et al. Exploring the effectiveness of endometrial receptivity array and immune profiling in patients with multiple implantation failure : A retrospective cohort study based on propensity score matching. *J Reprod Immunol*. **2024**; 163:104218.
- Khan M, More A, Bawaskar PA, Kalbande A, Nair N. A Case Report on Endometrial Receptivity Array Test for Infertile Patient to Enhance Reproductive Outcomes. *Cureus*. **2024**; 16(2):e55059.
- Glujovsky D, Lattes K, Miguens M, Pesce R, Ciapponi A. Personalized embryo transfer guided by endometrial receptivity analysis: a systematic review with meta-analysis. *Hum Reprod*. **2023**; 38(7):1305-1317.
- He Y, Tang R, Yu H, Mu H, Jin H, Dong J, Wang W, Wang L, Chen S, Wang X. Comparative effectiveness and safety of 36 therapies or interventions for pregnancy outcomes with recurrent implantation failure: a systematic review and network meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. **2023**; 40(10):2343-2356.
- Luján-Irastorza JE. Assessing endometrial receptivity after recurrent implantation failure in euploid embryo transfer: a retrospective study in private clinic. *The Journal of Reproduction*. **2023**.
- Jia Y, Dong YJ, Sha YL, Cai SC, Diao LH, Qiu Z, Guo YH, Huang Y, Ye HX, Liu S. Effectiveness comparison between endometrial receptivity array, immune profiling and the combination in treating patients with multiple implantation failure. *Am J Reprod Immunol*. **2022**; 87(3):e13513.
- 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.
- Liu Z, Liu X, Wang M, Zhao H, He S, Lai S, Qu Q et al. The Clinical Efficacy of Personalized Embryo Transfer Guided by the Endometrial Receptivity Array/Analysis on IVF/ICSI Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Physiol*. **2022**; 13:841437.
- Rose B. Identifying women with a narrow window of embryo implantation using the endometrial receptivity assay. *Internat. Journal of Clinical Obs and Gyn*. **2022**; 6(3):52-54.
- Barrenetxea G, Romero I, Celis R, Abio A, Bilbao M, Barrenetxea J. Correlation between plasmatic progesterone, endometrial receptivity genetic assay and implantation rates in frozen-thawed transferred euploid embryos. A multivariate analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. **2021**; 263:192-197.
- Bellver, J., Marín, C., Lathi, R.B. et al. Obesity affects Endometrial Receptivity by displacing the Window of Implantation. *Reprod. Sci*. **2021**; 1-10.

Title: Manual EndomeTRIO_Custom OA (PT) | Index: SPA_L_I ERA_013_PT | Version: 3.1 | Authorised By: Maria Ruiz Alonso | Authorised: 13-Jun-2025}

- 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.
- 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.
- Hromadová L, Tokareva I, Veselá K, Trávník P, Veselý J. Endometrial Receptivity Analysis - a tool to increase an implantation rate in assisted reproduction. *Ceska Gynecol*. **2019**; 84(3): 177-183.
- 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 S, 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Mahajan N, Kaur S, Ruiz-Alonso M. Window of implantation is significantly displaced in patients with adenomyosis with previousimplantation failure as determined by endometrial receptivity assay. *Journal of human reproductive sciences*. **2018**; 11(4):353.
- 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.
- 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.

- 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.
- 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
- 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.
- 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.
- Mahajan N. Endometrial receptivity array: Clinical application. *J Hum Reprod Sci.* **2015**; 8(3):121-9.
- Cruz F, Bellver J. Live birth after embryo transfer in an unresponsive thin endometrium. *Gynecol Endocrinol.* **2014**;30(7):481-4.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

*Você pode verificar referências atualizadas em nosso website.

EMMA

Endometrial Microbiome Metagenomic Analysis

Antecedentes

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

Este estudo têm demonstrado a importância de identificar desequilíbrios (disbioses) 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 na cavidade uterina está associada a piores resultados em pacientes submetidas a tratamentos de reprodução assistida (Moreno et al. Am J Obstet Gynecol, 2016). Outra investigação recente sugeriu que o que realmente pode interferir na fertilidade é a presença de patógenos na cavidade uterina, já que a ausência de bactérias, incluindo *Lactobacillus*, não impede a implantação (Moreno et al. Microbiome, 2022).

Segundo as investigações mencionadas, o teste EMMA (Análise Metagenômico do Microbioma Endometrial) pode determinar se o ambiente microbiano uterino é ótimo para a implantação do embrião. EMMA proporciona informação sobre a composição bacteriana endometrial, incluindo as bactérias potencialmente patogênicas relacionadas à endometrite crônica (EC), que são especificamente analisadas com o teste ALICE.

Indicações para o EMMA

As vantagens da análise do microbioma endometrial em pacientes com Falha Recorrente de Implantação (RIF) e Abortos Espontâneos Recorrentes (RPL) têm sido demonstradas (Moreno et al. Am J Obstet Gynecol, 2016). Assim, **EMMA pode ser especialmente benéfico em pacientes com RIF ou abortos recorrentes. ALICE também pode ser benéfico para pacientes com histórico de RPL e/ou RIF, uma vez que a EC já tem sido relacionada com esses resultados adversos.** O EMMA inclui o ALICE, podendo assim, também ser benéfico para as pacientes com histórico de RPL.

Metodologia

O **EMMA é um teste molecular** que fornece informação sobre a microbiota no tecido endometrial através da análise de um painel personalizado de bactérias que inclui informação sobre o gênero *Lactobacillus*, as 4 espécies de *Lactobacillus* mais comuns do trato reprodutivo feminino (*L. jensenii*, *L. iners*, *L. gasseri* e *L. crispatus*), e bactérias potencialmente patogênicas do trato reprodutivo (algumas delas relacionadas com endometrite crônica). Esse método **se baseia na detecção de DNA bacteriano através de Real-Time PCR, que se traduz em diferentes perfis que foram associados ao sucesso gestacional. A extração do DNA seguida da amplificação específica de cada microrganismo** permite quantificar as bactérias específicas presentes em uma amostra.

Uma única amostra do endométrio contém células endometriais e bacterianas. Elas pode ser analisadas para prever tanto a receptividade endometrial (através do teste ERA) como o microbioma endometrial. **O EMMA proporciona, assim, uma visão microbiológica do endométrio, que permite dar suporte ao manejo clínico das pacientes.**

Exemplo de laudo EMMA

O laudo EMMA contém três tabelas com valores de referência e valores obtidos para cada bactéria do painel, mediante a análise de uma amostra endometrial:



PART OF VITROLIFE GROUP®

ANÁLISE METAGENÔMICA DA MICROBIOTA ENDOMETRIAL (EMMA)

Informações da paciente	Informações da amostra	Informações da clínica
ID da paciente:	Data de recebimento:	Clínica:
Nome da paciente:	Data/hora do laudo:	Médico:
Data de nasc. paciente:	Tipo de amostra:	
Alergia a antibióticos:	Tipo de ciclo:	
	Dia do ciclo:	
	Nº. da biópsia:	
	Data da biópsia:	

RESULTADOS DO TESTE EMMA:

LACTOBACILOS

BACTÉRIAS	RESULTADO	RESULTADO IDEAL
<i>Lactobacillus spp</i>	Detectado	Ao menos uma espécie detectadas
<i>Lactobacillus crispatus</i>	Não detectado	
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Não detectado	
<i>Lactobacillus iners</i>	Detectado	
<i>Lactobacillus jensenii</i>	Não detectado	

BACTÉRIAS DO TRATO REPRODUTOR

BACTÉRIAS	RESULTADO	VALOR	INTERVALO DE REFERÊNCIA
<i>Actinomyces israelii</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Atopobium vaginae</i>	Detectado	4.83*	(0 - 3.58)
<i>Bacteroides fragilis</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Bifidobacterium spp</i> †	Detectado	5.17*	(0 - 4.22)
<i>Clostridium sordellii</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Detectado	5.17*	(0 - 3.80)
<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	(0 - 3.57)
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Prevotella bivia</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Prevotella disiens</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Sneathia spp</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Treponema pallidum</i>	Não detectado	N/A	Ausente

RESULTADOS DO TESTE ALICE:

BACTÉRIAS RELACIONADAS À ENDOMETRITE CRÔNICA

BACTÉRIAS	RESULTADO	VALOR	INTERVALO DE REFERÊNCIA
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Enterococcus faecalis</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Escherichia coli</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Mycoplasma hominis</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Streptococcus agalactiae</i> group B/ <i>Streptococcus viridans</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)

†Bifidobacterium spp, quando detectada sem outras bactérias, pode ser deslocada de seu nicho usando probióticos.

*Valores fora do intervalo de referência.

RECOMENDAÇÃO #

O tratamento sugerido para bactérias cujo DNA foi detectado seria Clindamicina 300 mg/12 horas por 7 dias, de acordo com os Manuais de microbiologia clínica (4,5). Para recolonizar posteriormente o sistema reprodutor, sugere-se também o uso de probióticos vaginais compostos apenas por cepas de Lactobacillus (preferencialmente vaginal), seguindo as instruções do fabricante quanto à dose e à duração do tratamento.

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

Nota: os números entre parênteses nos textos do laudo fazem referência a publicações científicas que são indicadas no final do relatório.

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

Os resultados do teste EMMA incluem 3 tabelas com as seguintes informações:

1) **Tabela 1:** Detecção de DNA de *Lactobacillus*.

LACTOBACILOS		
BACTÉRIAS	RESULTADO	RESULTADO IDEAL
<i>Lactobacillus spp</i>	Detectado	Ao menos uma espécies detectadas
<i>Lactobacillus crispatus</i>	Não detectado	
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Não detectado	
<i>Lactobacillus iners</i>	Detectado	
<i>Lactobacillus jensenii</i>	Não detectado	

Nos casos em que não forem detectadas bactérias potencialmente patogênicas fora do valor de referência **e se detecte ao menos um tipo de *Lactobacillus*, se considerará um resultado normal.**

2) **Tabela 2: bactérias potencialmente patogênicas comuns do trato reprodutivo com relevância clínica e não relacionados com a endometrite crônica:**

BACTÉRIAS DO TRATO REPRODUTOR			
BACTÉRIAS	RESULTADO	VALOR	INTERVALO DE REFERÊNCIA
<i>Actinomyces israelii</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Atopobium vaginae</i>	Detectado	4.83*	(0 - 3.58)
<i>Bacteroides fragilis</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Bifidobacterium spp</i> †	Detectado	5.17*	(0 - 4.22)
<i>Clostridium sordellii</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Detectado	5.17*	(0 - 3.80)
<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	(0 - 3.57)
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Prevotella bivia</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Prevotella disiens</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Sneathia spp</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Treponema pallidum</i>	Não detectado	N/A	Ausente

† *Bifidobacterium spp*, quando detectada sem outras bactérias, pode ser deslocada de seu nicho usando probióticos.
*Valores fora do intervalo de referência.

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

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

3) **Tabela 3:** bactérias potencialmente patogênicas mais frequentes causadoras de endometrite crônica (teste ALICE)

BACTÉRIAS RELACIONADAS À ENDOMETRITE CRÔNICA			
BACTÉRIAS	RESULTADO	VALOR	INTERVALO DE REFERÊNCIA
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Detectado	3.74*	Ausente
<i>Enterococcus faecalis</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Escherichia coli</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Mycoplasma hominis</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Streptococcus agalactiae</i> group B/ <i>Streptococcus viridans</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)

*Valores fora do intervalo de referência.

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

Nota: Se algum dos **patógenos associados as Infecções Sexualmente Transmissíveis (*Chlamydia trachomatis* e/ou *Neisseria gonorrhoeae*)** estiver fora do valor de referência, se recomendará um teste confirmatório adicional. As infecções causadas por essas bactérias são de notificação obrigatória às Autoridades Sanitárias locais nos diferentes países. Caso esses patógenos sejam identificados, é de responsabilidade do médico declarar essas infecções.

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 sugerida no laudo se baseia nos Guias Microbiológicos.

Tanto o resultado obtido como a recomendação de tratamento sugerida constituem uma informação que deve ser avaliada por um médico em uma consulta clínica. É o profissional médico quem deve considerar a possível prescrição de um tratamento antibiótico e/ou probiótico em função das condições clínicas de cada paciente. Dessa forma, as pacientes não devem tomar nenhum antibiótico sem uma consulta médica prévia.

Também se inclui no laudo uma seção com a **interpretação de todos os resultados obtidos**.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DO TESTE EMMA

Foi detectado DNA de bactérias potencialmente patogênicas do sistema reprodutor, não relacionadas à endometrite crônica, fora do intervalo de referência. A Igenomix recomenda normalizar esses valores antes de realizar uma transferência embrionária para melhorar as chances de uma gravidez bem-sucedida de acordo com evidências científicas (1,2,3).

Tanto o resultado obtido por este teste quanto a recomendação terapêutica sugerida constituem informações que devem ser avaliadas por um médico no âmbito de uma consulta clínica. É o profissional médico que deve considerar a possível prescrição de um tratamento antibiótico e/ou probiótico em conjunto com os achados clínicos disponíveis de cada paciente. No caso de tratamento prescrito, também é recomendável analisar uma nova biópsia após sua conclusão para confirmar os valores normalizados de bactérias potencialmente patogênicas. A nova amostra deve ser coletada seguindo o protocolo de teste padrão.

Foi detectado DNA de *Lactobacillus* na amostra endometrial. *Lactobacillus* é a bactéria predominante no sistema reprodutor feminino durante a idade reprodutiva. Não é necessário ter diferentes cepas de *Lactobacillus*, mas é recomendável ter pelo menos uma delas para proteger o endométrio da colonização por patógenos. Leve em consideração que o uso de antibióticos pode afetar a população atual de *Lactobacillus*, causando seu declínio ou até mesmo seu desaparecimento.

Em uma porcentagem muito baixa de casos é possível se obter algum desses seguintes resultados:

- Inconclusivo: não é possível determinar o perfil bacteriano da amostra.
- Amostra inválida: a amostra não contém os parâmetros mínimos de qualidade exigidos para obter um resultado confiável. Isso pode ser devido a um problema de falta de quantidade ou qualidade de material genético obtido.

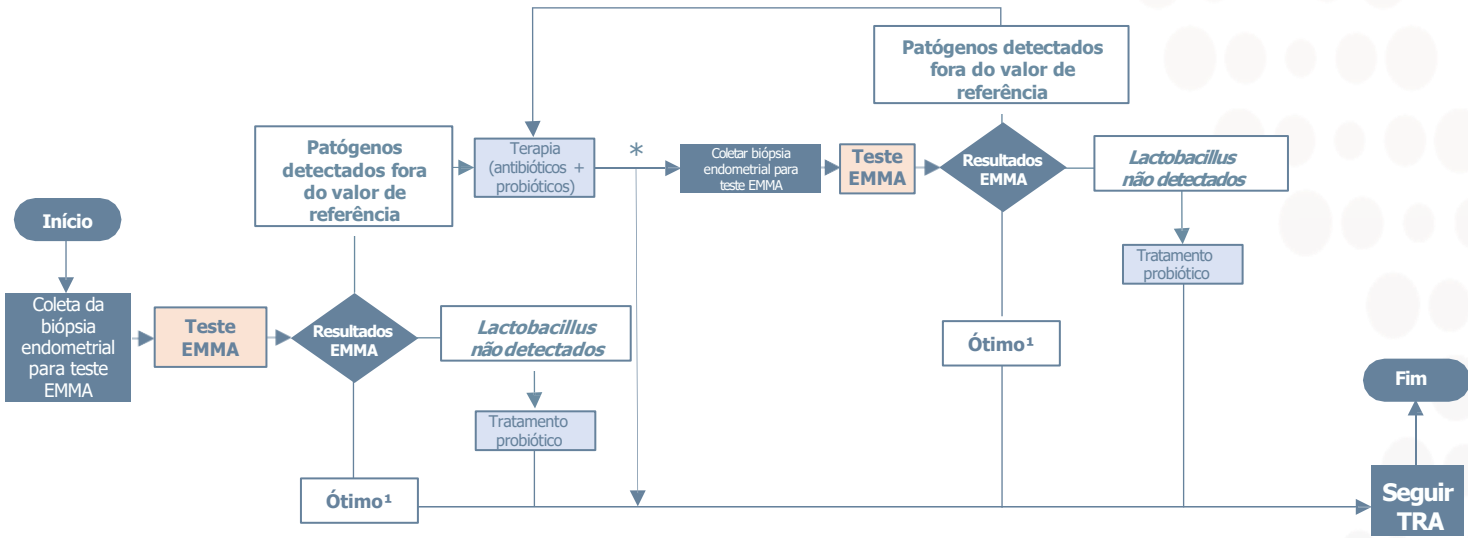
Em ambos os casos, será necessária a coleta de uma nova biópsia endometrial.

Benefícios da análise molecular da microbiota vs cultivo microbiano

O cultivo microbiano é o método padrão utilizado para a avaliação da população de bactérias e infecções. No entanto, foi demonstrado que entre 20% a 60% das bactérias não podem ser cultivadas. A avaliação molecular do microbioma permite detectar as bactérias cultiváveis e não cultiváveis presentes na amostra.

	CULTIVO	MOLECULAR
BASEADO EM	Identificação de patógenos endometriais cultiváveis	O uso de Real-Time PCR para detectar todas as bactérias (incluindo as de cultivo difícil)
OBJETIVIDADE NOS RESULTADOS	SIM	SIM
ESPECIFICIDADE (TTO AB DIRIGIDO)	SIM	SIM
DETECC. BACT. NÃO CULTIVÁVEIS	NÃO	SIM
TEMPO RESULTADOS CURTO	NÃO	SIM

Árvore de decisão EMMA



¹ Ótimo: não se detectaram patógenos e *Lactobacillus* detectados.

* Após o tratamento, deve ser decidido se será realizada diretamente a transferência embrionária ou se será repetido o teste EMMA para garantir a eliminação de bactérias potencialmente patogênicas.

Referências

- Iwami N, Komiya S, Asada Y, Tatsumi K, Habara T, Kuramoto T, et al. Shortening time to pregnancy in infertile women by personalizing treatment of microbial imbalance through Emma & Alice: A multicenter prospective study. *Reprod Med Biol.* **2025**; 24(1):e12634.
- Iwami N, Kawamata M, Ozawa N, Yamamoto T, Watanabe E, Mizuuchi M, et al. Therapeutic intervention based on gene sequencing analysis of microbial 16S ribosomal RNA of the intrauterine microbiome improves pregnancy outcomes in IVF patients: a prospective cohort study. *J Assist Reprod Genet.* **2023**; 40(1):125-135.
- Moreno I, Garcia-Grau I, Perez-Villaroya D, Gonzalez-Monfort M, Bahçeci M, Barrionuevo MJ, et al. Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in fertile patients. *Microbiome.* **2022**; 10(1):1.
- Moreno I, Garcia-Grau I, Bau D, Perez-Villaroya D, Gonzalez-Monfort M, Vilella F, et al. The first glimpse of the endometrial microbiota in early pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* **2020**; 222(4):296-305.
- 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 and Simon C. 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.
- Franasiak JM, Moreno I, Simon C. Microbiome in Embryonic Implantation and Implantation Failure. *Recurrent Implantation Failure, Etiologies and Clinical Management.* **2018**; 11:175 - 195.
- Garcia-Grau I, Simon C, Moreno I. Uterine microbiome-low biomass and high expectations[†]. *Biol Reprod.* **2019**; 101(6):1102-1114.
- Moreno I and Simon C. Relevance of assessing the uterine microbiota in infertility. *Fertility and Sterility.* **2018**; 110(3):337-343.

- Moreno I, Garcia-Grau I, Simon C. Microbiota and Pathogen Screening in the Female Reproductive Tract. In: Encyclopedia of Reproduction. 2018; Chapter 9, vol. 4, pp. 36 - 44. Academic Press: Elsevier.
- Simon C, Moreno I. Deciphering the effect of reproductive tract microbiota on human reproduction. Reproductive Medicine and Biology. **2018**; 18(1): 40 - 50.
- Moreno I, Franasiak JM. Endometrial microbiota - new player in town. Fertility and Sterility. **2017**; 108, pp. 32 - 39.
- Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez-Almazan J, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. Am J Obstet Gynecol. **2016**; 215:684-703.
- Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature **2012**; 486:207-14.

*Você pode verificar referências atualizadas em nosso website.

ALICE

Analysis of Infectious Chronic Endometritis



Antecedentes

Um bom exemplo de uma patologia causada por uma microbiota anormal é a Endometrite Crônica (EC). **A EC é uma inflamação persistente do endométrio causada por bactérias patogênicas.** Por ser geralmente é assintomática e os métodos habituais clássicos de diagnóstico (histologia, histeroscopia e cultivo microbiano) serem insatisfatórios, a EC é frequentemente negligenciada, apesar de afetar aproximadamente 30% das pacientes inférteis, podendo atingir porcentagens ainda mais altas em pacientes com falha de implantação recorrente e abortos de repetição.

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

ALICE (Analysis of Infectious Chronic Endometritis), detecta as bactérias mais frequentes causadoras de endometrite crônica. O teste permite avaliar o endométrio a nível microbiológico, com o objetivo de melhorar o manejo clínico de pacientes com essa patologia silenciosa.

Indicações para o ALICE

ALICE pode ser benéfico para pacientes com suspeita de EC ou com histórico de aborto recorrente e/ou falha de implantação, uma vez que a EC tem sido relacionada com esses desfechos reprodutivos adversos.



Metodologia

O teste ALICE utiliza Real-Time PCR para proporcionar uma triagem molecular da EC no tecido endometrial através da análise das bactérias que se relacionam com a doença com maior frequência (*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 teste se baseia na extração de DNA seguida da amplificação específica de microrganismos, que permite quantificar as bactérias-alvo presentes em uma amostra. Após receber uma biópsia endometrial e extrair o material genético (DNA), se avaliam os requisitos mínimos de qualidade da amostra antes de utilizar as técnicas de detecção.

Apenas uma amostra do endométrio contém tanto células endometriais como bacterianas. Estas podem ser analisadas através de sequenciamento para prever a receptividade endometrial e Real-Time PCR para o estudo dos patógenos mencionados.



ALICE

Detects the bacteria
causing chronic
endometritis

Exemplo laudo ALICE

O laudo ALICE apresenta uma tabela com os valores de referência e os valores obtidos para cada bactéria do painel ao analisar uma amostra endometrial:


PART OF VITROLIFE GROUP®

ANÁLISE DA ENDOMETRITE CRÔNICA INFECCIOSA (ALICE)

Informações da paciente	Informações da amostra	Informações da clínica
ID da paciente:	Data de recebimento:	Clínica:
Nome da paciente:	Data/hora do laudo:	Médico:
Data de nasc. paciente:	Tipo de amostra:	
Alergia a antibióticos:	Tipo de ciclo:	
	Dia do ciclo:	
	Nº. da biópsia:	
	Data da biópsia:	

RESULTADOS DO TESTE ALICE:

BACTÉRIAS RELACIONADAS À ENDOMETRITE CRÔNICA			
BACTÉRIAS	RESULTADO	VALOR	INTERVALO DE REFERÊNCIA
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Enterococcus faecalis</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Escherichia coli</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Mycoplasma hominis</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Não detectado	N/A	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Streptococcus agalactiae</i> group B/ <i>Streptococcus viridans</i>	Não detectado	N/A	(0 - 3.57)
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Detectado	3.82*	(0 - 3.57)

*Valores fora do intervalo de referência.

RECOMENDAÇÃO #

O tratamento sugerido para as bactérias cujo DNA detectamos seria Azitromicina 500 mg no primeiro dia, seguido de 250 mg/dia por 4 dias, por via oral, de acordo com os Manuais de microbiologia clínica (4,5). Para recolonizar posteriormente o sistema reprodutor, sugere-se também o uso de probióticos vaginais compostos apenas por cepas de *Lactobacillus* (preferencialmente vaginal), seguindo as instruções do fabricante quanto à dose e à duração do tratamento.

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

Os valores de bactérias potencialmente patogênicas **fora do valor de referência** são identificas em negrito, destacadas e com um asterisco.

Nota: Se algum dos **patógenos associados as Infecções Sexualmente Transmissíveis (*Chlamydia trachomatis* e/ou *Neisseria gonorrhoeae*)** estiver fora do valor de referência, se recomendará um teste confirmatório adicional. As infecções causadas por essas bactérias são de notificação obrigatória às Autoridades Sanitárias locais nos diferentes países. Caso esses patógenos sejam identificados, é de 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 se baseia nos Guias Microbiológicos.

Tanto o resultado obtido como a recomendação de tratamento sugerida são informações que devem ser avaliadas pelo médico em uma consulta clínica. É o profissional médico quem deve considerar a possível prescrição de um tratamento antibiótico e/ou probiótico em função das condições clínicas de cada paciente. Por isso, as pacientes não devem tomar nenhum antibiótico sem uma consulta médica prévia.

No laudo também está inclusa uma seção com a interpretação do resultado obtido.

Exemplo:

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DO TESTE ALICE

Foi detectado DNA de bactérias potencialmente patogênicas relacionadas à endometrite crônica fora do intervalo de referência na amostra endometrial. A Igenomix recomenda normalizar esses valores antes de realizar uma transferência embrionária para melhorar as chances de uma gravidez bem-sucedida de acordo com evidências científicas (1,2,3).

Tanto o resultado obtido por este teste quanto a recomendação terapêutica sugerida constituem informações que devem ser avaliadas por um médico no âmbito de uma consulta clínica. É o profissional médico que deve considerar a possível prescrição de um tratamento antibiótico e/ou probiótico em conjunto com os achados clínicos disponíveis de cada paciente. No caso de tratamento prescrito, também é recomendável analisar uma nova biópsia após sua conclusão para confirmar os valores normalizados de bactérias potencialmente patogênicas. A nova amostra deve ser coletada seguindo o protocolo de teste padrão.

Nota: os números entre parênteses nos textos do laudo fazem referência a publicações científicas que são indicadas no final do relatório.

Em uma porcentagem muito baixa de casos, pode-se obter algum dos seguintes resultados:

- Inconclusivo: não é possível determinar o perfil bacteriano da amostra.
- Amostra inválida: a amostra não contém os parâmetros mínimos de qualidade exigidos para obter um resultado confiável. Isso pode ser devido a um problema de falta de quantidade ou qualidade de material genético obtido.

Em ambos os casos, será necessária a coleta de uma nova biópsia endometrial.



Benefícios da análise molecular da microbiota vs histologia, histeroscopia e cultivo microbiano.

O diagnóstico atual da EC se baseia tradicionalmente na histologia, histeroscopia e/ou cultivo microbiano. Entretanto, **estes métodos clássicos proporcionam resultados inconclusivos ou errôneos em 80% dos casos.** Enquanto a histologia costuma subdiagnosticar a EC, a histeroscopia tende a superdiagnosticar a doença.

Estes métodos não identificam com precisão os agentes patogênicos responsáveis pela doença, e, com frequência, antibióticos de amplo espectro são prescritos.

O cultivo microbiano é capaz de isolar o patógeno responsável, entretanto, de 20% a 60% das bactérias não são cultiváveis em condições padrão de laboratório, ou não são geralmente avaliadas na prática clínica.

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

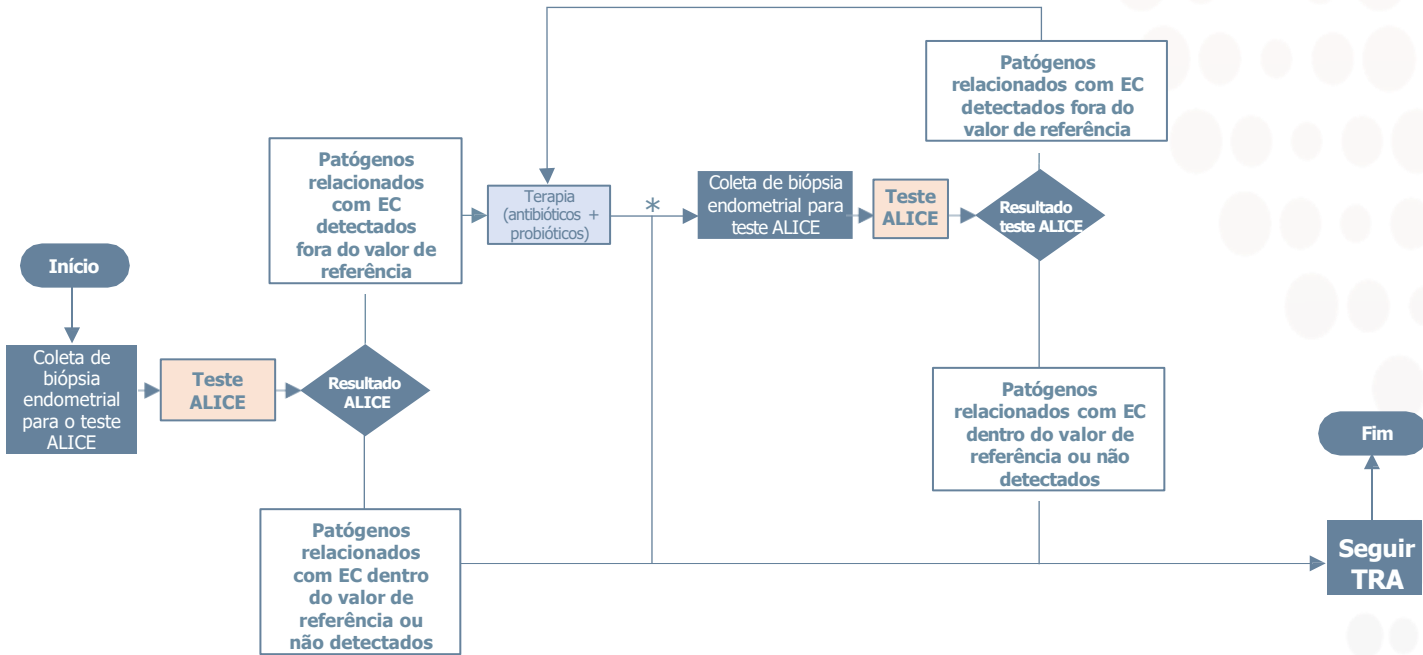
	HISTOLOGIA	HISTEROSCOPIA	CULTIVO	MOLECULAR
BASEADO EM	Identificação de células plasmáticas CD138+ no estroma endometrial	Identificação de edema estromal, hiperemia epitelial focal ou difusa e/ou presença de micropólipos	Identificação de patógenos endometriais cultiváveis	Uso de Real-Time PCR para detectar DNA de todas bactérias (incluindo as difíceis de cultivar)
OBJETIVIDADE NOS RESULTADOS	NÃO	NÃO	SIM	SIM
ESPECÍFICO (TTO AB DIRIGIDO)	NÃO	NÃO	SIM	SIM
DETECC. BACT NÃO CULTIVÁVEIS	NÃO	NÃO	NÃO	SIM
TEMPO RESULTADOS CURTO	NÃO	SIM	NÃO	SIM



ALICE

Detects the bacteria
causing chronic
endometritis

Árvore de decisão ALICE



* Após o tratamento, deve ser decidido se será realizada diretamente a transferência embrionária ou se será repetido o teste ALICE para garantir a eliminação de bactérias potencialmente patogênicas.



Referências

- 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
- 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.
- 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.

* Você pode verificar referências atualizadas em nosso website.

Biópsia Endometrial



Requisitos para a coleta da biópsia endometrial

- **A biópsia endometrial para os testes ERA, EMMA, ALICE ou EndomeTRIO deve ser realizada seguindo todas as indicações deste manual.**
- A biópsia endometrial pode ser coletada no consultório ginecológico, sem uso de anestesia. **Caso a biópsia for coletada durante uma histeroscopia, se recomenda coletá-la ao início do procedimento,** antes de distender a cavidade uterina e sem utilizar tratamento antibiótico antes, durante ou depois do procedimento. A biópsia só pode ser coletada durante uma histeroscopia se esta for observacional e nenhuma intervenção for realizada.
- **Para realizar os testes EMMA ou ALICE (sozinhos ou com o teste ERA), a administração de antibióticos deve ser evitada por pelo menos 7 dias antes da coleta da amostra, durante o procedimento e até o recebimento dos resultados do teste.** Deste modo, o microbioma do dia da biópsia será representativo do microbioma da paciente no dia em que receberá os resultados do teste. **Qualquer medicação que possa afetar a microbiota ou o estado imunológico da paciente também deve ser informado no formulário de requisição do 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 combinado com EMMA/ALICE

No caso de que se solicite um teste ERA (sozinho ou combinado com outros testes), a biópsia endometrial deve ser realizada de acordo com as seguintes indicações:

- 1. O diagnóstico ERA é válido para o tipo de ciclo no qual se realizou o teste,** e, portanto, o embrião deve ser transferido no mesmo tipo de ciclo e janela de implantação personalizada na qual se obteve um diagnóstico "Receptivo". Deste modo, o tipo de ciclo da biópsia deve corresponder ao tipo de ciclo previsto para a transferência embrionária.
- 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 em D3 serão transferidos, ainda assim biópsia deve ser realizada em P+5 ou hCG+7/LH+7/Ovulação+6, uma vez que o ERA verifica o endométrio no momento da implantação. Deste modo, se obtiver um resultado receptivo em P+5, transferirá um blastocisto em P+5 ou um embrião em D3 dois dias antes, ou seja, em P+3.

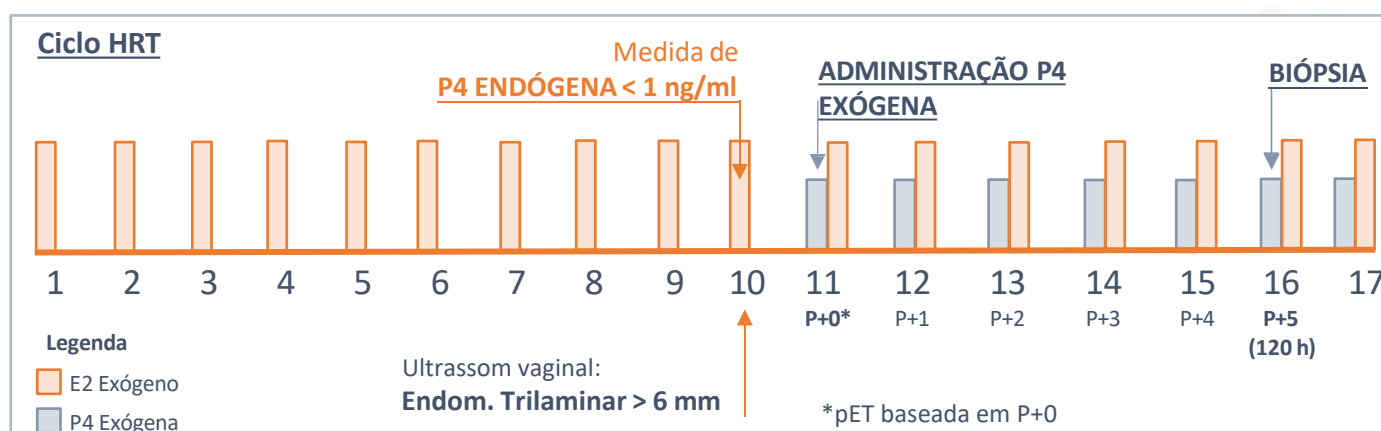
2a) Ciclo de Terapia Reposição Hormonal (HRT): consiste em um tratamento com estrógenos e progesterona para preparar o endométrio de forma controlada, similar a um ciclo natural, para a transferência de embriões, utilizando o protocolo habitual da clínica ou nosso protocolo padrão:

A paciente inicia a terapia com estradiol a partir do 1º ou 2º dia do ciclo menstrual. Uma ultrassonografia é realizada entre 7 e 10 dias depois. Não recomendamos que a administração de estradiol se prolongue por mais de 17 dias antes do início da administração de progesterona.



Se inicia a administração de progesterona (P4) quando se atinge um endométrio trilaminar >6 mm com uma P4 sérica <1 ng/ml (nas 24 horas prévias ao início da P4 exógena), continuando com o tratamento de estradiol. O dia que se inicia o tratamento com P4 é chamado P+0, e a biópsia é coletada no dia P+5, após 5 dias completos de administração de progesterona (120 horas desde a primeira dose até a biópsia).

Protocolo HRT de rotina:



- Em um ciclo HRT é muito importante garantir que não haja ovulação, e, portanto, o nível de P4 endógena deve ser medido sempre dentro das 24 horas prévias a primeira dose de P4 exógena. O nível sérico deve ser <1ng/ml, caso contrário a recomendação é cancelar o ciclo e começar um novo. A falha no controle adequado de progesterona endógena pode resultar em um artefato de P4 endógena, podendo afetar a precisão e reprodutibilidade dos resultados do teste ERA.
- A recomendação para a transferência embrionária personalizada (pET) será baseada no tempo total de exposição a progesterona exógena (o ponto de referência será o dia P+0).



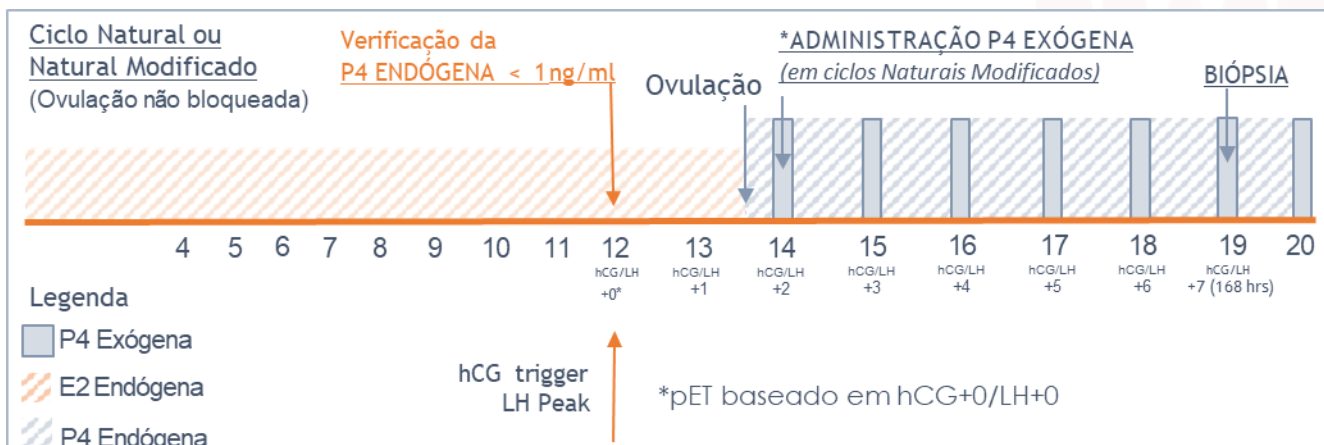
2b) Ciclo natural: Para os Ciclos Naturais sempre precisamos ter uma data de referência quanto ao momento da ovulação, que pode ser uma das três opções a seguir:

- i. Data do hCG (recombinante ou urinário):** o hCG é administrado segundo os parâmetros de rotina em um ciclo natural (tamanho do folículo >17mm). O dia da administração do hCG é considerado hCG+0 e a biópsia é realizada 7 dias depois, em hCG+7 (168 horas depois da injeção de hCG).
- ii. Data do pico de LH:** para detectar corretamente o pico de LH, os níveis de LH na urina ou sangue devem ser verificados 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 é coletada 7 dias depois, em LH+7.
- iii. Data de ovulação:** a amostra também pode ser coletada em um ciclo natural, durante a fase secretora, uma vez que a ovulação induz a produção de estrógenos e progesterona. O dia da ovulação determinado por ultrassonografia se considera Ov+0 e a biópsia é coletada 6 dias depois, em Ov+6.

Nos ciclos naturais pode-se administrar uma suplementação de progesterona, passando então a serem chamados de "ciclo natural modificado". Nesses ciclos a data de referência para a recomendação de pET continua sendo a data de hCG/LH/Ovulação. A suplementação com progesterona pode ser iniciada a partir de LH+1/hCG+1/Ov+0, no momento em que normalmente é realizada na prática de sua clínica (nunca antes da injeção de hCG ou do pico de LH). É importante ter em conta que o momento em que se inicia a suplementação com progesterona deve ser replicado também no ciclo de transferência (ou seja, se uma paciente começa a suplementação com progesterona em hCG+2 para o ciclo de biópsia, deve iniciar também em hCG+2 no ciclo de transferência, independente do resultado obtido).



Ciclo Natural: protocolo de rotina



Para garantir que não houve escape de progesterona endógena no momento da injeção de hCG/pico de LH, o nível de P4 endógena deve ser verificado sempre em hCG+0/LH+0 e este deve ser <1ng/ml, do contrário a recomendação é cancelar o ciclo e começar um novo. A falha no controle adequado de P4 endógena pode resultar em um artefato de P4 endógena, podendo afetar a precisão e reprodutibilidade dos resultados do teste 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 será cancelar a análise. **O teste ERA não pode ser realizado sem essa data de referência, pois o resultado não seria reprodutível.**



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

Para os testes EMMA/ALICE a paciente deve **evitar antibióticos pelo menos 7 dias antes da coleta da biópsia, durante procedimento e até que receba os resultados do teste.**

As **biópsias endometriais para os testes EMMA&ALICE devem ser coletadas sempre na fase secretora** porque este é o período de máxima estabilidade da microbiota do trato reprodutivo devido a influência dos estrógenos e progesterona. **Uma amostra coletada fora da fase indicada a seguir pode gerar um resultado pouco confiável.**

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

- a) Ciclos HRT:** as amostras devem ser coletadas durante os dias de administração de progesterona (P+1 em diante), preferencialmente em 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 tem ciclos regulares (entre 26 e 32 dias).

Para as pacientes com ciclos irregulares, se recomenda realizar um ciclo HRT ou controlar a ovulação. Nesse caso, a biópsia pode ser coletada 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 (ACO): apenas para ACOs com determinadas composições. Por favor, confirmar sempre com nossos especialistas antes de programar a biópsia. A biópsia deve ser coletada entre **os dias 14 e 21 da administração de pílulas ativas (quando a paciente toma tanto pílulas ativas como pílulas placebo) ou a partir do dia 14 se toma continuamente pílulas ativas (não toma pílulas placebo, nem realiza a pausa)**

Dia da biópsia endometrial: resumo

Tipo ciclo	ERA	EMMA&ALICE	Comentários
HRT	P+5 (120h)	P+1 em diante	
Natural ou Natural Modificado	hCG+7 (168 h) LH+7 (168 h) Ov+6 (144 h)	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 pacientes com ciclos irregulares que solicitarem EMMA/ALICE, recomendamos realizar um ciclo HRT ou monitorar a ovulação. Para cada tipo de ciclo natural, na coluna anterior, se inclui a primeira e última data válida para a coleta da amostra.
Durante ACOs	NÃO	Dias 14 - 21 de ingesta de pílulas ativas (se a paciente toma pílulas placebo) Dia 14 em diante (ingesta continua de pílulas ativas)	Nem todos os ACOs são adequados para os testes EMMA/ALICE. Recomendamos consultar com nossos especialistas sobre a composição do mesmo antes de programar a biópsia. Na coluna anterior, se incluem a primeira e última data válidas para a coleta da amostra.

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 uma vez que as condições não podem ser replicadas durante o ciclo pET. 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 podem ser coletadas durante a fase secretora para garantir a estabilidade do microbioma.



Protocolo de Biópsia Endometrial

Apenas uma biópsia endometrial é suficiente para um teste individual ou para o EndomeTRIO (ERA, EMMA e ALICE). Igenomix fornecerá um criotubo para cada biópsia. O criotubo contém 1,5 ml de uma solução transparente para conservar o material genético.

- 1. Limpar o colo uterino com uma gaze estéril e seca** (evitar o uso de betadine) e não introduzir nenhum tipo de líquido no endométrio.
- 2. Identifique o tubo** com: nome da paciente, data de nascimento e data da biópsia.
- 3. A biópsia endometrial deve ser coletada do fundo uterino com o catéter Pipelle ou similar.** Em caso excepcional de utilizar um cateter diferente da Pipelle fornecida pela Igenomix, certifique-se que ele tinha a marcação CE e informe-nos por e-mail sobre as características do mesmo.
- 4. Colete pelo menos 70 mg de tecido** (corresponde a um pedaço cúbico de tecido com lados de aproximadamente 7mm). O **volume da amostra não deve exceder a linha branca marcada no criotubo (que corresponde a 1/3 do volume total do criotubo; ver imagem abaixo).** Para quantidades maiores de tecido, não haverá solução estabilizadora suficiente no criotubo, podendo ocasionar degradação no RNA.





5. **Certifique-se que a amostra realmente contenha tecido endometrial, não apenas sangue ou muco.** Deve-se evitar quantidades excessivas de sangue ou muco.
6. **Evite o contato da amostra com qualquer solução que não seja a solução estabilizadora do criotubo** (não lavar a amostra).
7. **Uma vez realizada a biópsia, a amostra deve ser transferida imediatamente ao criotubo fornecido, evitando tocá-lo com a pipeta e agitando vigorosamente durante pelo menos 10 segundos** (para garantir que a solução penetre no tecido e estabilize o RNA da amostra).
8. **O criotubo que contém a amostra deve ser transferido imediatamente para a geladeira (4-8°C/39-46°F) e ficar armazenado ali por pelo menos 4 horas** (não colocar no congelador antes de completar estas 4 horas).
9. **Depois de refrigerar durante pelo menos 4 horas, as amostras podem ser enviadas para a Igenomix à temperatura ambiente.** Se as amostras forem ficar expostas a temperaturas >35°C/95°F recomendamos enviá-las com gelo-gel. As entregas em temperatura ambiente nunca devem exceder 5 dias.
10. **As amostras também podem ser mantidas na geladeira por até 3 semanas ou podem ser congeladas a -20°C/-4°F** (depois das primeiras 4 horas a 4-8°C/39-46°F) se não forem enviadas a Igenomix imediatamente. Entretanto, para casos de EMMA, ALICE ou EndomeTRIO, a recomendação é processar a amostra o quanto antes após sua coleta, uma vez que o microbioma pode flutuar com o tempo. Não recomendamos atrasar o envio de amostras por mais de uma semana.



Logística

Amostras e documentos:

- Leia e preencha corretamente a informação do "Formulário de Requisição do Teste" e "Termo de Consentimento Informado".
- Coloque o criotubo fornecido pela Igenomix, já contendo a biópsia endometrial, no interior do recipiente de plástico do kit e feche-o. Introduza o recipiente dentro da caixa do kit e esta dentro do envelope plástico de devolução.
- Inclua os documentos "Formulário de Requisição do Teste" e "Termo de Consentimento Informado" envelope plástico de devolução.
- Dependendo de sua localização, poderá ser necessária inclui sobre o plástico de devolução a etiqueta "UN3373". Esta etiqueta deve ser incluída dentro do kit fornecido. Por fim, cole a guia de remessa fornecida pelo Suporte ao Cliente no envelope de devolução.
- Os envios em temperatura ambiente não devem exceder 5 dias de duração para garantir a ação estabilizadora do líquido do criotubo. Quando as temperaturas forem superiores a 35°C/95Fº, se recomenda adicionar um gelo gel à embalagem. Em caso de dúvidas, favor contatar nosso departamento de Atendimento ao Cliente (atendimentoaocliente@igenomix.com).

Envio:

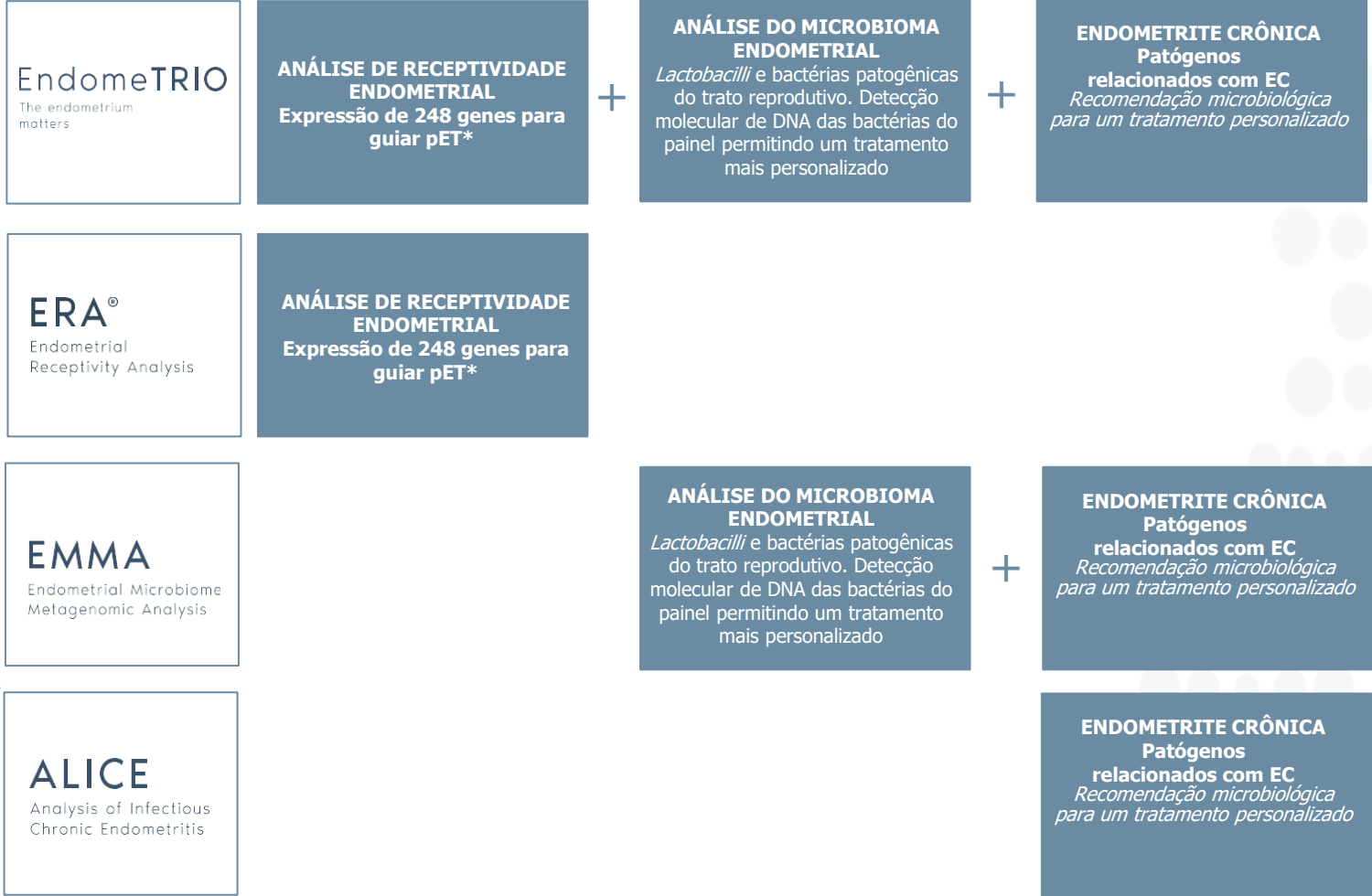
- Por favor, informe-nos cada remessa via e-mail (labbrasil@igenomix.com), indicando o número de amostras e seu histórico médico ou número de referência.
- Você pode usar uma empresa de transporte de sua preferência, ou, se desejar, podemos informá-lo sobre nosso serviço de coleta.



Uma visão completa da saúde endometrial

TESTE SOLICITADO

TESTES INCLUIDOS E APLICAÇÃO



*pET: transferência embrionária personalizada



Lista de abreviaturas

ACOs	Pílulas Anticoncepcionais Orais
ALICE	Análise da endometrite crônica infecciosa
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
E2	Estrógenos
EC	Endometrite crônica
EMMA	Análise Metagenômica do Microbioma Endometrial
ERA	Análise da Receptividade Endometrial
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
HMP	Projeto Microbioma Humano
HTR	Terapia de Reposição Hormonal
IMC	Índice de massa corporal
LH	Hormônio Luteinizante
NGS	Sequenciamento de nova geração
Ov	Ovulação
P4	Progesterona
PCR	Reação em cadeia da polimerase
pET	Transferência embrionária personalizada
RIF	Falha Recorrente de Implantação
RNA	Ácido Ribonucleico
RPL	Aborto Recorrente
WOI	Janela de implantação

