

# Uma visão completa da saúde endometrial

Igenomix<sup>®</sup>

# Índice

## **ERA – Análise da Receptividade Endometrial - 4**

Apresentação - 5

Indicações para o teste ERA - 7

Metodologia - 8

Laudo e interpretação de resultados - 10

Fluxo de decisões - 14

Referências - 15

## **EMMA – Análise Metagenômica do Microbioma Endometrial - 17**

Apresentação - 18

Indicações para o teste EMMA - 19

Metodologia - 20

Laudo e interpretação de resultados - 21

Fluxo de decisões - 23

Vantagens do sequenciamento de nova geração (NGS) vs cultura microbiana - 24

Referências - 25



# Summary

## **ALICE – Análise da Infecção por Endometrite Crônica - 27**

Apresentação - 28

Indicações para o teste ALICE - 29

Metodologia - 30

Laudo e interpretação de resultados - 31

Fluxo de decisões - 33

Vantagens da detecção de patógenos por sequenciamento de nova geração (NGS) vs métodos clássicos - 34

Referências - 35

## **Biópsia endometrial para ERA, EMMA, ALICE - 37**

Biópsia endometrial - 38

Dia da biópsia endometrial - 41

Logística - 47

## **Uma visão completa da saúde endometrial - 49**



# ERA<sup>®</sup>

Endometrial  
Receptivity Analysis

Igenomix<sup>®</sup>

## Apresentação

O fator endometrial é chave para que a implantação embrionária aconteça com sucesso. Além de avaliar a presença de malformação e anomalias na cavidade uterina, é importante identificar o momento em que o endométrio de uma paciente adquire o fenótipo receptivo, ou seja, quando começa sua janela de implantação. Pacientes com repetidas falhas de implantação (RIF) podem apresentar um deslocamento desta janela, tendo como consequência que a transferência embrionária se realize 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. Esta análise é realizada com uma ferramenta desenvolvida e patenteada em 2009 (PCT/ES2009/000386) pela Igenomix, depois de mais de 10 anos de pesquisa científica (Diaz-Gimeno et al. Fertil Steril, 2011-2013).

# ERA<sup>®</sup>

Endometrial  
Receptivity Analysis

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

A Igenomix demonstrou nos últimos anos que a sincronização entre um embrião pronto para implantar e um endométrio receptivo aumenta as probabilidades de sucesso das técnicas de Reprodução Assistida (Ruiz-Alonso et al. Fertil Steril, 2013; Ruiz-Alonso et al. Hum Reprod, 2014; Clemente-Ciscar et al. Hum Reprod, 2018). Outros grupos externos também publicaram resultados similares após guiar a transferência embrionária de suas pacientes conforme o resultado do teste 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).

**ERA (Endometrial Receptivity Analysis), identifica o melhor momento no ciclo endometrial para realizar a transferência embrionária.** Com isso, o teste ERA pode aumentar as chances de gravidez através da sincronização do embrião com um endométrio receptivo.

**Igenomix<sup>®</sup>**



# ERA<sup>®</sup>

Endometrial  
Receptivity Analysis

## Indicações para o ERA

O teste ERA é indicado para pacientes todas as pacientes que realizarão um tratamento de Fertilização in Vitro e querem evitar a perda de embriões de boa qualidade devido a uma janela de implantação fora do padrão, o que ocorre em 3 de cada 10 pacientes.

Caso sua paciente requeira uma intervenção a nível uterino, o teste ERA deve ser realizado após esse procedimento com o objetivo de replicar a condição na qual o embrião será transferido.

Em caso de endométrio atrófico (<6 mm) ou hipertrófico (>12 mm), pode ser realizado o teste ERA desde que a aparência endometrial seja consistente entre os ciclos da paciente.

## Metodologia

Este teste faz uso da tecnologia de sequenciamento de nova geração (NGS) para analisar a expressão gênica de 248 genes relacionados com o status de receptividade endometrial.

Os resultados do teste têm como base a análise de expressão de 248 genes com um preditor informático projetado 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 momento dado de seu ciclo endometrial. Este resultado irá acompanhado de uma recomendação para realizar a transferência embrionária personalizada em cada paciente segundo seu perfil endometrial. Em 10% dos casos, pode ser necessário validar a janela de implantação personalizada realizando uma segunda biópsia no dia especificado pela análise do 1º teste ERA.



# ERA<sup>®</sup>

Endometrial  
Receptivity Analysis

Para que o resultado seja replicável, o teste ERA deve realizar-se reproduzindo exatamente as mesmas condições do ciclo da transferência embrionária (tipo de ciclo, medicação e forma de administração), e sempre em ciclos naturais ou terapias de substituição hormonal. Este teste não pode ser realizado em ciclos de estimulação ovariana.

A primeira biópsia deve ser realizada sempre após 5 dias completos de administração de progesterona (P+5) em um ciclo de HRT (ou seja, 120 horas de administração de progesterona), ou 7 dias após a injeção de hCG (hCG+7) em um ciclo natural (ou seja, 168 horas após o hCG). No caso de transferir embriões de dia 3, a biópsia deve ser feita no P+5 ou hCG+7, já que o teste ERA analisa o endométrio no momento de implantação. De esta maneira, caso o resultado acusar receptivo em P+5 a transferência do blastocisto é realizada em P+5 ou um embrião de dia 3 dois dias antes, ou seja, em P+3. Nunca realize a biópsia em P + 3. Indicamos a **dosagem de Progesterona endógena antes de iniciar com a administração de progesterona exógena** (P4<1ng/ml)

## Laudo e interpretação de resultados

O laudo do teste ERA indica o momento ideal para realizar a transferência embrionária personalizada, ou o momento em que a nova biópsia deve ser coletada (dependendo do caso).

### Interpretação de 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 foi realizado o teste ERA.

# ERA<sup>®</sup>

Endometrial  
Receptivity Analysis

**Receptivo tardio:** O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio ao final da fase receptiva. Se recomenda adiantar a transferência de blastocisto(s) 12 horas em relação ao momento em que o teste ERA foi realizado.

**Pré-receptivo:** O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio em fase pré-receptiva. Isso pode ser resultado de um deslocamento da janela de implantação. Em 5% dos casos (quando este deslocamento é de 2 dias) se poderiam requerer uma nova biópsia endometrial para validar o resultado indicado.

# ERA<sup>®</sup>

Endometrial  
Receptivity Analysis

**Pós-receptivo:** O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio em fase pós-receptiva. Isto pode ser resultado de um deslocamento da janela de implantação. Para sua validação, é necessário uma nova biópsia endometrial conforme indicações do laudo.

**Proliferativo:** O perfil de expressão gênica é compatível com um endométrio em fase proliferativa. É recomendado contatar com o laboratório da Igenomix para avaliar o protocolo em que foi realizada a biópsia endometrial.

\* Em aproximadamente 5% das amostras recebidas não se obtêm um diagnóstico devido à um resultado de um perfil não informativo ou de Baixa quantidade/qualidade do material genético recebido.

\* Siga as recomendações do laudo. O teste ERA não garante a implantação. As falhas de implantação podem ser provocadas por outros fatores.


**Igenomix<sup>®</sup>**



## Laudo

O objetivo deste teste é aportar um diagnóstico molecular objetivo da receptividade endometrial.

Este teste deve ser prescrito e interpretado pelo médico.



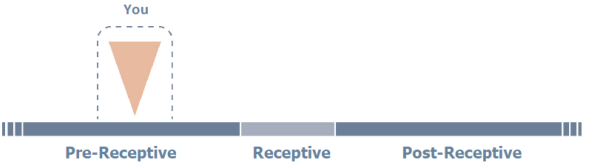
### ERA (ENDOMETRIAL RECEPTIVITY ANALYSIS)

Patient information	Sample information	Clinic information
Unique pat id.:	Date received:	Clinic:
Sample type:	Report Date:	Clinician: Dr.
Patient name:	First intake of P4:	No. biopsy:
Patient DOB:	Date of biopsy:	
	Cycle type:	

**TEST RESULTS:**

**PRE-RECEPTIVE**

**Recommendation: The personalized embryo transfer (pET) of a blastocyst/s should be performed with 146 ± 3 hours of progesterone administration (1 day later than the time at which this endometrial biopsy was performed). A new endometrial biopsy is not required. \*\***



**INTERPRETATION OF YOUR RESULT:**

According to our internal data, 89% of women with similar endometrial profile reached receptivity with 1 more day of progesterone administration (confidence interval of 95% [86%-91%]), so in these cases new endometrial biopsy is not needed. Therefore, blastocyst/s transfer is recommended with 146 ± 3 hours of progesterone administration.

For a day-3 embryo/s, the transfer should be performed two days earlier than indicated in the recommendation for blastocyst transfer above.

\*\* This recommendation is only applicable to the same type of cycle treatment as the one used for this endometrial biopsy and if the endogenous progesterone measured prior to the first progesterone intake is <1ng/ml.

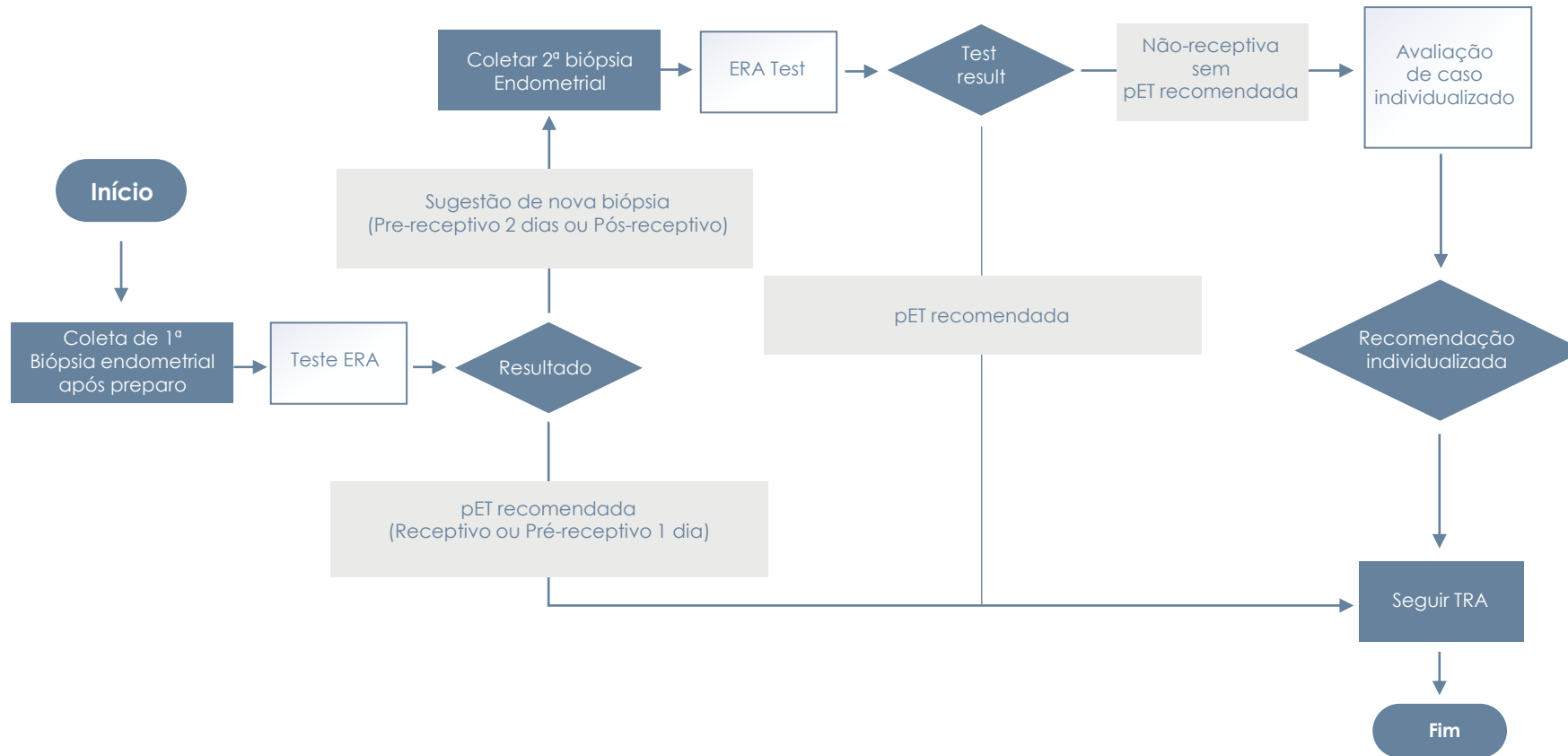
**TEST DESCRIPTION:**

ERA (Endometrial Receptivity Analysis) is a molecular tool used to determine if the endometrium (the mucous membrane lining the womb) exhibits a receptive profile after 5 days of progesterone exposure, the time at which the endometrium is typically ready for embryo implantation. This molecular diagnosis method is based on measuring the gene expression profile of endometrial tissue. Therefore, ERA helps to determine when the endometrium presents the ideal condition for embryo implantation, increasing the possibility of a successful in vitro fertilization treatment.

**COMMENTS**

None

## ERA | Árvore de decisão



## Referências

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, Garrido N, Pellicer A, Simón C. 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.

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.

# ERA<sup>®</sup>

Endometrial  
Receptivity Analysis

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.

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

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, Carrera J, Vilella F, Pellicer A, Simón C. 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.

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.



# EMMA

Endometrial Microbiome  
Metagenomic Analysis

# EMMA

Endometrial Microbiome  
Metagenomic Analysis

O Projeto do Microbioma Humano (HMP) **destacou a importância dos diferentes microrganismos e seus genomas na saúde e doença humana** (Human Microbiome Project Consortium, 2012).

Este conhecimento mostrou a relevância de identificar desequilíbrios ou patógenos no microbioma para melhorar o manejo clínico em diferentes áreas da medicina.

Uma pesquisa científica realizada pela Igenomix confirmou a existência de um microbioma endometrial, demonstrando que a disbiose da cavidade uterina está associada a resultados reprodutivos insatisfatórios em pacientes em Tratamento de Reprodução Assistida. (Moreno et al. Am J Obstet Gynecol, 2016).

Um perfil de microbiota endometrial disbiótica composto pelos gêneros Atopobium, Bifidobacterium, Chryseobacterium, Gardnerella, Haemophilus, Klebsiella, Neisseria, Staphylococcus e Streptococcus foi associado a resultados mal sucedidos. Em contraste, o gênero Lactobacillus foi consistentemente enriquecido em pacientes com resultados de nascidos vivos. (Moreno, I., Garcia-Grau, I., Perez-Villaroya, D. et al. A composição da microbiota endometrial está associada ao resultado reprodutivo em pacientes inférteis. Microbioma 10, 1 (2022).

**Igenomix**<sup>®</sup>



# EMMA

Endometrial Microbiome  
Metagenomic Analysis

EMMA (Endometrial Microbiome Metagenomic Analysis), é um teste que pode identificar se o ambiente microbiano uterino é favorável para a implantação embrionária.

O Teste EMMA proporciona uma visão completa da composição do microbioma endometrial, incluindo os patógenos causadores da Endometrite Crônica, que podem ser analisados especificamente através do teste ALICE.

## Indicações para o EMMA

Está comprovado o benefício de considerar o microbioma endometrial de pacientes com repetidas falhas de implantação (RIF) (Moreno et al. Am J Obstet Gynecol, 2016), porém **o teste EMMA também pode ser conveniente para todas pacientes com desejo reprodutivo de forma preventiva**, já que proporciona informação sobre o ambiente microbiológico que o embrião encontrará no momento da implantação.

## Metodologia

O teste EMMA utiliza a mais recente tecnologia de Sequenciamento de Nova Geração (NGS) para proporcionar informações sobre o microbioma do endométrio, analisando o perfil completo do ambiente microbiano endometrial. Esta tecnologia tem como base a extração do DNA e sequenciamento do gene do RNA ribossomal 16S de bactérias. Este gene bacteriano, presente em todas as bactérias, apresenta 9 regiões variáveis com sequências de DNA específicas para cada espécie. Isto permite a identificação e quantificação das bactérias presentes na amostra.

Uma única amostra endometrial contém células endometriais e bacterianas que podem ser analisadas por NGS para aportar informação sobre a receptividade e microbioma endometrial. Portanto, o teste EMMA proporciona uma visão microbiológica do endométrio com o objetivo de melhorar o manejo clínico das pacientes.

# EMMA

Endometrial Microbiome  
Metagenomic Analysis

## Laudo e interpretação de resultados

O laudo do teste EMMA proporciona informações sobre a saúde bacteriana da cavidade uterina. Incluindo:


- Porcentagem de Lactobacilos na amostra recebida.
- Porcentagem das bactérias detectadas em uma amostra endometrial (para as presentes em quantidade representativa).
- Classificação do perfil da microbiota endometrial: normal (porcentagem elevada de Lactobacilos), anormal (presença significativa de bactérias patogênicas ou disbióticas), disbiótico (porcentagem baixa de Lactobacilos) ou biomassa muito baixa (a quantidade da flora endometrial é extremamente baixa)
- Tratamento antibiótico/probiótico sugerido. Em todos os casos, um especialista em microbiologia clínica dará recomendações de tratamento antibiótico/antimicrobiano com possibilidade de assessoria ao médico especialista.
- Resultados do teste ALICE: dado que o teste EMMA inclui o teste ALICE, o laudo EMMA apresenta também o diagnóstico para a endometrite crônica, assim como as porcentagens em que se encontram as bactérias relacionadas com esta condição.

# EMMA

Endometrial Microbiome  
Metagenomic Analysis

## Laudo

As recomendações para terapia antimicrobiana serão sempre guiadas por um microbiologista clínico especializado, que irá aconselhar de forma individualizada a paciente ou o(a) médico(a).



WITH SCIENCE ON YOUR SIDE


### ENDOMETRIAL MICROBIOME METAGENOMIC ANALYSIS (EMMA)

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

EMMA TEST RESULT ABNORMAL ENDOMETRIAL MICROBIOME.  
ALICE TEST RESULT NEGATIVE FOR BACTERIAL PATHOGENS CAUSING CHRONIC ENDOMETRITIS

EMMA		ALICE	
Most abundant bacteria	%	Chronic Endometritis pathogens	%
<i>Lactobacillus</i>	22.86% *	<i>Enterobacteriaceae</i>	Not Detected
<i>Gardnerella</i>	36.43%	<i>Escherichia</i>	Not Detected
<i>Prevotella</i>	22.55%	<i>Klebsiella</i>	Not Detected
<i>Bifidobacterium</i>	13.64%	<i>Enterococcus</i>	Not Detected
Others	4.52%	<i>Chlamydia</i>	Not Detected
		<i>Mycoplasma</i>	Not Detected
		<i>Neisseria</i>	Not Detected
		<i>Ureaplasma</i>	Not Detected
		<i>Streptococcus</i>	Not Detected
		<i>Staphylococcus</i>	Not Detected

\* For reference intervals, please refer to Moreno et al. Am J Obstet Gynecol. 2018.



Color	Genus
Blue	Gardnerella
Orange	Lactobacillus
Dark Blue	Prevotella
Light Blue	Bifidobacterium
Grey	Others

#### INTERPRETATION OF YOUR RESULT AND RECOMMENDATION

DNA from bacterial pathogens of the reproductive tract has been detected in a significant amount in the endometrial sample.

Antibiotic therapy followed by probiotic treatment is recommended before continuing with ART. Please find below the suggested therapy based on the bacteria detected. We also recommend the analysis of a second sample after treatment, to confirm the restoration of a favourable environment for implantation.

#### SUGGESTED THERAPY

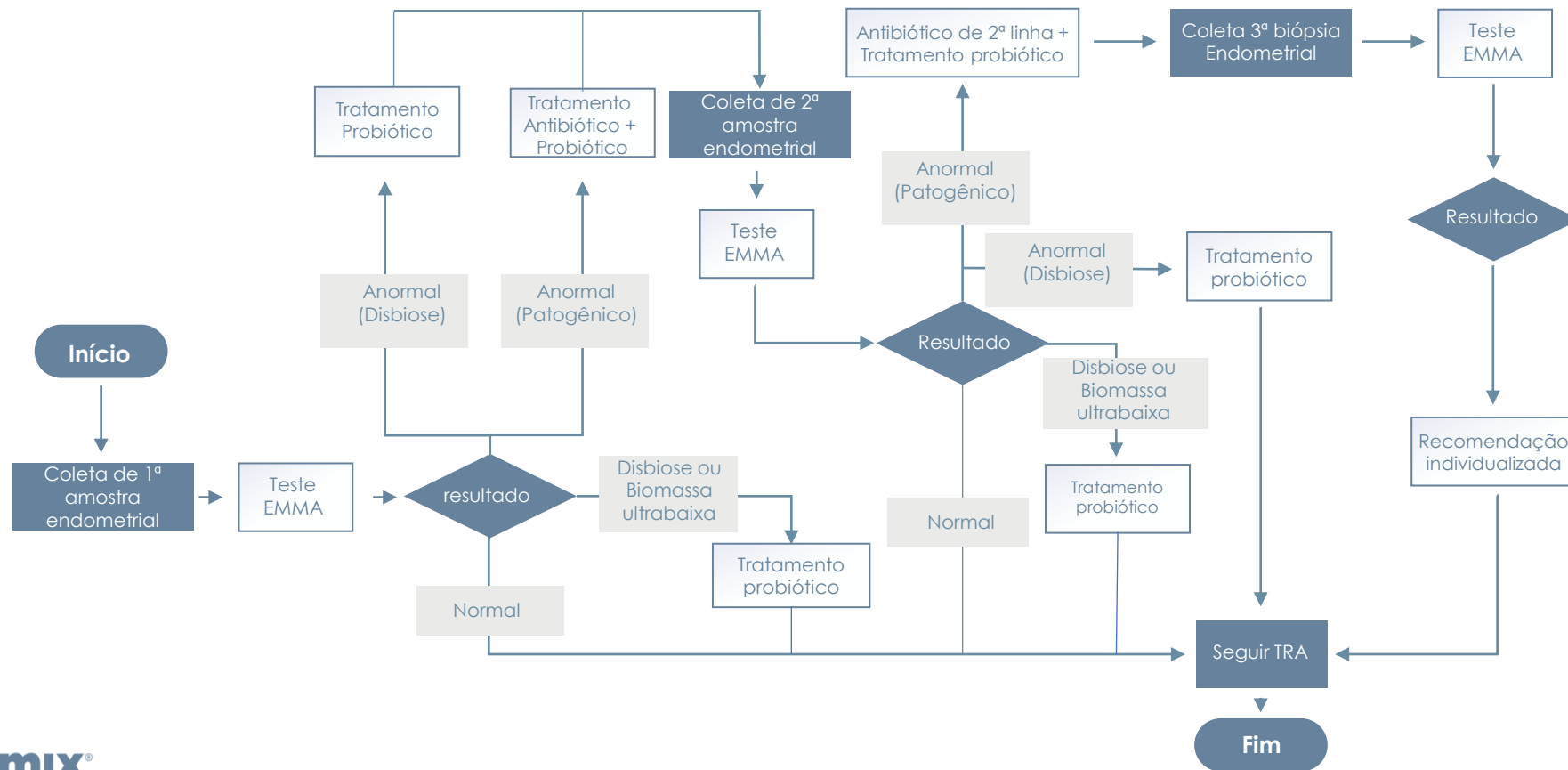
Metronidazole 500mg/12h for 7 days followed by probiotic treatment is recommended. A list with recommended probiotics of vaginal administration is provided at the end of this report.

Support +34 916993100 IGENOMIX SPAIN LAB, S.L.U. C/ Nave de Masamiron 11, Distrito Barajas B, Parque Tecnológico, ES-28960 PATERNA, Valencia, Tef: +34 916 995 310 MEE-0026024 - 115  
Igenomix is present in: Los Angeles | Miami | Sao Paulo | Valencia | Dubai | New Delhi | Mexico | New York | Montreal | London | Tokyo | Buenos Aires | Marostica | Istanbul SPA\_3\_2\_25\_254\_001-25

# EMMA

Endometrial Microbiome  
Metagenomic Analysis

## EMMA | Árvore de decisão



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

A cultura microbiana é o método tradicional para avaliação de populações bacterianas e infecções. No entanto, foi demonstrado que entre 20% e 60% das bactérias não podem ser cultivadas, dependendo da localização, ou não são avaliadas de forma habitual no âmbito clínico

A avaliação molecular do microbioma mediante NGS permite a detecção de bactérias cultiváveis e não cultiváveis.



## 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.

# EMMA

Endometrial Microbiome  
Metagenomic Analysis

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

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

Moreno, I., Garcia-Grau, I., Perez-Villaroya, D. et al. A composição da microbiota endometrial está associada ao resultado reprodutivo em pacientes inférteis. Microbioma 10, 1 (2022).

# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

## Apresentação

O melhor exemplo de patologia causada por uma microbiota endometrial alterada é a **Endometrite Crônica (EC)**. EC é uma inflamação persistente do tecido endometrial causada por uma infecção da cavidade uterina provocada por patógenos bacterianos. Por geralmente ser assintomática e os métodos atuais de diagnóstico clássico (histologia, histeroscopia e cultura microbiana) serem insatisfatórios, a EC é pouco investigada, apesar de afetar aproximadamente 30% das mulheres inférteis, enquanto a prevalência em pacientes com **Repetidas Falhas de Implantação (RIF) e Perda Gestacional Recorrente (RPL)** pode chegar a 60%.

Um estudo realizado pela Igenomix demonstrou que a avaliação molecular da EC é um método para o diagnóstico da EC em comparação com o método clássico (Moreno et al., Am J Obstet Gynecol, 2018), e deve ser considerado como uma forma de melhorar a detecção desta patologia endometrial frequentemente não diagnosticada.

# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

O teste ALICE (Analysis of Infectious Chronic Endometritis), identifica as bactérias mais frequentes associadas à Endometrite Crônica. Isso amplia o serviço de avaliação do fator endometrial a nível microbiológico oferecido pela Igenomix, com o objetivo de melhorar o manejo clínico das pacientes com essa doença silenciosa.

## Indicações para o teste ALICE

Todas as pacientes com desejo reprodutivo podem ser beneficiadas de uma análise do ambiente microbiótico que o embrião encontrará no momento da implantação. O teste ALICE é especialmente indicado para pacientes com histórico de RIF (falhas de implantação) e RPL (aborto de repetição), já que a Endometrite Crônica pode estar associada a estas complicações.

# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

## Metodologia

O teste ALICE utiliza a mais avançada tecnologia de Sequenciamento de Nova Geração (NGS) para fornecer informações sobre a microbiota do endométrio, analisando a abundância de bactérias que causam a Endometrite Crônica.

A tecnologia tem como base a extração de DNA bacteriano seguida de amplificação e sequenciamento do gene 16S rRNA das bactérias que causam a endometrite crônica com maior frequência. O rRNA do gene 16S é conservado em todas as bactérias e presente em 9 regiões variáveis com sequências de DNA específicas para cada espécie.

Isto permite a **identificação e quantificação relativa das bactérias causadoras da Endometrite Crônica.**

# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

## Laudo e interpretação de resultados

Se o resultado do teste ALICE é positivo, o laudo mostrará os patógenos detectados e a porcentagem das bactérias ligadas à Endometrite Crônica.

Estas bactérias são: Enterococcus spp., Enterobacteriaceae (Escherichia e Klebsiella), Streptococcus spp., Staphylococcus spp., Mycoplasma spp, e Ureaplasma spp. Além disso, informará sobre a existência de outras bactérias patogênicas associadas a doenças sexualmente transmissíveis (DST), como Chlamydia e Neisseria.

Dependendo do resultado do teste, será incluída uma recomendação de tratamento com os antibióticos e probióticos adequados a cada paciente.

# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

## Laudo

As recomendações para terapia antimicrobiana serão sempre guiadas por um microbiologista clínico especializado, que irá aconselhar de forma individualizada a paciente ou o(a) médico(a).



### 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: Endometrial Biopsy	
Allergic to antibiotics	Cycle type:	
	No. Biopsy:	
	Date of biopsy:	

ALICE TEST RESULT

POSITIVE FOR BACTERIAL PATHOGENS CAUSING CHRONIC ENDOMETRITIS

Chronic Endometritis pathogens	%
<i>Enterobacteriaceae</i>	Not Detected
<i>Escherichia</i>	Not Detected
<i>Klebsiella</i>	Not Detected
<i>Enterococcus</i>	Not Detected
<i>Chlamydia</i>	Not Detected
<i>Mycoplasma</i>	Not Detected
<i>Neisseria</i>	Not Detected
<i>Ureaplasma</i>	Not Detected
<i>Staphylococcus</i>	Not Detected
<i>Streptococcus</i>	69,57%

### INTERPRETATION OF YOUR RESULT AND RECOMMENDATION

DNA from bacterial pathogens of the reproductive tract causing chronic endometritis has been detected in a significant amount in the endometrial sample.

In this case, the same pathogens detected in the previous ALICE test are still present in the sample after treatment. This could be due to various reasons including an incomplete therapy or resistance to the administered antibiotic. For this reason, a second line therapy with a different antibiotic followed by probiotic is recommended below. We also recommend the analysis of another biopsy after treatment to confirm the restoration of a physiological environment.

### SUGGESTED THERAPY

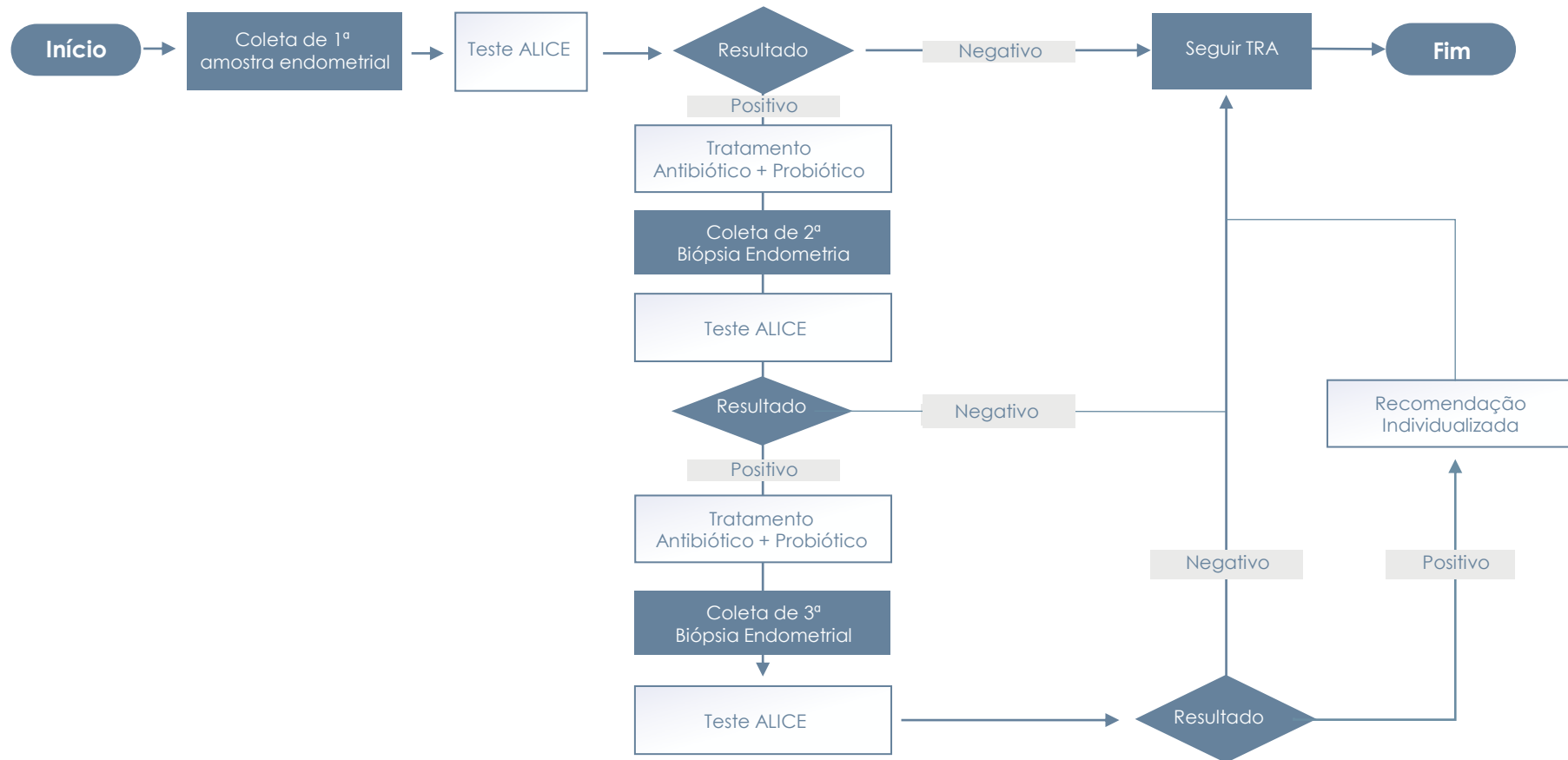
A second line treatment recommended would be Diacetyl-Midecamycin 600mg/12h for 7 days by oral way followed by vaginal probiotic treatment. A list with recommended probiotics of vaginal administration is provided at the end of this report.



# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

## ALICE | Árvore de decisão



## Benefício do NGS para detectar a Endometrite Crônica vs Método Clássico

O diagnóstico clássico da endometrite crônica é realizado por histologia ou cultivo celular.

No entanto, enquanto a histologia subdiagnostica a Endometrite, a histeroscopia sabrediagnostica esta infecção. Além disso, esses métodos não podem identificar os patógenos causadores da doença e consequentemente indicar o antibiótico específico adequado para o tratamento. No caso da microbiologia, que é capaz de isolar o patógeno responsável pela infecção, entre 20% e 60% das bacterianas não podem ser cultivadas em condições laboratoriais, portanto, não serão detectadas.

A microbiologia molecular apresenta resultados equivalentes à combinação dos métodos histologia + histeroscopia + microbiologia. (Moreno et al. Am J Obstet Gynecol, 2018).

## 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

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.

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.

# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

## Referências

I. Moreno, 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](https://doi.org/10.1201/9781315151472)



# Biópsia Endometrial

# Biópsia Endometrial

Uma única biópsia endometrial é necessária, tanto para analisar um só teste, quanto para realizar o EndomeTRIO (resultado para ERA, EMMA e ALICE).

A Igenomix proporcionará um criotubo para cada biópsia. O criotubo contém 1.5 mL de uma solução transparente para preservar o material genético. O criotubo deve ser etiquetado com a data da biópsia, iniciais da paciente e um segundo identificador da paciente (data de Nascimento ou número de registro da paciente).

Após a realização da biópsia a amostra deve ser imediatamente introduzida no criotubo fornecido pela Igenomix e o mesmo deve ser agitado vigorosamente por alguns segundos e permanecer por no mínimo 4 horas na geladeira.

# Biópsia Endometrial

A biópsia endometrial deve ser coletada do fundo uterino, usando uma cânula Pipelle (Genetics, Namont Achel, Belgium) ou similar. Na hora de biopsiar, é muito importante coletar uma quantidade suficiente de tecido (70 mg), sempre comprovando que não se colhe exclusivamente sangue ou muco. A quantidade de tecido a ser introduzida no criotubo não pode exceder a linha branca marcada no mesmo, com o objetivo de evitar a degradação do material genético.

Caso o teste EMMA ou ALICE sejam solicitados, isoladamente ou em conjunto com o teste ERA, o uso de antibiótico profilático deve ser evitado durante o procedimento.



# Biópsia Endometrial

Confirme que o criotubo contenha tecido endometrial antes de enviá-lo ao nosso laboratório de genética.

O criotubo com a amostra em seu interior deve ser mantido na geladeira (4-8°C) imediatamente depois da biópsia e durante ao menos 4 horas. Após este período, a amostra pode ser enviada para a Igenomix a temperatura ambiente (<35°C) sem superar 5 dias em transporte.

As amostras podem permanecer na geladeira até 3 semanas ou serem congeladas a -20°C (após o período das primeiras 4 horas a 4-8°C), caso não sejam enviadas em um curto espaço de tempo para a Igenomix. No entanto, no caso de solicitar um teste EMMA ou ALICE recomendamos não armazenar as amostras, mas sim processar imediatamente após a coleta e não atrasar mais de uma semana o envio da amostra.



# Biópsia Endometrial

## Dia da Biópsia Endometrial

Caso solicite os testes EMMA ou ALICE (isoladamente ou combinados com o teste ERA), recomendamos evitar a administração de antibióticos ao menos 7 dias antes da biópsia. Se a paciente fez uso de antibióticos nos últimos 3 meses esta informação deve estar contida no formulário de requisição do teste com o nome da substância ativa, dosagem, forma de administração e duração do tratamento. Inclusive antibióticos profiláticos, como os que podem ter sido utilizados na punção ovariana.

## Biópsia Endometrial para EMMA e ALICE

Se apenas os testes EMMA ou ALICE forem solicitados, a biópsia deve ser coletada **entre os dias 15 e 25 de um ciclo natural endometrial (para pacientes com ciclo regular entre 26-32 dias)**. Caso o teste ERA seja solicitado, siga o protocolo ERA.

Em pacientes com ciclos amenorreicos ou irregulares, é apropriado fazer um ciclo de HRT para simular uma fase secretora e fazer a biópsia durante os dias de ingestão de progesterona (preferencialmente em P + 5). Nessas pacientes, os ciclos de transferência de embriões são realizados em ciclos de HRT. Pacientes que não ovulam não produzem estrogênio e progesterona a nível ovariano e, portanto, o microbioma endometrial nessas condições pode ser muito diferente do microbioma endometrial que possui suprimento hormonal (estrógenos e progesterona).

Consulte-nos caso a paciente faz uso de algum método anticoncepcional.

# Biópsia Endometrial para ERA e EndomeTRIO

- 1) O diagnóstico ERA é válido para o tipo de ciclo igual ao realizado para o teste e, portanto o embrião deve ser transferido no mesmo tipo de ciclo e janela de implantação personalizada ao diagnóstico "Receptivo".

Portanto, o tipo de ciclo escolhido para realizar a biópsia endometrial é determinado em função ao tipo de ciclo que se planeja realizar a posterior transferência embrionária, em relação à dosagem e via de administração da progesterona.

# Biópsia Endometrial

## 2) Tipo de ciclo por preparo endometrial

**a) Terapia de substituição hormonal (HRT):** Implica no tratamento com estrógenos e progesterona para inibir a produção endógena destes hormônios. É possível seguir o protocolo padrão da clínica ou o protocolo padrão da Igenomix:

A paciente começa com estradiol a partir do 1º ou 2º dia do ciclo menstrual, entre 7 e 10 dias depois é realizada uma ecografia de acompanhamento.

O tratamento inicia com progesterona (P4) para obter um endométrio trilaminar > 6 mm com um nível de P4 endógena < 1 ng/ml (nas 24 horas prévias à primeira dose de P4), enquanto se continua com o estradiol. O dia de início do tratamento com P4 é denominado P+0, e a biópsia é realizada no dia P+5, após 5 dias completos (120 horas entre a primeira dose de P4 e a biópsia).

# Biópsia Endometrial

Em ciclos HRT é muito importante constatar que não há ovulação, e portanto, é recomendável **medir sempre o nível de P4 endógena** um dia antes do primeiro dia de administração de P4. O nível deve ser  $<1\text{ng/ml}$ , caso não seja, recomendamos cancelar o ciclo e começar novamente.

- b) Ciclo Natural:** Se administra hCG (recombinante ou urinária) de acordo com os parâmetros de rotina no ciclo natural (tamanho de folículo  $> 17\text{ mm}$ ). O dia de administração de hCG se considera hCG+0 e a biópsia endometrial deverá ser coletada 7 dias depois, em hCG+7 (168 horas depois da administração de hCG).

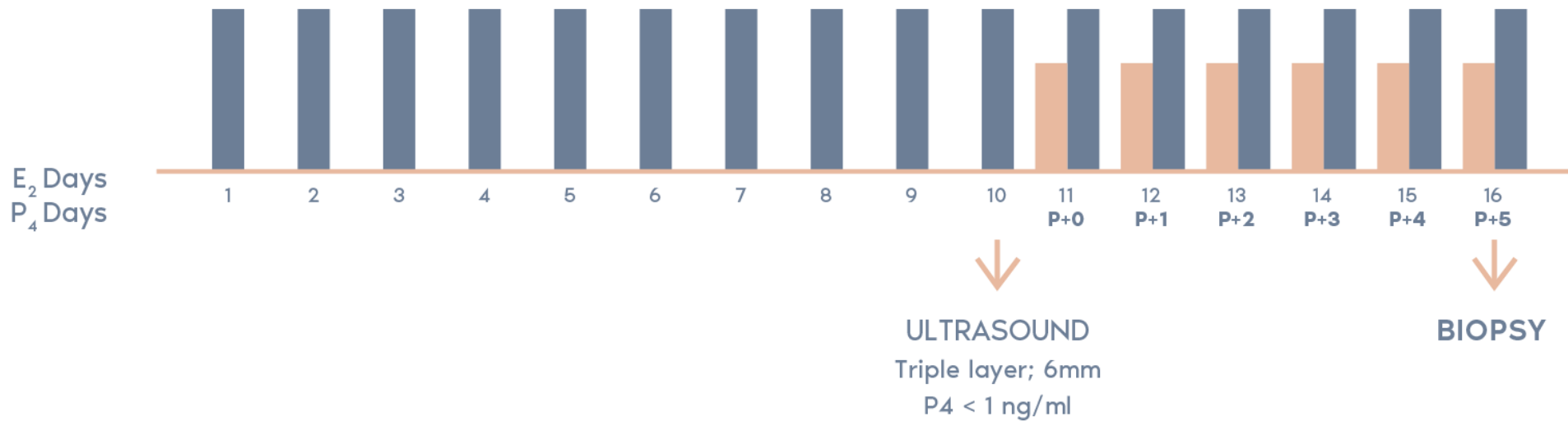
# Biópsia Endometrial

**c) Estimulação ovariana controlada:** A biópsia endometrial não pode ser realizada em ciclo de estimulação ovariana. Deve ser coletada em um ciclo HRT ou natural, conforme indicado anteriormente. The endometrial biopsy cannot be performed in a controlled ovarian stimulated cycle. Therefore, it should be performed in a subsequent HRT or natural cycle as indicated above.

Mesmo quando a transferência de embriões seja planejada para dia 3, **a biópsia se realiza em P+5, LH+7 ou hCG+7**, já que o teste ERA avalia o endométrio no momento da implantação. De tal maneira que, se obtido um resultado receptivo em P+5 se transfere um blastocisto em P+5 ou um embrião de dia 3 dois dias antes, ou seja, em P+3.

# Biópsia Endometrial

## Protocolo de rotina HRT



# Biópsia Endometrial

## Logística

### Amostra e documentação:

- Leia e preencha completamente as informações solicitadas do “Formulário de requisição do teste” e “Consentimento informado”.
- Introduza o criotubo contendo a biópsia endometrial na embalagem plástica rígida fornecida pela Igenomix conforme instruções de envio disponíveis em <https://www.igenomix.com.br/como-enviar-amostra/>
- Imprima os formulários preenchidos e assinados de forma eletrônica e envie com a amostra. Para facilitar introdução de dados no sistema, envie também a documentação por e-mail para suportebrasil@igenomix.com



# Biópsia Endometrial

- Tempo de transporte em temperatura ambiente não pode superar 5 dias para garantir a ação conservante da substância contida no criotubo para preservar a amostra. Em regiões onde a temperatura ambiente supera os 35°C, adicione gelogel à embalagem. Para mais informações, contate a equipe de suporte da Igenomix Brasil.

## Envios:

- Por favor, envie um e-mail informando sobre o envio de amostra com detalhes de quantidade de amostras, nome de paciente formulários preenchidos.

# Uma visão completa da saúde endometrial

## Soluções para a Saúde Endometrial



\*pET: personalized embryo transfer

**Igenomix**<sup>®</sup>  
WITH SCIENCE ON YOUR SIDE

