



• Una visión completa de la salud endometrial

# INDICE

- ERA – Endometrial Receptivity Analysis - 4
  - Antecedentes - 5
  - Indicaciones para ERA - 7
  - Metodología - 9
  - Informe e interpretación de resultados - 11
  - Árbol de decisiones - 14
  - Referencias - 15
  
- EMMA – Endometrial Microbiome Metagenomic Analysis - 17
  - Antecedentes - 18
  - Indicaciones para EMMA - 19
  - Metodología - 20
  - Informe e interpretación de resultados - 21
  - Árbol de decisiones - 23
  - Ventajas de la secuenciación masiva (NGS) vs el cultivo microbiano - 24
  - Referencias - 25

# INDICE

- ALICE – Analysis of Infectious Chronic Endometritis - 26

  - Antecedentes - 27

  - Indicaciones para ALICE - 28

  - Metodología - 29

  - Informe e interpretación de resultados - 30

  - Árbol de decisiones - 32

  - Ventajas de la detección de patógenos mediante secuenciación masiva (NGS) vs los métodos clásicos - 33

  - Referencias - 34

- Biopsia endometrial para ERA, EMMA, ALICE - 35

  - Biopsia endometrial - 36

  - Día de la biopsia endometrial - 38

  - Logística - 41

- Una visión completa de la salud endometrial - 42

**ERA**<sup>®</sup> Endometrial  
Receptivity  
Analysis



## Antecedentes

El factor endometrial es clave para que la implantación embrionaria ocurra con éxito. No solo es importante evaluar la presencia de malformaciones o anomalías en la cavidad uterina, sino que también es importante determinar el momento en el que el endometrio de una paciente adquiere un fenotipo receptivo, es decir, cuándo comienza su ventana de implantación. Pacientes con fallo de implantación recurrente (RIF) podrían presentar un desplazamiento de esta ventana, provocando que la transferencia embrionaria se realice en un endometrio no receptivo (Ruiz-Alonso et al. Fertil Steril, 2013).

La firma de expresión génica del endometrio permite evaluar la receptividad endometrial, identificando la ventana de implantación personalizada de cada paciente. Este análisis se realiza con una herramienta diseñada, desarrollada y patentada en 2009 (PCT/ES2009/000386) por Igenomix, después de más de 10 años de investigación (Diaz-Gimeno et al. Fertil Steril, 2011-2013).

Identificar el momento del ciclo endometrial en el que comienza la ventana de implantación de cada paciente nos permite personalizar la transferencia embrionaria (pET) acorde a este resultado.

Nuestro grupo ha demostrado en los últimos años que la sincronización entre un embrión listo para implantar y un endometrio receptivo incrementa las probabilidades de éxito de las técnicas de reproducción asistida (Ruiz-Alonso et al. Fertil Steril, 2013; Ruiz-Alonso et al. Hum Reprod, 2014; Clemente-Ciscar et al. Hum Reprod, 2018). Otros grupos externos también han publicado resultados similares en sus pacientes tras guiar la transferencia embrionaria según el resultado del análisis 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 (Análisis de la Receptividad Endometrial), determina el momento óptimo del ciclo endometrial en el que realizar la transferencia embrionaria. De esta forma, el análisis ERA puede incrementar las probabilidades de conseguir un embarazo al sincronizar un embrión preparado para implantar con un endometrio receptivo.

## **Indicaciones para ERA**

El análisis ERA está indicado para pacientes con Fallo de Implantación Recurrente (RIF), ya que presentan un riesgo mayor de tener un desplazamiento de su ventana de implantación (Ruiz-Alonso et al. Fertil Steril, 2013). Por ello este análisis puede ser beneficioso para pacientes con 2 ciclos fallidos de ovocitos propios o 1 de ovodonación, en ambos casos con embriones de buena calidad.

## Indicaciones para ERA

En caso de que su paciente requiera alguna intervención a nivel uterino, el test ERA deberá realizarse siempre posterior a dicha intervención, con el fin de replicar tanto como sea posible, las condiciones en las que tendrá lugar la transferencia embrionaria.

En caso de atrofia (< 6 mm) o hipertrofia endometrial (> 12 mm), se puede realizar el test ERA siempre que esta condición sea constante en todos los ciclos endometriales de la paciente y no algo puntual.



## Metodología

Este test utiliza tecnología de secuenciación masiva (NGS) para analizar la expresión génica de 248 genes relacionados con el estatus de receptividad endometrial.

Los resultados del test se basan en el análisis de la expresión de estos 248 genes con un predictor informático diseñado y desarrollado por Igenomix. Tras secuenciar el material genético (RNA) de una biopsia endometrial, es posible evaluar si el endometrio de la paciente es Receptivo o No receptivo en un momento dado de su ciclo endometrial. Este resultado irá acompañado de una recomendación para realizar la transferencia embrionaria personalizada en cada paciente según su perfil endometrial. En algunos casos (10%), se podría necesitar validar la ventana de implantación personalizada realizando una segunda biopsia en el día especificado por el análisis del primer test ERA.

## Metodología

Para que el resultado sea reproducible, el test ERA debe realizarse reproduciendo exactamente las mismas condiciones que tendrá el ciclo de la transferencia embrionaria (tipo de ciclo, medicación, forma de administración...), y siempre en ciclos naturales o terapias de reemplazo hormonal. Este test no puede realizarse en ciclos de estimulación ovárica.

La primera biopsia deberá realizarse siempre tras 5 días completos de administración de progesterona (P+5) en un ciclo de HRT (es decir, 120 horas con administración de progesterona), o 7 días después de la inyección de hCG (hCG+7) en un ciclo natural (es decir, 168 horas después de hCG). En el caso de transferir embriones en Día 3 la biopsia deberá hacerse en P+5 o hCG+7, ya que el test ERA analiza el endometrio en el momento de la implantación. De esta manera, si se obtiene un resultado receptivo en P+5 se deberá transferir un blastocisto en P+5 o un embrión de día 3 dos días antes, es decir, en P+3.

## Informe

El informe ERA indicará el momento óptimo en el que realizar la transferencia embrionaria personalizada, o en el que tomar una nueva biopsia ERA (según proceda).

### Interpretación de resultados:

**Receptivo:** El perfil de expresión génica es compatible con un endometrio receptivo. Se recomienda la transferencia de blastocisto(s) en las mismas condiciones en las que se realizó el test ERA.

**Receptivo temprano:** El perfil de expresión génica es compatible con un endometrio al inicio de la fase receptiva. Se recomienda retrasar la transferencia de blastocisto(s) 12 horas respecto al momento en el que se realizó el test ERA.

**Receptivo tardío:** El perfil de expresión génica es compatible con un endometrio al final de la fase receptiva. Se recomienda adelantar la transferencia de blastocisto(s) 12 horas respecto al momento en el que se realizó el test ERA.

### **Interpretación de resultados:**

**Pre-receptivo:** El perfil de expresión génica es compatible con un endometrio en fase pre-receptiva. Esto podría deberse a un desplazamiento de la ventana de implantación. En un 5% de los casos (cuando este desplazamiento es de 2 días) se podría requerir, para su validación, una nueva biopsia endometrial en el día indicado.

**Post-receptivo:** El perfil de expresión génica es compatible con un endometrio en fase post-receptiva. Esto podría deberse a un desplazamiento de la ventana de implantación. Para su validación, se debe realizar una nueva biopsia endometrial en el día indicado.

**Proliferativo:** El perfil de expresión génica es compatible con un endometrio en fase proliferativa. Se recomienda contactar con el laboratorio ERA para evaluar el protocolo en el que se haya realizado la biopsia endometrial.

\* En aproximadamente un 5% de las muestras recibidas no se puede obtener un diagnóstico, esto es debido a la obtención de un perfil no informativo o a la baja cantidad/calidad de material genético obtenido.

\* Seguir las recomendaciones del informe ERA no garantiza la implantación. Los fallos de implantación pueden estar causados por otros factores.

## Informe

El objetivo de este test es aportar a los doctores un diagnóstico molecular objetivo de la receptividad endometrial.

El doctor puede usar el resultado como una guía para la personalización de la transferencia embrionaria (pET).

Este test deberá ser prescrito e interpretado por el doctor correspondiente.

CLIA  
#9902146167



PIONEERS IN REPRODUCTIVE GENETICS

### ERA (DIAGNÓSTICO DE RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL)

Información Paciente	Información Muestra	Información Clínica
NHC: 123	Fecha recepción: 04/02/2018	Clínica: Clínica IVF
Tipo de muestra: Biopsia endometrial	Fecha informe: 10/02/2018	Doctor: Dr. Gonzalez
Nombre paciente: D.T.C.	Fecha inicio P4: 26/01/2018	8:15 AM N° biopsia: 1
Fecha nacimiento: 03/07/1980	Fecha biopsia: 31/01/2018	8:00 AM
	Tipo de ciclo: HRT (120 horas)	

**RESULTADOS DEL TEST:**

**RECEPTIVO**

**Recomendación: Realizar transferencia de blastocisto/s en HRT (120 ± 3 horas con administración de progesterona)\*\***



Pre-Receptivo    Receptivo    Post-Receptivo

**INTERPRETACIÓN DE SU RESULTADO:**

Se recomienda proceder con la transferencia de blastocisto/s siguiendo el mismo tratamiento en el que se ha realizado este análisis de receptividad endometrial (ERA) en ciclo HRT (120 ± 3 horas con administración de progesterona).

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

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

**DESCRIPCIÓN DEL TEST:**

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

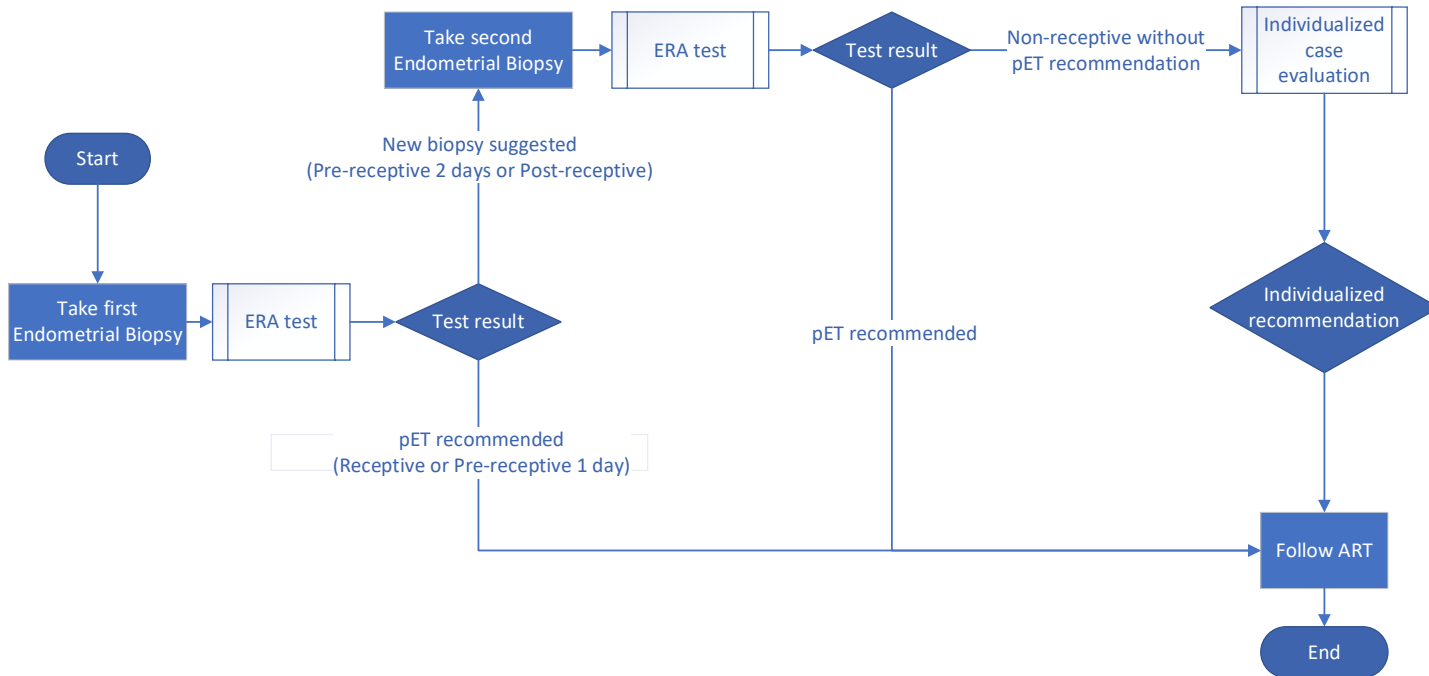
**COMENTARIOS**

Ninguno

**INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL TEST ERA:**

**Receptivo:**  
El perfil de expresión génica es compatible con el de un endometrio receptivo normal. En este caso, se recomienda realizar una transferencia de blastocisto(s) siguiendo el mismo protocolo utilizado durante este Análisis de Receptividad Endometrial (ERA).

## ERA Decision tree



## Referencias

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.

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.

## Referencias

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



## Antecedentes

El Proyecto Microbioma Humano (HMP) destaca la importancia de los microorganismos y sus genomas en la salud de las personas y el estudio de las enfermedades (Human Microbiome Project Consortium, 2012).

Este estudio ha demostrado la importancia de identificar desequilibrios en la microbiota para mejorar el manejo clínico en diferentes áreas de la medicina.

Un estudio científico realizado por Igenomix confirmó la existencia del microbioma endometrial, y puso de manifiesto que la disbiosis de la cavidad uterina está asociada a bajos resultados en pacientes sometidas a tratamientos de reproducción asistida. Esto sugiere que desviaciones patogénicas en los niveles de Lactobacilos endometriales juegan un papel clave en la infertilidad. (Moreno et al. Am J Obstet Gynecol, 2016).

EMMA (Endometrial Microbiome Metagenomic Analysis), puede determinar si el entorno microbiano del útero es óptimo para la implantación embrionaria. EMMA proporciona una visión completa de la composición bacteriana del endometrio, incluyendo los patógenos que causan Endometritis Crónica, que pueden ser detectados con el test ALICE.

## **Indicaciones para EMMA**

Las ventajas del análisis del microbioma endometrial en pacientes con Fallo Recurrente de Implantación (RIF) han sido demostradas (Moreno et al. Am J Obstet Gynecol, 2016). En cualquier caso, EMMA puede ser beneficioso para cualquier mujer que desee ser madre, analizando el entorno microbiano que recibirá al embrión.

## Metodología

Este test utiliza tecnología de secuenciación masiva (NGS), que proporciona información del microbioma del tejido endometrial analizando su perfil microbiano completo.

El test EMMA puede diferenciar los genes bacterianos de los genes humanos presentes en el ADN extraído de la muestra. El gen 16S rRNA, presente en todas las bacterias, presenta 9 regiones variables con una secuencia de ADN específico de cada bacteria, que permite la identificación y cuantificación relativa de las bacterias presentes en la muestra.

Una única muestra endometrial contiene tanto células endometriales como bacterianas. Ambos tipos de células pueden ser analizadas mediante secuenciación para aportar información sobre la receptividad y el microbioma endometrial. EMMA, por tanto, proporciona una visión microbiológica del endometrio con el objetivo de mejorar el manejo clínico de las pacientes.

## Informe e interpretación de resultados

El informe EMMA proporcionará una valoración general sobre la salud bacteriana de la cavidad uterina.

Incluye:

- Porcentaje de Lactobacilos.
- Porcentaje de las bacterias detectadas en la muestra endometrial en cantidad superior al 1%.
- Clasificación del perfil de la microbiota endometrial: normal (elevado porcentaje de Lactobacillus), anormal (presencia significativa de bacterias patógenas o disbióticas), levemente disbiótico (bajo porcentaje de Lactobacillus) o muy baja biomasa (la cantidad de flora endometrial es extremadamente baja)
- Tratamiento antibiótico/probiótico sugerido. En todos los casos, un experto en microbiología clínica dará recomendaciones de tratamiento antibiótico/antimicrobiano y asesorará al médico de forma individual si lo desea.
- Resultados del test ALICE: dado que el test EMMA incluye al test ALICE, en el informe EMMA se muestra también el diagnóstico para endometritis crónica, así como los porcentajes en los que se encuentran las bacterias relacionadas con la enfermedad.

## Informe e interpretación de resultados

El tratamiento recomendado de probióticos/antibióticos será guiado por un microbiólogo clínico especializado, que aconsejará al doctor de forma personalizada.

### ENDOMETRIAL MICROBIOME METAGENOMIC ANALYSIS (EMMA)

Información de la paciente	Información de la muestra	Información de la clínica
NHC:	Fecha de recepción:	Clinica:
Nombre de la paciente:	Fecha de informe/hora:	Doctor:
Fecha de nacimiento:	Tipo de muestra: Biopsia endometrial	
Alérgica a antibióticos:	Tipo de ciclo:	
	Nº de biopsia:	
	Fecha de biopsia:	

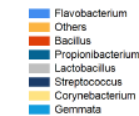
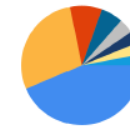
RESULTADO DEL TEST EMMA MICROBIOMA ENDOMETRIAL LEVEMENTE DISBIÓTICO

RESULTADO DEL TEST ALICE NEGATIVO PARA PATÓGENOS CAUSANTES DE ENDOMETRITIS CRÓNICA

#### EMMA

Bacterias más abundantes	%
Lactobacillus	4,04% *
Flavobacterium	43,60%
Bacillus	8,72%
Propionibacterium	5,97%
Streptococcus	3,36%
Corynebacterium	3,16%
Gemmata	2,97%
Otros	28,17%

\* Para más información sobre valores de referencia puede consultar Moreno et al. 2016. Am J Obstet Gynecol.



#### ALICE

Patógenos de endometritis crónica	%
Enterobacteriaceae	Not Detected
Escherichia	Not Detected
Klebsiella	Not Detected
Chlamydia	Not Detected
Neisseria	Not Detected
Ureaplasma	Not Detected
Mycoplasma	Not Detected
Enterococcus	Not Detected
Staphylococcus	Not Detected
Streptococcus	3,36%

#### INTERPRETACIÓN DE RESULTADO Y RECOMENDACIÓN

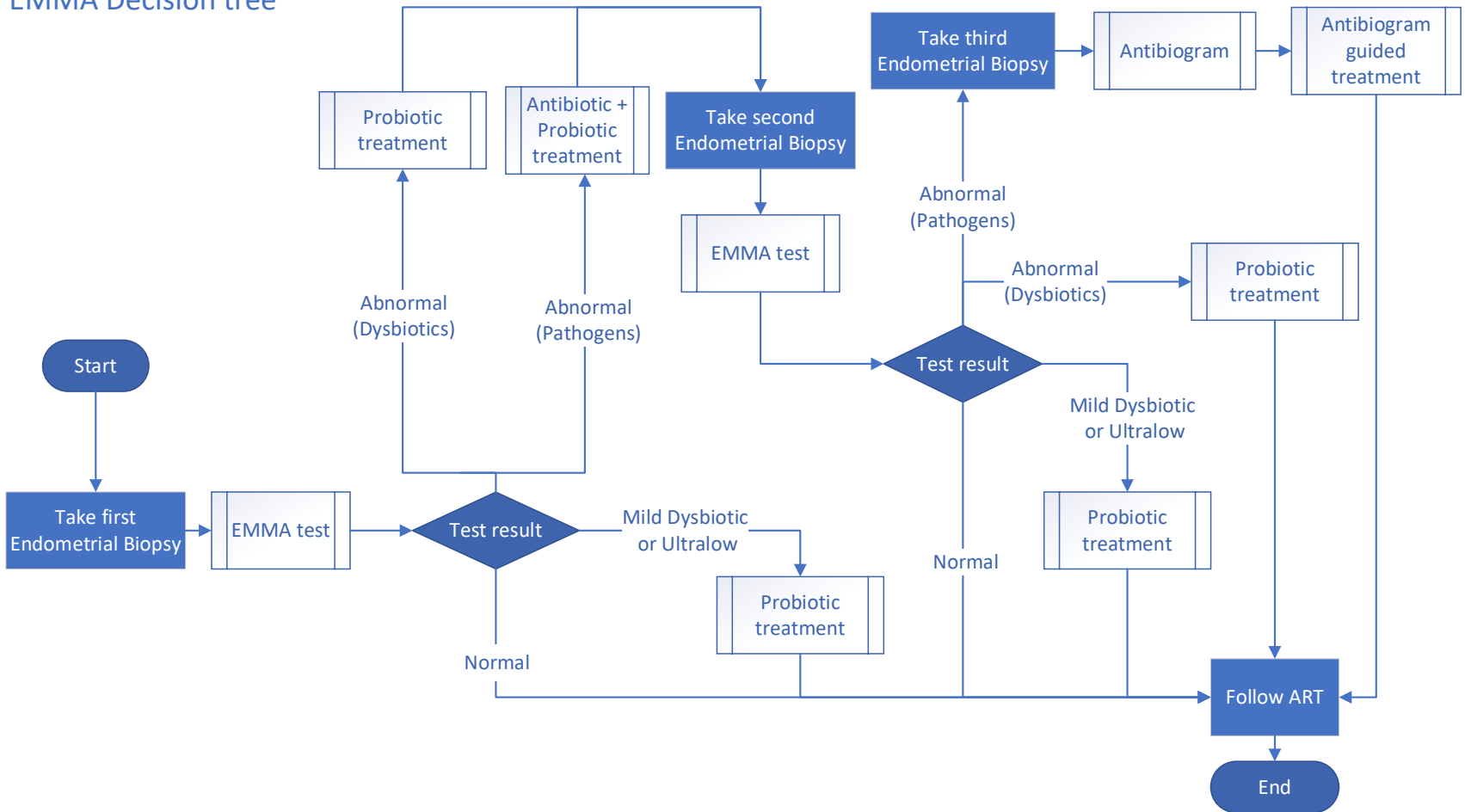
El porcentaje de Lactobacillus está por debajo de los estándares descritos para la salud endometrial. Sin embargo, la cantidad de bacterias patógenas no es significativa, pero el ambiente bacteriano no es óptimo para la salud endometrial.

Se recomienda un tratamiento probiótico con Lactobacillus para incrementar la proporción de éstas bacterias en el endometrio. No se requiere una segunda biopsia.

#### TRATAMIENTO SUGERIDO

Recomendamos un tratamiento probiótico mediante Lactobacillus vaginal. Al final del informe se aporta una lista con probióticos recomendados para la administración vaginal.

EMMA Decision tree



## **Ventajas de la secuenciación masiva (NGS) vs el cultivo microbiano**

El cultivo microbiano es el método estándar utilizado actualmente para la evaluación de la población de bacterias y las infecciones. Sin embargo, se ha demostrado que entre el 20% y el 60% de las bacterias, según su localización, no pueden ser cultivadas o no se evalúan de forma habitual en el ámbito clínico. La evaluación molecular del microbioma mediante NGS permite detectar tanto bacterias cultivables como no cultivables.



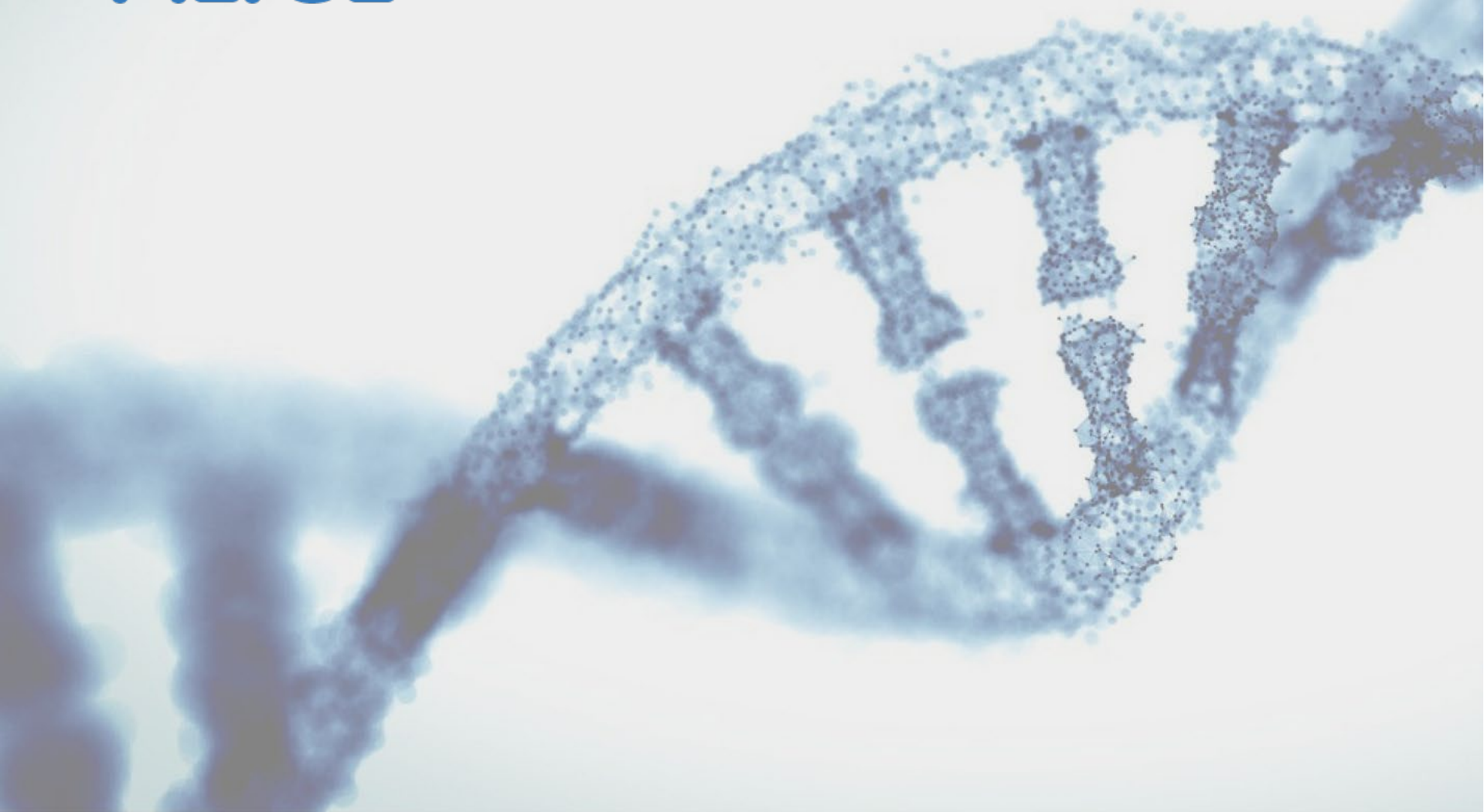
## Referencias

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.



**ALICE** Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis



## Antecedentes

El mejor ejemplo de una patología causada por una microbiota anormal es la Endometritis Crónica (EC). La EC es una inflamación persistente del endometrio, causada por una infección uterina provocada por bacterias patógenas. Generalmente es asintomática y los métodos habituales de diagnóstico (histología, histeroscopia y cultivo microbiano) no son eficaces, por lo que la enfermedad suele pasar desapercibida a pesar de que afecta aproximadamente al 30% de las pacientes infértiles, y puede llegar al 66% de las pacientes con Fallo de Implantación Recurrente y Aborto de Repetición.

Un estudio científico realizado recientemente por Igenomix ha demostrado que el análisis molecular de la EC es un método válido vs los métodos clásicos de diagnóstico, que detecta los microorganismos permitiendo un tratamiento guiado y personalizado (Moreno et al., Am J Obstet Gynecol, 2018), y debería considerarse como una alternativa para mejorar la detección de esta enfermedad silenciosa.

ALICE (Analysis of Infectious Chronic Endometritis), detecta las bacterias que, de manera más frecuente, causan endometritis crónica añadiendo un nuevo test a los servicios de Igenomix, que permite ampliar la evaluación del factor endometrial a nivel microbiológico para mejorar el manejo clínico de las pacientes con esta enfermedad asintomática.

### **Indicaciones para ALICE**

ALICE es beneficioso para cualquier mujer que desee ser madre, analizando el entorno microbiano que recibirá al embrión, sobre todo para pacientes con antecedentes de Fallo de Implantación Recurrente y Aborto de Repetición, dado que la EC está vinculada con estos hechos.

## Metodología

**ALICE** utiliza la tecnología NGS más avanzada para proporcionar información de la abundancia de las bacterias específicas que causan EC en una muestra endometrial.

La tecnología se basa en la extracción del ADN bacteriano seguida por la amplificación y secuenciación del gen 16S rRNA de las bacterias que con mayor frecuencia causan EC.

El test ALICE puede diferenciar los genes bacterianos de los genes humanos presentes en el ADN extraído de la muestra. El gen 16S rRNA, presente en todas las bacterias, presenta 9 regiones variables con una secuencia de ADN específica de cada bacteria, que permite la identificación y cuantificación relativa de las bacterias causantes de EC.

## Informe e interpretación de resultados

Si el resultado de ALICE es positivo, el informe mostrará los patógenos detectados y el porcentaje de las bacterias causantes de la enfermedad.

Estas bacterias son: *Enterococcus spp.*, Enterobacteriaceae (*Escherichia* y *Klebsiella*), *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Mycoplasma spp.*, y *Ureaplasma spp.* Además, informará sobre la existencia de otras bacterias patógenas asociadas a enfermedades de transmisión sexual (ETS), como *Chlamydia* y *Neisseria*.

Según el resultado del test, se incluirá una recomendación de tratamiento con los antibióticos y probióticos adecuados para cada paciente.

## Informe e interpretación de resultados

El tratamiento recomendado de antibióticos/probióticos será guiado por un microbiólogo clínico especializado, que aconsejará al doctor de forma personalizada.

### ANALYSIS OF INFECTIOUS CHRONIC ENDOMETRITIS (ALICE)

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

**RESULTADO DEL TEST ALICE** POSITIVO PARA PATÓGENOS CAUSANTES DE ENDOMETRITIS CRÓNICA

Patógenos de endometritis crónica	%
<i>Enterobacteriaceae</i>	Not Detected
<i>Escherichia</i>	Not Detected
<i>Klebsiella</i>	Not Detected
<i>Chlamydia</i>	Not Detected
<i>Mycoplasma</i>	Not Detected
<i>Ureaplasma</i>	Not Detected
<i>Neisseria</i>	Not Detected
<i>Enterococcus</i>	Not Detected
<i>Streptococcus</i>	1.95%
<i>Staphylococcus</i>	9.91%

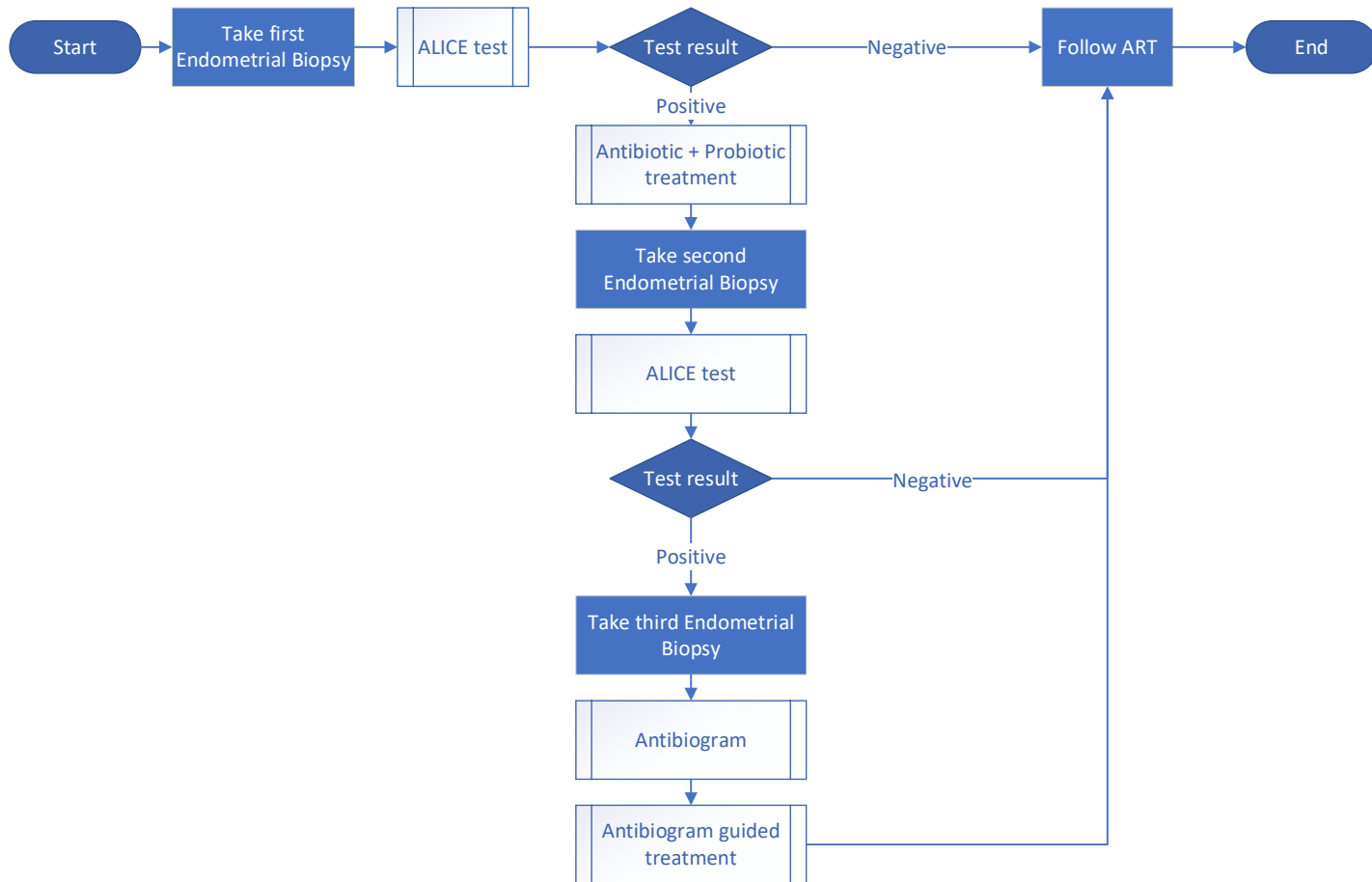
#### INTERPRETACIÓN DE RESULTADO Y RECOMENDACIÓN

Se ha detectado ADN de bacterias causantes de endometritis crónica en una cantidad significativa en la muestra endometrial.

Se recomienda la instauración de un tratamiento antibiótico seguido de uno probiótico. Abajo encontrará el tratamiento sugerido en función de las bacterias detectadas. Asimismo, recomendamos el análisis de una segunda biopsia una vez completado el tratamiento para confirmar la restauración de un entorno fisiológico.

#### TRATAMIENTO SUGERIDO

Se recomienda el uso de Amoxicilina / Ácido clavulánico 500mg-125mg/8h durante 7 días seguido de un tratamiento probiótico. Al final del informe se aporta una lista con probióticos recomendados para la administración vaginal.





## **Ventajas de la detección de patógenos mediante secuenciación masiva (NGS) vs los métodos clásicos**

Los métodos actuales para la detección de la EC son la histología, la histeroscopia y el cultivo microbiano.

Sin embargo, estos tres métodos diagnósticos proporcionan resultados no concluyentes o confusos en el 80% de los casos. Mientras la histología generalmente infradiagnostica la EC, la histeroscopia suele sobrediagnosticar la enfermedad. Estos métodos no son capaces de identificar al patógeno causante, por lo que el tratamiento es de amplio espectro. El cultivo microbiano sí es capaz de aislar el patógeno causante, sin embargo entre el 20% y el 60% de las bacterias, según su localización, no pueden ser cultivadas o no se evalúan de forma habitual en el ámbito clínico.

La microbiología molecular obtiene resultados equivalentes a los obtenidos con la combinación de los tres métodos: histología, histeroscopia y cultivo microbiano (Moreno et al., Am J Obstet Gynecol, 2018).

## Referencias

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.

# Biopsia endometrial



# ❖ Biopsia endometrial

Una única biopsia endometrial es necesaria, tanto para analizar uno solo de los tests, como para realizar un EndomeTRIO (resultado para ERA, EMMA y ALICE).

Igenomix suministrará un criotubo para cada biopsia. El criotubo contiene 1.5 mL de una solución transparente para preservar el material genético. Se debe etiquetar el criotubo con la fecha de la biopsia, las iniciales de la paciente y un segundo identificador de la paciente (fecha de nacimiento o número de historia clínica).

La biopsia endometrial debe tomarse del fondo uterino, usando una cánula Pipelle (Genetics, Namont Achel, Belgium) o similar. A la hora de tomar la biopsia, es muy importante coger cantidad suficiente de tejido (70 mg), siempre comprobando que no se recoge exclusivamente sangre o moco. Del mismo modo, la cantidad de tejido a introducir en el criotubo no deberá exceder la línea blanca marcada en el mismo, con el fin de evitar degradación del material genético.



# ❖ Biopsia endometrial

Tras realizar la biopsia endometrial, la muestra será inmediatamente transferida al criotubo suministrado. El criotubo con la muestra debe agitarse durante unos segundos.

Es importante asegurarse de que el criotubo contiene auténtico tejido endometrial antes de enviarlo a nuestras instalaciones.

El criotubo con la muestra en su interior debe mantenerse en nevera (4-8°C) inmediatamente después de la biopsia y durante al menos 4 horas. Tras este tiempo, las muestras pueden ser enviadas a Igenomix a temperatura ambiente (<35°C).

Las muestras pueden mantenerse en nevera hasta 3 semanas o ser congeladas a -20°C (tras las 4 primeras horas a 4-8°C) si no se van a enviar de inmediato a Igenomix. No obstante en caso de solicitar un test EMMA o ALICE se recomienda no almacenar las muestras y procesarlas inmediatamente después de ser recogidas. Los envíos a temperatura ambiente no deben durar nunca más de 5 días.

# ❖ Día de la Biopsia endometrial

En caso de solicitar el test ERA (solo o junto a los otros test) la biopsia endometrial se tomará según las indicaciones que se describirán a continuación.

En caso de solicitar únicamente EMMA o ALICE, la biopsia endometrial debe obtenerse tras seguir el protocolo de ERA o entre los días 15 y 25 de un ciclo natural.

1) El diagnóstico ERA es válido para el tipo de ciclo en el que se ha realizado el test, y por lo tanto el embrión debe ser transferido en el mismo tipo de ciclo y ventana de implantación personalizada en la que se obtuvo un diagnóstico "Receptivo". Por tanto, se seleccionará el tipo de ciclo en el que tomar la biopsia endometrial en función del tipo de ciclo en el que se prevea realizar la posterior transferencia embrionaria.

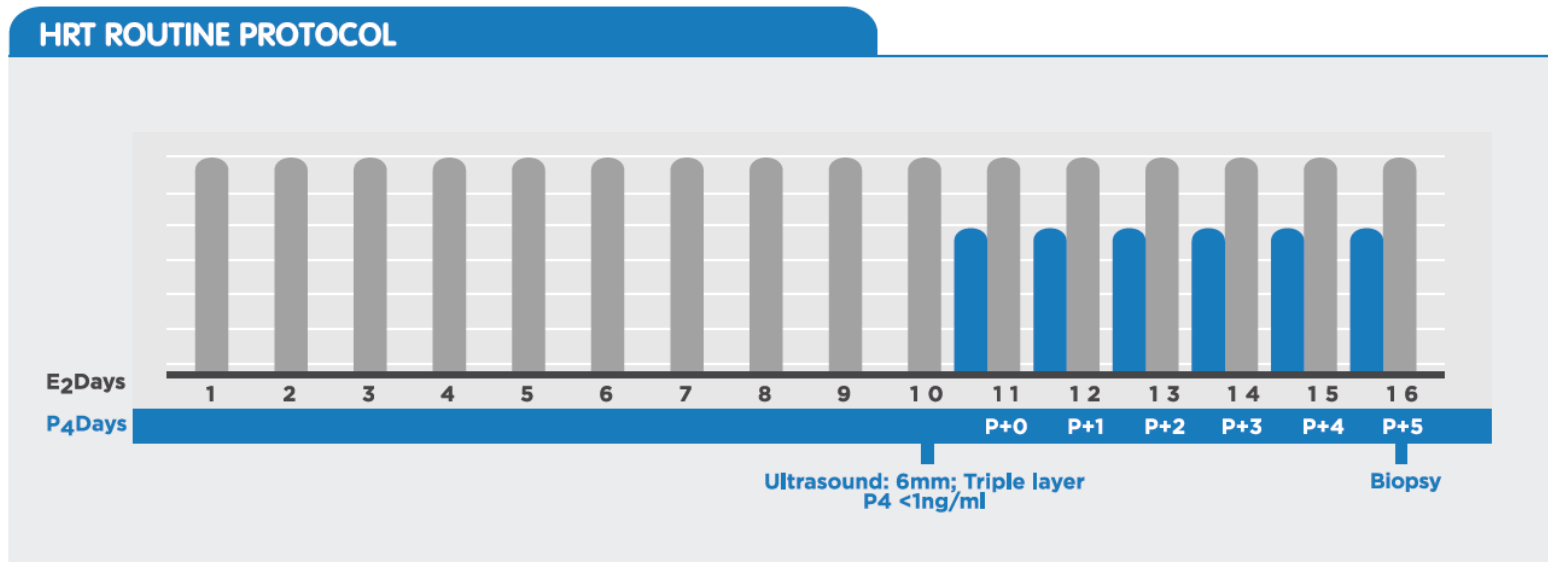
# • Día de la biopsia endometrial

2) Tipo de ciclo de preparación endometrial:

- a) **Terapia de reemplazo hormonal (HRT):** Implica tratamiento con estrógenos y progesterona para inhibir la producción endógena de estas hormonas, se puede seguir el protocolo estándar de la clínica o nuestro protocolo estándar. La paciente comenzará con estradiol desde el 1º o 2º día del ciclo menstrual, entre 7 y 10 días después se realizará una ecografía de seguimiento. Se comenzará el tratamiento con progesterona (P4) cuando se obtenga un endometrio trilaminar > 6 mm con un nivel de P4 endógena < 1 ng/ml (en las 24 horas previas a la primera dosis de P4), mientras se continua con el estradiol. El día en que empieza el tratamiento con P4 se denomina P+0, y la biopsia se toma en día P+5, tras 5 días completos (120 horas entre la primera dosis de P4 y la biopsia). En ciclos HRT es muy importante asegurarse que no hay ovulación, y por lo tanto se recomienda medir siempre el nivel de P4 endógena un día antes del primer día de administración de P4. El nivel debe ser <1ng/ml, si no, se recomienda cancelar el ciclo y comenzar de nuevo.
- b) **Ciclo natural:** Se administrará hCG (recombinante o urinaria) de acuerdo con los parámetros rutinarios en ciclo natural (tamaño de foliculo > 17 mm). El día de administración de hCG se considera hCG+0 y la biopsia endometrial deberá tomarse 7 días después, en hCG+7 (168 horas después de la administración de hCG).
- c) **Estimulación ovárica:** La biopsia endometrial no se puede tomar en un ciclo de estimulación ovárica. Deberá tomarse en un ciclo HRT o natural, tal como se indica arriba.

En el caso de transferir embriones en Día 3, la biopsia se realizará en P+5, LH+7 o hCG+7, ya que el test ERA analiza el endometrio en el momento de la implantación. De esa manera, si se obtiene un resultado receptivo en P+5 se transferirá un blastocisto en P+5 o un embrión de día 3 dos días antes, es decir, en P+3.

# • Día de la biopsia endometrial





# Logística

## Muestras y documentación:

- Muestra: enviar la biopsia endometrial a temperatura ambiente en el criotubo facilitado por Igenomix.
- Para los envíos en verano, cuando las temperaturas pueden alcanzar  $>35^{\circ}\text{C}$ , se recomienda añadir un acumulador de frío al envío.
- Documentación: debe cumplimentarse y adjuntarse al envío una copia del consentimiento informado y formulario de solicitud por cada muestra. La documentación puede descargarse en el siguiente link:

<http://endometrial.igenomix.com/>




## Envío:

- Por favor, infórmenos mediante correo electrónico de cada envío, indicando el número de muestras y su número de historia clínica o referencia.
- Puede usar su empresa de mensajería habitual, o si lo desea, podemos informarle sobre nuestro servicio de recogidas.

## SOLUCIONES DE SALUD ENDOMETRIAL

### TEST SOLICITADO

### ANÁLISIS INCLUIDOS Y APLICACIÓN

 <p><b>EndomeTRIO</b> (INCLUYE ALICE, EMMA Y ERA)</p>	<p><b>ANÁLISIS DE RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL</b> Expresión de 248 genes para guiar pET*</p>	<p><b>ANÁLISIS COMPLETO DEL MICROBIOMA :</b> Porcentaje de Lactobacilos y bacterias disbióticas <i>Consejo microbiológico para un tratamiento personalizado</i></p>	<p><b>ENDOMETRITIS CRONICA:</b> Patógenos relacionados con EC <i>Consejo microbiológico para un tratamiento personalizado</i></p>
 <p><b>ERA</b></p>	<p><b>ANÁLISIS DE RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL</b> Expresión de 248 genes para guiar pET*</p>		
 <p><b>EMMA</b> (INCLUYE ALICE)</p>		<p><b>ANÁLISIS COMPLETO DEL MICROBIOMA :</b> Porcentaje de Lactobacilos y bacterias disbióticas <i>Consejo microbiológico para un tratamiento personalizado</i></p>	<p><b>ENDOMETRITIS CRONICA:</b> Patógenos relacionados con EC <i>Consejo microbiológico para un tratamiento personalizado</i></p>
 <p><b>ALICE</b></p>			<p><b>ENDOMETRITIS CRONICA:</b> Patógenos relacionados con EC <i>Consejo microbiológico para un tratamiento personalizado</i></p>

\*pET: transferencia embrionaria personalizada

igenomix   
PIONEERS IN REPRODUCTIVE GENETICS