

# Una visión completa de la salud endometrial

**Igenomix**<sup>®</sup>

# Índice

## **ERA – Endometrial Receptivity Analysis -**

Antecedentes - 5

Indicaciones para ERA - 8

Metodología - 9

Informe e interpretación de resultados - 11

Árbol de decisiones - 15

Referencias - 16

## **EMMA – Endometrial Microbiome Metagenomic Analysis - 18**

Antecedentes - 19

Indicaciones para EMMA - 20

Metodología - 21

Informe e interpretación de resultados - 22

Árbol de decisiones - 24

Ventajas de la secuenciación masiva (NGS) versus el cultivo microbiano - 25

Referencias - 26

# Índice

## **ALICE – Analysis of Infectious Chronic Endometritis - 28**

Antecedentes - 29

Indicaciones para ALICE - 30

Metodología - 31

Informe e interpretación de resultados - 32

Árbol de decisiones - 34

Ventajas de la detección de patógenos mediante secuenciación masiva (NGS)  
versus métodos clásicos - 35

Referencias - 37

## **Biopsia Endometrial para ERA, EMMA, ALICE - 39**

Biopsia endometrial - 40

Día de la biopsia endometrial - 43

Logística - 49

## **Una visión completa de la salud endometrial - 51**



# ERA<sup>®</sup>

Endometrial  
Receptivity Analysis

**Igenomix<sup>®</sup>**

## 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.

# ERA<sup>®</sup>

Endometrial  
Receptivity Analysis

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 que la ventana de implantación está abierta en 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).

**Igenomix<sup>®</sup>**



# ERA®

Endometrial  
Receptivity Analysis

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.

Igenomix®



## 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.

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.

# ERA<sup>®</sup>

Endometrial  
Receptivity Analysis

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.

**Igenomix<sup>®</sup>**

## Informe e interpretación de resultados

El informe ERA indicará el momento óptimo en el que realizar la transferencia embrionaria personalizada (pET), 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.

# ERA<sup>®</sup>

Endometrial  
Receptivity Analysis

**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.

**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.

Igenomix<sup>®</sup>



**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.

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



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

### ERA (DIAGNÓSTICO DE RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL)

Información Paciente	Información Muestra	Información Clínica
NHC:	Fecha recepción:	Clinica:
Tipo de muestra: Biopsia endometrial	Fecha informe:	Doctor:
Nombre paciente:	Fecha inicio P4:	Nº biopsia: 1
Fecha nacimiento:	Fecha biopsia:	
	Tipo de ciclo:	

**RESULTADOS DEL TEST:**

**POST-RECEPTIVO**

**Recomendación:** Realizar una nueva biopsia endometrial en P+4 (97 ± 3 horas con administración de progesterona)\*\*



USTED

Pre-Receptivo      Receptivo      Post-Receptivo

**INTERPRETACIÓN DE SU RESULTADO:**

El perfil de expresión génica es compatible con un endometrio que ha pasado su ventana de implantación, por lo tanto esta paciente podría tener su ventana de implantación desplazada. Se recomienda tomar una nueva biopsia endometrial para validar dicho desplazamiento y guiarle en la transferencia embrionaria personalizada. Para ello, el día de la nueva toma de biopsia endometrial se debe adelantar 1 día (P+4).

\*\* 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.

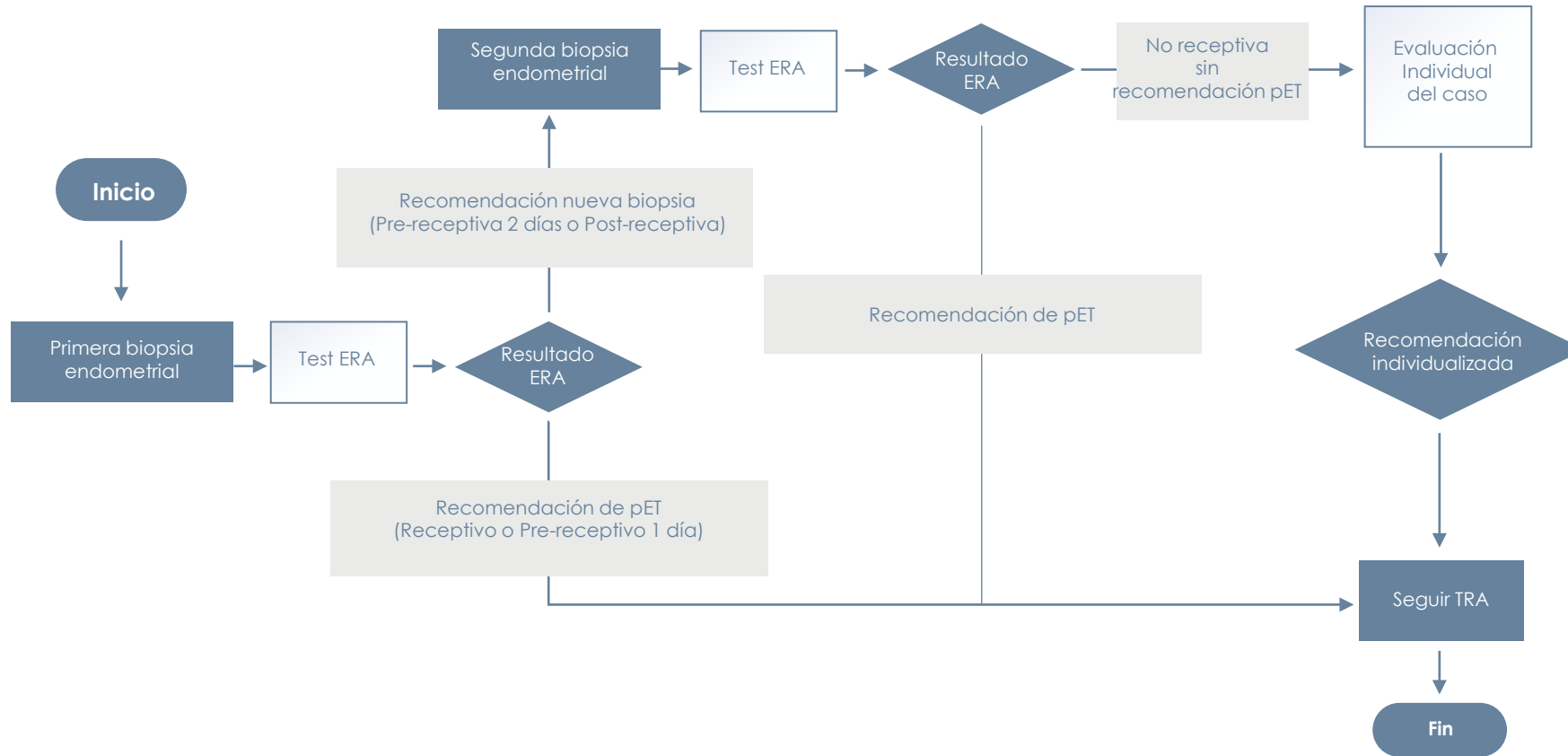
**DESCRIPCIÓN DEL TEST:**

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

## Árbol de decisión ERA



## 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.





# ERA®

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



## 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

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 significativa.
- Clasificación del perfil de la microbiota endometrial: normal (elevado porcentaje de Lactobacillus), anormal (presencia significativa de bacterias patógenas o disbióticas), 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.

# EMMA

Endometrial Microbiome  
Metagenomic Analysis

## Informe

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:	Clínica:
Nombre de la paciente:	Fecha de informe/hora:	Doctor:
Fecha de nacimiento:	Tipo de muestra: Biopsia endometrial	
Alergia a antibióticos:	Tipo de ciclo:	
	Nº de biopsia:	
	Fecha de biopsia:	

RESULTADO DEL TEST EMMA MICROBIOMA ENDOMETRIAL ANORMAL.  
RESULTADO DEL TEST ALICE NEGATIVO PARA PATÓGENOS CAUSANTES DE ENDOMETRITIS CRÓNICA

EMMA		ALICE	
Bacterias más abundantes	%	Patógenos de endometritis crónica	%
<i>Lactobacillus</i>	54,81%*	<i>Enterobacteriaceae</i>	No Detectado
<i>Gardnerella</i>	36,06%	<i>Escherichia</i>	No Detectado
Otros	9,13%	<i>Klebsiella</i>	No Detectado
		<i>Chlamydia</i>	No Detectado
		<i>Mycoplasma</i>	No Detectado
		<i>Neisseria</i>	No Detectado
		<i>Staphylococcus</i>	No Detectado
		<i>Ureaplasma</i>	No Detectado
		<i>Enterococcus</i>	No Detectado
		<i>Streptococcus</i>	No Detectado

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



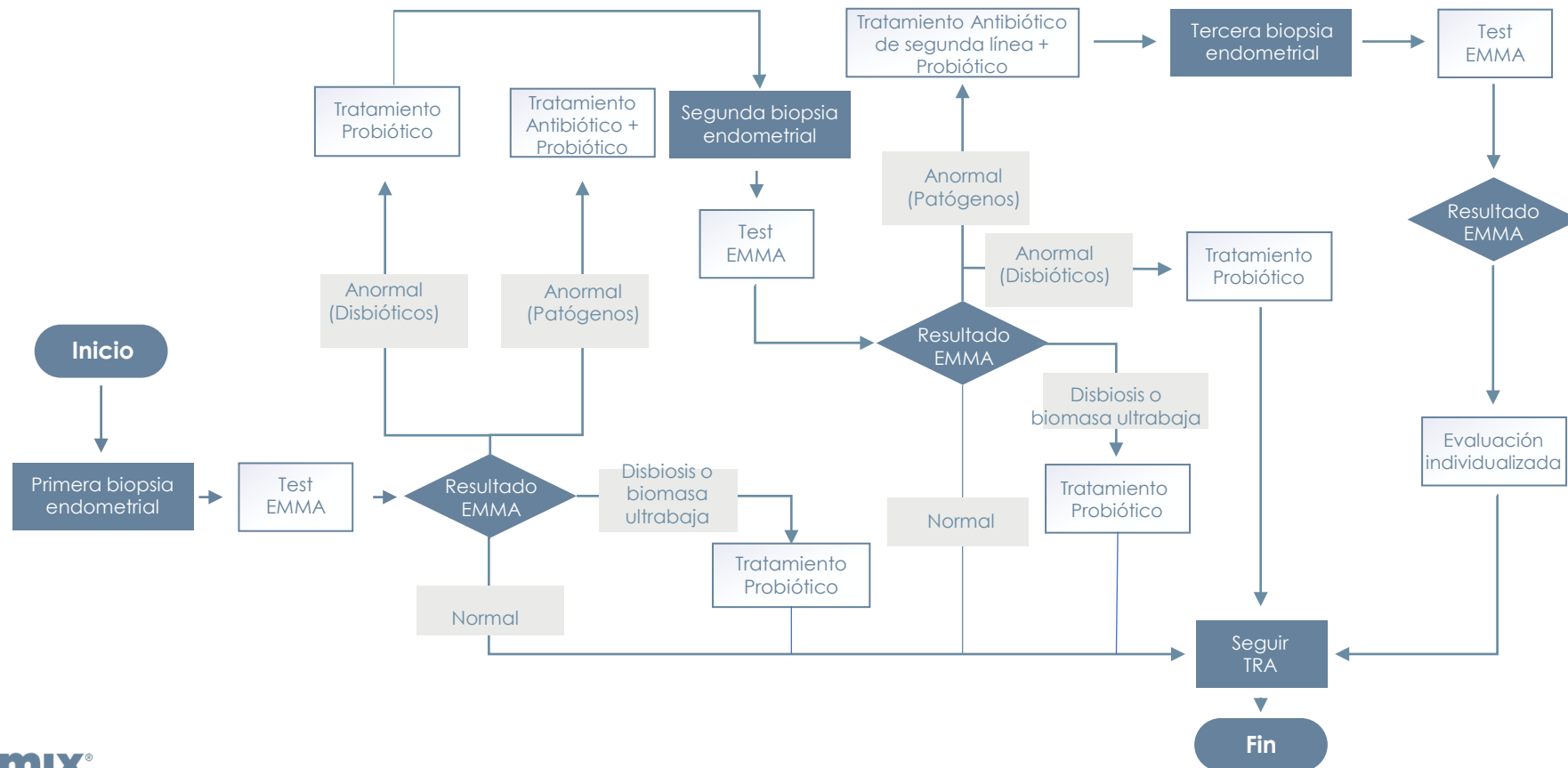
**INTERPRETACIÓN DE RESULTADO Y RECOMENDACIÓN**  
Se ha detectado ADN de bacterias patógenas del tracto reproductivo en una cantidad significativa en la muestra endometrial.

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 Metronidazol 500mg/12h durante 7 días seguido de un tratamiento probiótico. Al final del informe se aporta una lista con probióticos recomendados para la administración vaginal.

Soporte +34 963905310 IGENOMIX SPAIN LAB, S.LU, C/ Narcís Monturiol nº11, Edificio Europark 8, Parque Tecnológico, ES-46980 PATERNA, Valencia, Tel: +34 963 905 310 MUJ-0025310 | 15  
Igenomix esta presente en Los Angeles | Miami | Sao Paulo | Valencia | Dubai | New Delhi | Mexico | New York | Montreal | London SPA\_L\_I\_ERA\_006\_ES  
| Tokyo | Buenos Aires | Moscú | Estambul

## Árbol de decisión de EMMA





## Ventajas de la secuenciación masiva (NGS) versus 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.

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

García-Grau I, Simon C, Moreno I. Uterine microbiome-low biomass and high expectations. Biol Reprod. 2018 Dec 13; doi: 10.1093/biolre/iroy257. PMID: 30544156

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

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

# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

**Igenomix**<sup>®</sup>

## 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 comparado con 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

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.

# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

## 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.

Una única muestra endometrial contiene tanto células endometriales como bacterianas. 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.




# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

## Informe

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	
Alergia 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>	No Detectado
<i>Escherichia</i>	No Detectado
<i>Klebsiella</i>	No Detectado
<i>Chlamydia</i>	No Detectado
<i>Mycoplasma</i>	No Detectado
<i>Neisseria</i>	No Detectado
<i>Staphylococcus</i>	No Detectado
<i>Ureaplasma</i>	No Detectado
<i>Enterococcus</i>	No Detectado
<i>Streptococcus</i>	57,33%

#### 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

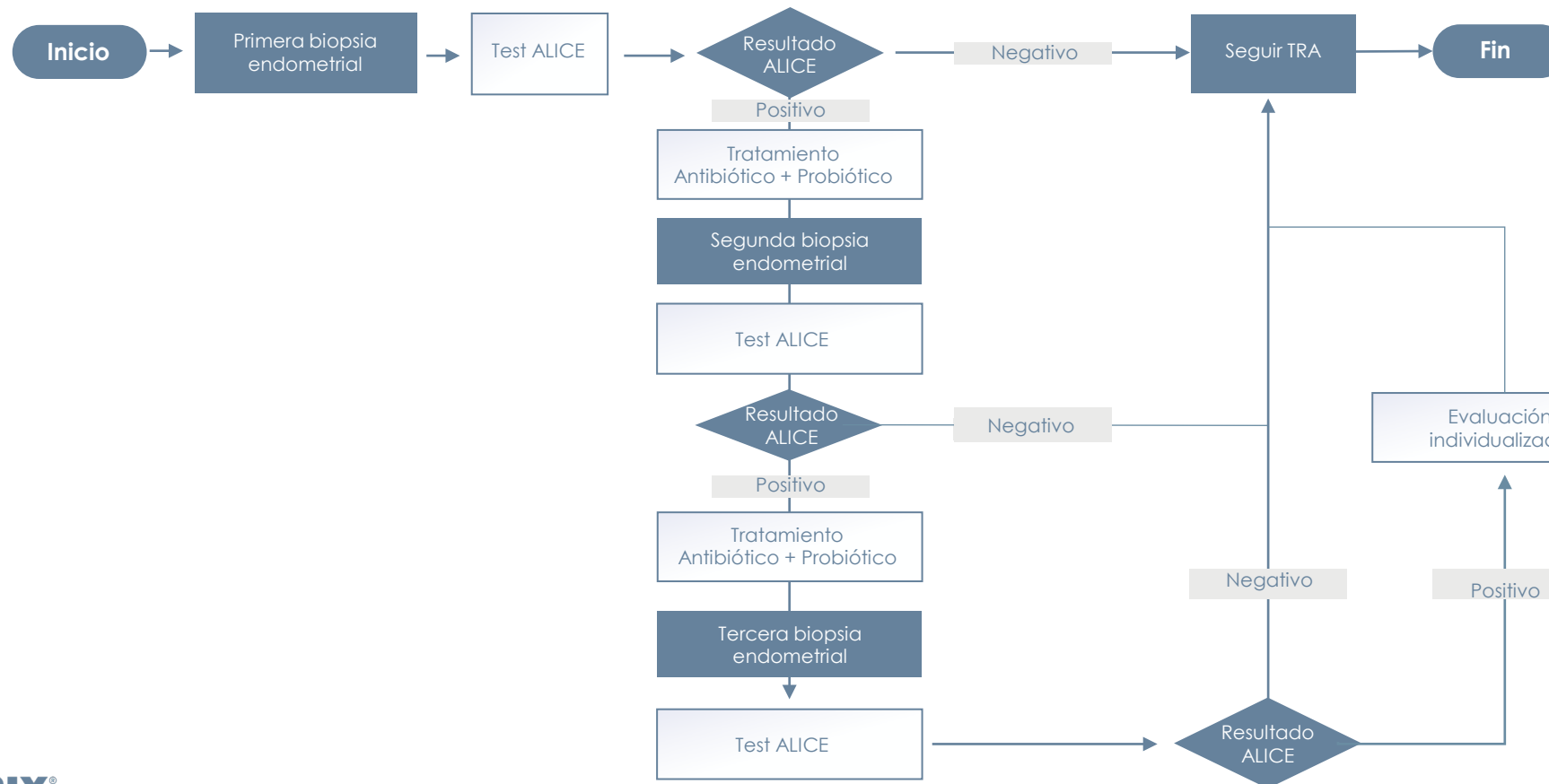
Se recomienda el uso de Amoxicilina / Ácido clavulánico 500mg-125mg/8h durante 7 días seguido de un tratamiento probiótico. Al final del informe se aporta una lista con probióticos recomendados para la administración vaginal.

Support +34 963905310 IGENOMIX SPAIN LAB, S.L.U. C/ Narcís Monturiol nº11, Edificio Europek 8, Parque Tecnológico, ES-46100 PATERNA, Valencia, Tel: +34 963 905 310 MUE-00262754 1 | 100% SPA\_L\_I\_7\_ERA\_006\_ES

# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

## Árbol de decisión de ALICE



## Ventajas de la detección de patógenos mediante secuenciación masiva (NGS) versus 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%

# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

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).



# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

## 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.

# ALICE

Analysis of Infectious  
Chronic Endometritis

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



# Biopsia Endometrial

**Igenomix**<sup>®</sup>

# 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).

Tras realizar la biopsia endometrial, la muestra será inmediatamente transferida al criotubo suministrado. El criotubo con la muestra debe agitarse durante unos segundos. La Pipelle utilizada para la toma de la muestra debe desecharse como residuo de servicios médicos, a través de gestores de residuos autorizados para su tratamiento siempre en cumplimiento con la normativa legal vigente.





# Biopsia Endometrial

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. Si va a realizar el test EMMA o ALICE (solos o junto al test ERA), debe evitarse el uso de antibiótico profiláctico para la toma de la muestra.



# Biopsia Endometrial

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). Los envíos a temperatura ambiente no deben durar más de 5 días.

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 lo antes posible después de ser recogidas. Se recomienda no retrasar el envío más de una semana.

# Biopsia Endometrial

## Día de la Biopsia Endometrial

Para realizar los test EMMA o ALICE (solos o junto a ERA) debe evitarse la toma de antibióticos durante al menos los 7 días previos a la toma de la muestra. Si la paciente ha tomado cualquier antibiótico en los tres meses previos, deberá reflejarse en el “Formulario de solicitud” del test: el nombre del principio activo, la dosis, la vía de administración y la duración del tratamiento. Ello incluye cualquier antibiótico profiláctico como los utilizados para la extracción de ovocitos. Asimismo, si se va a tomar la biopsia durante una histeroscopia, recomendamos realizar la toma al inicio del procedimiento, antes de distender la cavidad uterina y sin tratamiento antibiótico durante o posterior al procedimiento. También deberán incluirse igualmente en el formulario otros fármacos que puedan alterar la microbiota de la paciente o su estado inmunológico.

# Biopsia Endometrial

En caso de solicitar únicamente EMMA o ALICE, la biopsia endometrial deberá obtenerse en fase secretora siguiendo la recomendación de ERA (P+5, hCG+7 o LH+7) o bien entre los días 15 y 25 de un ciclo natural (para pacientes con ciclos regulares entre 26-32 días).

Para realizar el test ERA (solo o junto a los otros tests) la biopsia endometrial se tomará según las indicaciones que se describen a continuación: <sup>1)</sup> y <sup>2)</sup>

**1)** El diagnóstico ERA es válido para el tipo de ciclo en el que se ha realizado el test, y por ello 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.

# Biopsia Endometrial

## 2) Tipo de ciclo de preparación endometrial:

**a) Terapia de reemplazo hormonal (HRT):** Implica tratamiento con estrógenos y progesterona. Se puede seguir el protocolo de rutina de la clínica o nuestro protocolo estándar: la paciente comenzará con estradiol desde el 1er o 2º día del ciclo menstrual y entre 7 - 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 debe tomarse en día P+5, tras 5 días completos (120 horas entre la primera dosis de P4 y la biopsia).

# Biopsia Endometrial

En ciclos HRT es muy importante asegurarse que no hay escape de P4, por lo que se debe medir siempre el nivel de P4 endógena durante las 24 horas previas a la administración de P4 exógena. El nivel debe ser  $<1\text{ng/ml}$ , si no es así, 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 folículo  $> 17\text{ mm}$ ). 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).

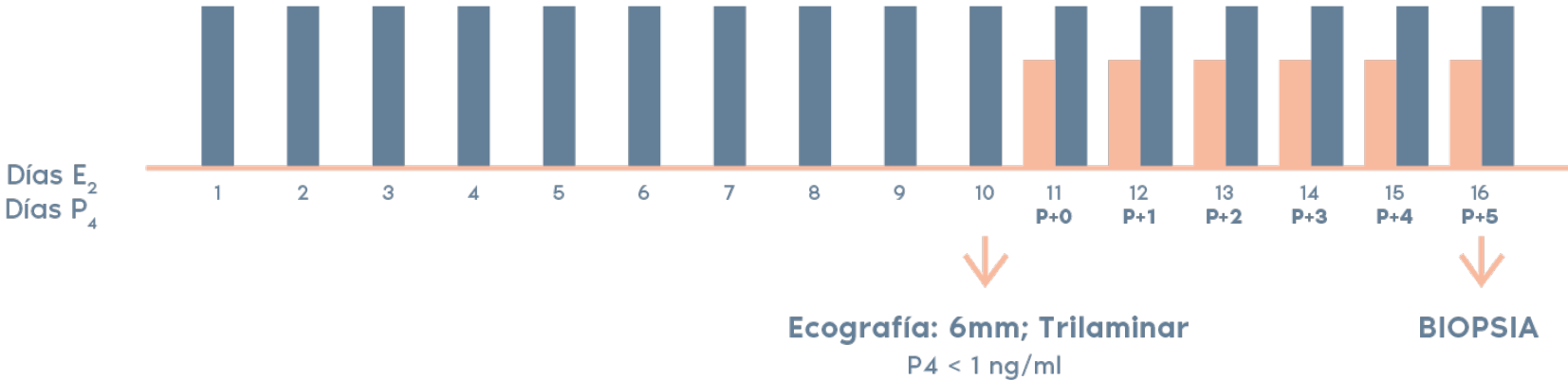
# Biopsia Endometrial

- 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.

# Biopsia Endometrial

## Protocolo HRT Estándar





# Biopsia Endometrial

## Logística

### Muestras y documentación:

- Lea y cumplimente debidamente la información requerida en “Formulario de solicitud” y “Consentimiento Informado”.
- Coloque el criotubo suministrado por Igenomix, que ya contiene la biopsia endometrial, en el interior del receptáculo de plástico que encontrará en el kit y ciérrelo. Introduzca el receptáculo dentro de la caja del kit y esta dentro del sobre de plástico de retorno.
- Incluya el documento “Formulario de solicitud y Consentimiento” dentro del sobre de retorno.

# Biopsia Endometrial

En el caso de envíos desde fuera de España asegúrese de incluir en el sobre de retorno la etiqueta “UN3373”. Dicha etiqueta viene incluida dentro del kit proporcionado. Por último, pegue el albarán que se le ha proporcionado desde Customer Support en el sobre de retorno.

Los envíos a temperatura ambiente no deberán exceder los días de duración para asegurar la acción preservativa del líquido del criotubo. Cuando se superen los 35°C, se recomienda añadir un acumulador de frío al paquete. En caso de duda, por favor contacte con nuestro departamento de Atención al Usuario.

## 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.

# Una visión completa de la salud endometrial

## Soluciones de Salud Endometrial

TEST SOLICITADO	TEST INCLUIDOS Y APLICACIÓN				
<b>EndomeTRIO</b> The endometrium matters	<b>ANÁLISIS DE RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL</b> Expresión de 248 genes para guiar pET*	+	<b>ANÁLISIS COMPLETO DEL MICROBIOMA</b> Porcentaje de Lactobacilos y bacterias patógenas y disbióticas Consejo microbiológico para un tratamiento personalizado	+	<b>ENDOMETRITIS CRÓNICA</b> Patógenos relacionados con EC Consejo microbiológico para un tratamiento personalizado
<b>ERA®</b> Endometrial Receptivity Analysis	<b>ANÁLISIS DE RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL</b> Expresión de 248 genes para guiar pET*				
<b>EMMA</b> Endometrial Microbiome Metagenomic Analysis			<b>ANÁLISIS COMPLETO DEL MICROBIOMA</b> Porcentaje de Lactobacilos y bacterias patógenas y disbióticas Consejo microbiológico para un tratamiento personalizado	+	<b>ENDOMETRITIS CRÓNICA</b> Patógenos relacionados con EC Consejo microbiológico para un tratamiento personalizado
<b>ALICE</b> Analysis of Infectious Chronic Endometritis					<b>ENDOMETRITIS CRÓNICA</b> Patógenos relacionados con EC Consejo microbiológico para un tratamiento personalizado

\*pET: transferencia embrionaria personalizada

**Igenomix®**