

INFORMATIVNI LIST

Mikrobiota endometrija je skup različitih mikroorganizama koji se nalaze u šupljini endometrija. Prisutnost ovih mikroorganizama potiče ispravnu funkcionalnost endometrija, pružajući zaštitu od patogena i drugih potencijalno štetnih mikroorganizama. S druge strane, pojam mikrobiom odnosi se na cjelokupno genetičko nasljeđe koje posjeduje mikrobiota endometrija. Među mikroorganizmima koji su dio mikrobiote endometrija, bakterije iz roda *Lactobacillus* su najzastupljenije i ukazuju na normalno fiziološko stanje. Bakterije roda *Lactobacillus* su najčešće prisutne kod zdravih žena reproduktivne dobi i djeluju kao probiotici koji mogu inhibirati rast patogena kao što su bakterije, virusi i gljivice. Eubiotičan nalaz obično uključuje prevladavajući *Lactobacillus*, često visokog udjela (npr. $\geq 90\%$), iako pragovi nisu univerzalno standardizirani.

Sastav endometrijskog mikrobioma može biti povezan s ishodom implantacije. Prisutnost disbiotičkih ili patogenih bakterija može izmijeniti mikrobiom endometrija i poremetiti okoliš maternice što vodi do mogućeg neuspjeha implantacije i gubitka trudnoće.

Kronična upala maternice (endometritis)

Najistaknutiji primjer patologije uzrokovane promjenjenim mikrobiomom endometrija je endometritis, koji karakterizira trajna upala sluznice endometrija uzrokovana prisutnošću patogenih bakterija u šupljini maternice. Budući da je endometritis obično asimptomatski i ne može se otkriti transvaginalnim ultrazvukom, često se zanemaruje. Procjene incidencije endometritisa kod neplodnih pacijentica variraju približno (10-40% ili više u odabranim kohortama), a kod pacijentica s uzastopnim gubitkom trudnoće i ponovljenim neuspjehom implantacije je i veća, ovisno o dijagnostičkim kriterijima.

Mikroorganizmi koji se obično povezuju s kroničnim endometritisom su: *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Chlamydia spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Neisseria spp.*, *Ureaplasma spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida spp.*

Svrha i prednosti ENDOMETRIOME® testa

ENDOMETRIOME® je test probira koji procjenjuje stanje mikrobioma endometrija za uspješniju implantaciju embrija. Test omogućuje prikaz bakterijskog sastava endometrija, analizirajući 13 najzastupljenijih bakterija u endometriju, među kojima se nalazi 8 najčešćih patogenih bakterija koji uzrokuju kroničnu upalu maternice (endometritis). **ENDOMETRIOME® PLUS** također omogućuje procjenu prisutnosti nekih vrsta *Candide* (*Albicans*, *Glabrata*, *Krusei*, *Parapsilosis* i *Tropicalis*) na razini endometrija. **ENDOMETRIOME®** pruža korisne informacije za planiranje reproduktivnih mogućnosti. Naprimjer, kod neplodnih parova koji nalaze u IVF postupku, ova analiza omogućuje određivanje optimalnog trenutka za prijenos embrija. Nakon rezultata testa, stručnjak može preporučiti prijenos embrija ili prethodno provođenje probiotičke terapije radi ponovne uspostave optimalnog mikrobnog okruženja. Uloga mikrobiomske analize u rutinskom planiranju IVF-a još uvijek se istražuje i nije uključena u sve međunarodne smjernice.

Prednosti ENDOMETRIOME® testa u otkrivanju patogena koji uzrokuju kroničnu upalu maternice u usporedbi s klasičnim metodama

Klasična mikrobiologija koja zahtijeva kultivaciju na različitim mikrobiološkim podlogama je trenutna referentna metoda za procjenu populacije endometrijskih bakterija, međutim ova metoda nije učinkovita za cijelu populaciju i procjenjuje se da se određeni postotak bakterija (20%-60%) ne može kultivirati na mikrobiološkim podlogama. Molekularna procjena mikrobioma pomoću **ENDOMETRIOME®** omogućuje otkrivanje prisutnosti bakterija koje se ne mogu detektirati klasičnom mikrobiološkom analizom.

Trenutno se dijagnoza kroničnog endometritisa može isključiti histološkim pregledom, uz dopunu mikrobiološke kulture. Korištenje klasičnih dijagnostičkih metoda može izostaviti dijagnozu kronične upale maternice, kao posljedica toga, može dovesti do neadekvatnih terapijskih intervencija budući da nisu usmjerene na specifičnu bakterijsku populaciju koja uzrokuje kroničnu upalu.

ENDOMETRIOME® kao molekularna mikrobiološka analiza je korisna podrška u dijagnozi endometritisa.

INDIKACIJE ZA ENDOMETRIOME® TEST

- Pacijenti s ponavljajućim neuspjehom implantacije
- Pacijenti s ponavljajućim gubitkom trudnoće
- Svaka pacijentica koji želi zatrudnjeti

ENDOMETRIOME® TEST REZULTATI

NORMALAN MIKROBIOM ENDOMETRIJA:

Mikrobiom endometrija se smatra urednim, *Lactobacillus* je najzastupljenija vrsta ($\geq 90\%$). Nisu identificirane bakterije koje uzrokuju kronični endometritis.

ABNORMALAN MIKROBIOM ENDOMETRIJA, BEZ PATOGENIH BAKTERIJA KOJE UZROKUJU KRONIČNI ENDOMETRITIS:

Mikrobiom endometrija je abnormalan, *Lactobacillus* nije najzastupljenija vrsta ($\leq 90\%$). Nisu identificirani uzročnici kroničnog endometritisa. Kako bi se uspostavilo fiziološko okruženje povoljno za implantaciju embrija, ovaj rezultat daje indicaciju za provođenje tretmana probioticima prije postizanja trudnoće. O analizi drugog uzorka nakon tretmana može se razgovarati s liječnikom koji je uputio.

ABNORMALNI MIKROBIOM ENDOMETRIJA, UZ PRISUTNOST BAKTERIJA KOJE UZROKUJU KRONIČNI ENDOMETRITIS:

Mikrobiom endometrija je abnormalan, *Lactobacillus* nije najzastupljenija vrsta ($\leq 90\%$). Uočena je prisutnost jednog ili više patogena povezanih s kroničnim endometritisom (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Chlamydia* spp., *Mycoplasma* spp., *Neisseria* spp., *Ureaplasma* spp., *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida* spp.). Ovaj nalaz može upućivati na provođenje antibiotske terapije prije trudnoće kako bi se obnovilo fiziološko okruženje povoljno za implantaciju embrija. Na kraju tretmana preporuča se analiza drugog uzorka.

NEINFORMATIVAN:

Dobiveni profil ekspresije gena ne dopušta utvrđivanje mikrobioma endometrija. Ovaj rezultat se može dobiti u slučaju prisutne kontaminacije u analiziranom uzorku. Preporučuje se analiza drugog uzorka.

NEDOVOLJNA ILI LOŠ KVALITETA DNK:

Analiza nije moguća zbog niske količine i/ili kvalitete DNK-a izolirane iz uzorka. Preporučuje se analiza drugog uzorka.

METODOLOGIJA:

Analiza se sastoji od izolacije DNK praćenom amplifikacijom i označavanjem 7 hipervarijabilnih regija (V2, V3, V4, V6, V7, V8 i V9) bakterijske 16S ribosomske RNK podjedinice (rRNK). Analiza omogućuje taksonomsku dodjelu i relativnu kvantifikaciju svake bakterije prisutne u uzorku. Dobivene sekvence analiziraju se bioinformatičkom analizom.

Bakterije povezane s kroničnim endometritisom koje se mogu otkriti ovom analizom su: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Chlamydia* spp., *Mycoplasma* spp., *Neisseria* spp., *Ureaplasma* spp., *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Detekcija vrsta *Candida* (*Albicans*, *Glabrata*, *Krusei*, *Parapsilosis* i *Tropicalis*) provodi se lančanom reakcijom Polimeraze u stvarnom vremenu (eng. real-time polymerase chain reaction; real-time PCR).

Prisutnost takvih mikroorganizama prijavit će se ako premaši specifičnu graničnu vrijednost definiranu za svaki patogen.

OGRANIČENJA:

ENDOMETRIOME® ne može garantirati uspješnu implantaciju embrija u maternicu ni napredovanje trudnoće nakon implantacije. Rezultate pretrage kao i planiranje specifične terapije i praćenja treba definirati i obrazložiti liječnik koji je zatražio pretragu. Za izvođenje, **ENDOMETRIOME®** zahtijeva uzimanje uzorka (tkiva ili tekućine endometrija) invazivnim postupkom. Uzimanje uzorka vrši se pomoću kanile "Pipelle" i postupak može izazvati blagu nelagodu i/ili krvarenje.

Postoji rizik manji od 1% da se postupkom neće dobiti uzorak prikladan za analizu jer je dobiveni materijal neoptimalne kvalitete ili male količine. Također, postoji mogućnost da čak i ako je uzorak prikladan, dobiveni rezultat nije informativan. U tim slučajevima preporučuje se novo uzorkovanje.

Za izvođenje **ENDOMETRIOME®**-a potrebno je pravilno ispuniti i potpisati zahtjev za testiranje (TRF) i informirani pristanak. U slučaju da traženi podaci nedostaju, laboratorij će kontaktirati liječnika kako bi ih dobio. To može uzrokovati kašnjenje u obradi uzorka i izdavanju izvješća.

ENDOMETRIOME® je usmjeren na procjenu bakterija koje najčešće uzrokuju kronični endometritis. Normalan nalaz mikrobioma ne isključuje prisutnost drugih mikroorganizama koji nisu analizirani testom.

Korištena metoda ne dopušta uvijek razlikovanje specifičnih vrsta u svim slučajevima. Ako nije moguće definirati vrstu, procijenit će se gornja razina roda. Za neke mikroorganizme, razlikovanje prisutnih vrsta može biti relevantno u definiranju terapijskog pristupa. Ako **ENDOMETRIOME®** ne može razlikovati razinu vrste, mogu biti indicirana daljnja ispitivanja.

ENDOMETRIOME® ne predstavlja dijagnostički test za spolno prenosive bolesti.

Reference:

Ravel J, Moreno I, Simón C. Bacterial vaginosis and its association with infertility, endometritis, and pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol*. 2021;224(3):251-257. doi:10.1016/j.ajog.2020.10.019

Moreno I, Cicinelli E, Garcia-Grau I, et al. 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. doi:10.1016/j.ajog.2018.02.012

Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(6):684-703. doi:10.1016/j.ajog.2016.09.075

Pirtea P, Cicinelli E, De Nola R, de Ziegler D, Ayoubi JM. Endometrial causes of recurrent pregnancy losses: endometriosis, adenomyosis, and chronic endometritis. *Fertil Steril*. 2021;115(3):546-560. doi:10.1016/j.fertnstert.2020.12.010

Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, et al. 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):640-647. doi:10.1177/1933719113508817

Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, et al. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum Reprod*. 2015;30(2):323-330. doi:10.1093/humrep/deu29