



**ENDOMETRIOME™**  
Endometrial Microbiome Analysis  
**Relazione tecnica**

## Il microbioma endometriale

Il termine **microbioma endometriale** indica l'insieme dei genomi dei microrganismi (*microbiota endometriale*) che colonizzano il lume dell'endometrio senza danneggiarlo, almeno in condizioni di normale funzionamento del sistema immunitario. L'analisi del **microbioma endometriale** consente di identificare i diversi tipi di microrganismi presenti e la caratterizzazione del microbioma è importante per definire l'interazione del microbiota endometriale con l'organismo stesso determinandone uno stato di salute o di patologia.

La metagenomica, mediante l'utilizzo di tecniche genomiche moderne, studia le comunità microbiche immediatamente dopo il prelievo con grande precisione, evitando il passaggio della coltura e riducendo notevolmente i tempi, ma la limitazione di tale approccio è non poter avere nessuna informazione circa la vitalità dei microrganismi stessi. Il canale vaginale e il lume endometriale non sono sterili, ma caratterizzati da un loro proprio microbiota. Il ruolo di tale microbiota è la protezione dell'ambiente da patogeni e altri microrganismi potenzialmente dannosi favorendo la corretta funzionalità di tutto il sistema in condizioni di normalità.

I **Lactobacilli**, ad esempio sono particolarmente presenti in donne sane in età riproduttiva, e agiscono come probiotici in grado di inibire la crescita di batteri, virus e funghi patogeni, attraverso un abbassamento del pH mediato dalla produzione di acido lattico. Il microbiota varia poi in funzione delle fasi del ciclo mestruale, poiché il progesterone supporta la citolisi delle cellule epiteliali con rilascio di glicogeno creando un ambiente favorevole alla colonizzazione da parte dei lactobacilli.

La valutazione del microbioma endometriale è oggetto di studio in relazione all'**infertilità femminile**. Le donne che non riescono a concepire a causa di un'infertilità di tipo idiopatico sono spesso caratterizzate da un alterato microbiota endometriale, con un aumento di colonizzazione da parte di batteri anaerobi come *Atopobium*, *Prevotella*, *Veillonella*, *Ureaplasma* ed *Escherichia*.

## L'Endometrite Cronica

Il più importante esempio di patologia causata da un'alterazione del microbiota endometriale è l'**endometrite cronica (CE)**. La CE è un'infezione persistente del rivestimento endometriale, causata dall'infezione delle mucose della cavità uterina, principalmente provocata da agenti patogeni batterici.

La CE è spesso asintomatica e non evidenziabile ai controlli ecografici, e data l'inadeguatezza degli attuali metodi di diagnosi classici (istologia, isteroscopia e coltura microbica), viene spesso trascurata. Si stima che circa il **39%** delle donne infertili sia affetta da CE, fino a percentuali del **60%** in donne con **aborti ricorrenti (RPL)** e **66%** in donne caratterizzate da **ripetuti fallimenti d'impianto**<sup>2-3</sup>.

## Il test Endometriome™

Il delicato equilibrio tra le specie batteriche che colonizzano l'endometrio è un elemento chiave durante l'impianto dell'embrione e, in condizioni normali, la specie colonizzante più presente è il **Lactobacillus**. In presenza di disbiosi, o, batteri patogeni, il microbiota endometriale alterato può sfavorire l'impianto dell'embrione e quindi l'inizio della gravidanza<sup>1</sup>.

- La presenza di **batteri patogeni** (es. *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Enterobacteria (Escherichia, Klebsiella)*, *Chlamydia* and *Neisseria*), può essere causa di **infezioni, fallimento dell'impianto embrionale o aborto**;
- Un **equilibrio batterico alterato** può essere causa di **fallimento dell'impianto embrionale**;

- Un **equilibrio batterico conservato** favorisce il successo riproduttivo e **aumenta le chance di impianto dell'embrione**.

**Endometriome™** è un test di screening per lo studio del microbioma endometriale. Il test migliora la gestione delle coppie con pregressi di insuccessi riproduttivi.

**Endometriome™** è un test di screening che permette di stabilire quando l'ambiente microbico uterino è ottimale per l'impianto embrionale. In seguito agli esiti del test lo specialista può consigliare di trasferire l'embrione o di attendere ed eseguire un trattamento probiotico utile a ristabilire l'ambiente microbico ottimale.

Il test **Endometriome™** identifica la presenza dei **10** batteri più rappresentati presenti a livello endometriale, oltre ad **8** batteri patogeni più frequentemente responsabili di **endometrite cronica (CE)**.

Il test **Endometriome™** permette di identificare processi non diagnosticati di **endometrite cronica**, causati dalla presenza di patogeni per i quali sarebbe utile un trattamento antibiotico o probiotico (secondo raccomandazione dello specialista), con l'obiettivo di migliorare la gestione clinica dei pazienti con questa patologia silente.

## Utilità del test Endometriome™

**Endometriome™** permette di valutare la **percentuale di lactobacillus** nel microbiota endometriale. Nel caso in cui il referto suggerisca una disbiosi, o la presenza di patogeni, è possibile proporre con appropriatezza un **trattamento correttivo**.

**Endometriome™** permette allo specialista di scegliere con **consapevolezza** il momento in cui è opportuno **trasferire l'embrione**.

**Endometriome™** determina quali patogeni siano responsabili di un'eventuale sottostante **endometrite cronica** per proporre una adeguata **cura antibiotica**.

### Vantaggi del test Endometriome™ rispetto alla coltura microbica

La coltura microbica è l'attuale metodo "*gold standard*" per la valutazione delle popolazioni e delle infezioni batteriche. Ciò nonostante, è stato dimostrato che, a seconda della localizzazione, una percentuale di batteri compresa tra il 20% e il 60% non può essere coltivata. La valutazione molecolare del microbioma mediante

**Endometriome™** consente la rilevazione di batteri coltivabili e non-coltivabili.

### Vantaggi del test Endometriome™ nel rilevamento dei patogeni causa di CE rispetto ai metodi classici

L'attuale diagnosi della CE si basa tradizionalmente su istologia, isteroscopia e/o coltura microbica.

Tuttavia, questi tre metodi classici forniscono risultati non conclusivi o poco attendibili nell'80% dei casi. Mentre l'istologia di solito sottodiagnostica la CE, l'isteroscopia invece solitamente sovra-diagnostica la malattia. Questi metodi non sono in grado di individuare gli agenti patogeni che causano la malattia e vengono spesso prescritti trattamenti ad ampio spettro.

La microbiologia molecolare presenta risultati equivalenti ai risultati combinati ottenuti utilizzando istologia, isteroscopia e coltura microbica<sup>6</sup>.

## Indicazioni al test Endometriome™

**Endometriome™** è indicato in caso di:

- **Pazienti con ripetuti fallimenti d'impianto dell'embrione (RIF);**
- **Pazienti con aborti ricorrenti (RPL)**
- **Tutte le pazienti che intendono avere un figlio, per valutare la presenza di disbiosi o CE non diagnosticati che potrebbero interferire negativamente sull'impianto dell'embrione.**

## Tecnologia del test Endometriome™

**Endometriome™** è un test di screening, eseguito mediante l'utilizzo della tecnologia di sequenziamento del DNA di ultima generazione, denominata **Next Generation Sequencing (NGS)**, in grado di produrre un preciso e completo **profilo del microbioma endometriale** a partire da un campione di **tessuto** o di **fluido endometriale**. Il test fornisce informazioni anche sui batteri patogeni causa di CE.

Il workflow d'analisi prevede l'estrazione e l'amplificazione del DNA, e successivamente il sequenziamento mediante **barcoded sequencing** delle **7 regioni ipervariabili** (V2, V3, V4, V6, V7, V8, and V9) del gene ribosomiale batterico 16S (**rRNA**)<sup>4-5</sup>.

Tale gene batterico, conservato in tutte le specie batteriche, presenta regioni variabili con sequenze di DNA specie-specifiche. Tale caratteristica permette l'assegnazione tassonomica e la quantificazione relativa di ogni batterio presente nel campione.

## Risultati del test Endometriome™

Il referto **Endometriome™** fornisce informazioni sull'ambiente microbico intrauterino, producendo:

- **Percentuale** dei **Lactobacilli** nel campione endometriale;
- **Percentuale** dei **batteri più rappresentati** nel campione endometriale;
- Condizione di **eubiosi** o **disbiosi** endometriale;
- Identificazione e caratterizzazione delle specie che causano **endometrite cronica** (*Enterococcus spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Mycoplasma*, e *Ureaplasma*).
- Identificazione e caratterizzazione delle **specie patogene** che causano malattie sessualmente trasmissibili (*Chlamydia* e *Neisseria*).

**Risultato POSITIVO:** Il test ha rilevato la presenza di batteri che causano **disbiosi** o di **batteri patogeni**. Nel microbioma endometriale analizzato, **Lactobacillus** non è la **specie dominante (<90%)**.

I batteri patogeni eventualmente rilevati sono correlati a sviluppo di CE (*Enterococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Mycoplasma*, and *Ureaplasma*) o di malattie **sessualmente trasmissibili** (*Chlamydia* and *Neisseria* spp).

Un risultato positivo è fortemente correlato con **insuccesso riproduttivo** (fallimento nell'impianto dell'embrione e aumento del rischio di aborto).

**Risultato NEGATIVO:** Il microbioma endometriale analizzato si presenta **normale (Lactobacillus come specie dominante ≥90%)**.

## Bibliografia

- 1) Moreno et al. Am J Obstet Gynecol 2016; 215:684-703.
- 2) Cicinelli et al. Reprod Sci 2014; 21(5):640-7.
- 3) Cicinelli et al. Hum Reprod, 2015; 30(2):323-30.
- 4) Franasiak et al. J Assist Reprod Genet 2016;33:129-136.
- 5) Tao et al. Hum Microbiome J 2017;3:15-21.
- 6) Moreno et al., Am J Obstet Gynecol, 2018; 218:602.e1-16.