

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

**Endometritis crónica en pacientes con fallo de implantación  
recurrente: diagnóstico, tratamiento y pronóstico  
reproductivo**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Ana Vegas Carrillo de Albornoz**

DIRIGIDA POR

**Isidoro Bruna Catalán  
Alberto Galindo Izquierdo**

Madrid

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



**TESIS DOCTORAL**

ENDOMETRITIS CRÓNICA EN PACIENTES CON FALLO DE IMPLANTACIÓN  
RECURRENTE: DIAGNÓSTICO, TRATAMIENTO Y PRONÓSTICO REPRODUCTIVO

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Ana Vegas Carrillo de Albornoz

DIRECTORES

Prof. Dr. Isidoro Bruna Catalán  
Prof. Dr. Alberto Galindo Izquierdo



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**



**UNIVERSIDAD  
COMPLUTENSE  
MADRID**

**ENDOMETRITIS CRÓNICA EN PACIENTES CON  
FALLO DE IMPLANTACIÓN RECURRENTE:  
DIAGNÓSTICO, TRATAMIENTO Y PRONÓSTICO  
REPRODUCTIVO**

Doctorado en Investigación en Ciencias Médico-Quirúrgicas

Doctoranda:

Ana Vegas Carrillo de Albornoz

Directores:

Prof. Dr. Isidoro Bruna Catalán

Prof. Dr. Alberto Galindo Izquierdo





# AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Isidoro Bruna Catalán, director de esta Tesis, por aceptar una Tesis más después de haber prometido “una última”. Por su experiencia, sus correcciones y recomendaciones, su ayuda, comprensión y entusiasmo por este trabajo durante todo este tiempo.

Al Dr. Alberto Galindo Izquierdo, director y tutor de esta Tesis, por el trabajo y tiempo dedicado, por sus reflexiones y sugerencias siempre acertadas.

A todo el equipo de HM Fertility Center de los Hospitales HM Montepríncipe y Puerta del Sur. Especialmente a los ginecólogos el Dr. Óscar Collado Ramos, la Dra. María Sánchez de Rivera Colino, la Dra. Judith Morraja Nadal y el Dr. Javier Vespa Hidalgo por su gran ayuda para el reclutamiento de pacientes y su gran aportación en el estudio.

A la Unidad de Histeroscopia de Hospitales HM Montepríncipe y Puerta del Sur, especialmente al Dr. Enrique Moratalla Bartolomé, la Dra. Nerea Montero Pastor y la Dra. Irene López Carrasco.

A la Dra. Elena Escudero López-Cepero, Microbióloga en el Hospital Ruber Internacional y a la Dra. Belén Pérez Mies, Anatomopatóloga en el Hospital Ruber Internacional, porque sin su gran labor esta Tesis no habría sido posible.

Al Laboratorio de Reproducción del Hospital Ruber Internacional, a los embriólogos y enfermeras por su valiosa colaboración en el trabajo.

A mis compañeros de equipo en el Hospital Ruber Internacional, especialmente a mis compañeros de la Unidad de Reproducción el Dr. Rafael Jiménez Ruiz, el Dr. Álvaro Martínez Acera y la Dra. Fátima Martínez Hernández, por haber creído en este proyecto y haberlo apoyado desde el inicio ayudando con la inclusión de pacientes.

A la Dra. Elena Carrillo de Albornoz Rianza, Directora de la Unidad de Reproducción del Hospital Ruber Internacional, y mi tía, por ser mi gran apoyo y mi principal referente.

A mi familia, a mi marido, Luis Cuadrado Rubio, por su paciencia en estos meses en los que ha sido un pilar fundamental, y a nuestro hijo Juan que, aunque todavía no es consciente, su buen dormir ha supuesto una de las principales colaboraciones de los últimos meses.

A mis padres, Jaime y Ana, por su apoyo incondicional, su ayuda, su ánimo y su confianza en mí en todos los momentos de mi vida. Y en este ámbito, especialmente a mi padre, por haberme transmitido el respeto, la admiración y la vocación por la vida académica.



# ÍNDICE



RESUMEN .....	13
1. Introducción y objetivos.....	13
2. Material y métodos .....	13
3. Resultados .....	13
4. Conclusiones.....	14
ABSTRACT .....	15
1. Background.....	15
2. Methods .....	15
3. Results .....	15
4. Conclusions .....	16
INTRODUCCIÓN .....	17
1. FALLO DE IMPLANTACIÓN RECURRENTE .....	19
2. EL ENDOMETRIO.....	22
Cuarto compartimento: la microbiota endometrial .....	23
Células del sistema inmune.....	24
3. VENTANA DE IMPLANTACIÓN .....	25
4. LA IMPLANTACIÓN .....	26
Implantación embrionaria.....	26
El embrión .....	27
5. ETIOLOGÍA Y ESTUDIO DEL FALLO DE IMPLANTACIÓN .....	28
6. ENDOMETRITIS CRÓNICA .....	30
Etiología.....	30
Factores de riesgo .....	31
Prevalencia .....	32
Endometritis crónica y fallo reproductivo.....	32
Fisiopatología .....	33
Diagnóstico.....	34
Tratamiento.....	45
7. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO .....	45
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	47
1. HIPÓTESIS.....	49
Hipótesis alternativa (H1).....	49
Hipótesis nula (H0) .....	49
2. OBJETIVOS .....	49

MATERIAL Y MÉTODOS .....	51
1. POBLACIÓN DE ESTUDIO .....	53
Criterios de inclusión .....	54
Criterios de exclusión .....	54
2. DISEÑO .....	55
3. MÉTODO .....	55
4. VARIABLES .....	60
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	64
6. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES .....	65
RESULTADOS .....	67
1. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA .....	69
2. DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS CRÓNICA.....	72
3. VALIDEZ Y FIABILIDAD DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS.....	79
4. TRATAMIENTO DE ENDOMETRITIS CRÓNICA.....	80
5. RESULTADOS REPRODUCTIVOS TRAS LA RESOLUCIÓN DE ENDOMETRITIS CRÓNICA....	81
DISCUSIÓN.....	97
1. PREVALENCIA DE ENDOMETRITIS CRÓNICA .....	99
2. DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS CRÓNICA.....	101
Fiabilidad de los métodos diagnósticos de EC .....	101
Validez de los métodos diagnósticos de EC .....	103
¿Histología, histeroscopia o cultivo?.....	105
Cultivo endometrial.....	105
3. TRATAMIENTO DE ENDOMETRITIS CRÓNICA.....	106
Comprobación del estado endometrial tras el tratamiento .....	108
4. ENDOMETRITIS CRÓNICA Y PRONÓSTICO REPRODUCTIVO.....	109
Resultados reproductivos en pacientes con EC curada y pacientes sin EC.....	109
Resultados reproductivos en pacientes con EC según las diferentes técnicas diagnósticas .....	109
Tiempo hasta la transferencia embrionaria.....	110
Abortos bioquímicos .....	110
5. LIMITACIONES .....	111
6. FORTALEZAS .....	112
CONCLUSIONES .....	113
BIBLIOGRAFÍA.....	117

ANEXOS .....	125
ANEXO 1: DICTAMEN FAVORABLE CEIM HM HOSPITALES.....	127
ANEXO 2: DICTAMEN FAVORABLE CEIM HOSPITAL RUBER INTERNACIONAL .....	131
ANEXO 3: HOJA DE INFORMACIÓN A LAS PACIENTES.....	135
ANEXO 4: CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL ESTUDIO .....	141
ANEXO 5: CONSENTIMIENTO INFORMADO HISTEROSCOPIA DIAGNÓSTICA.....	143
ANEXO 6: CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA BIOPSIAS GINECOLÓGICAS.....	147
ANEXO 7: CONSENTIMIENTO INFORMADO TEST EMMA Y ALICE.....	151
ANEXO 8: LISTADO DE TABLAS .....	157
ANEXO 9: LISTADO DE GRÁFICAS .....	161
ANEXO 10: LISTADO DE FIGURAS .....	163
ANEXO 11: LISTADO DE ALGORITMOS .....	165
ABREVIATURAS.....	167



# RESUMEN

## 1. Introducción y objetivos

La endometritis crónica (EC) se define como la inflamación persistente del endometrio. El interés por el estudio de esta entidad ha ido en aumento en los últimos años debido a que parece que tiene una importante relación con el fallo reproductivo. El diagnóstico de la EC está muy discutido, ya que existe una falta de consenso en cuanto a los criterios diagnósticos y además disponemos de diferentes técnicas útiles para su evaluación.

## 2. Material y métodos

Estudio de cohortes, longitudinal, prospectivo que incluye a todas las pacientes diagnosticadas de fallo de implantación recurrente (FIR) entre mayo de 2019 y agosto de 2021.

El FIR se definió como la ausencia de gestación tras al menos tres transferencias de blastocistos de buena calidad en mujeres menores de 40 años o dos blastocistos euploides en mujeres mayores de 40 años.

A todas las pacientes se les realizó una histeroscopia, una biopsia endometrial con inmunohistoquímica CD138 y un cultivo endometrial. Además, a un grupo de pacientes se les realizó estudio molecular del endometrio para identificación de microorganismos mediante secuenciación masiva y cultivo vaginal.

Se calculó el grado de acuerdo, la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo de todas las pruebas diagnósticas.

Todas las mujeres diagnosticadas de EC recibieron tratamiento antibiótico y se analizó la tasa de resolución del cuadro tras los tratamientos.

Se compararon los resultados reproductivos de los tratamientos de fecundación in vitro antes y después de realizar el estudio y tratamiento de la EC.

## 3. Resultados

Se incluyeron 103 pacientes. El 33% (34) presentaron signos de EC por histeroscopia, el 30,1% (31) en el estudio anatomopatológico y el 32% (33) presentaron cultivos endometriales positivos. El 56% (58) de las pacientes presentaron un resultado positivo en al menos una de las pruebas diagnósticas.

El grado de acuerdo entre la histeroscopia y la histología fue moderado ( $\kappa=0,48$ ), mientras que el cultivo y la histología ( $\kappa=0,257$ ) y el cultivo y la histeroscopia ( $\kappa=0,294$ ) presentaron grados de acuerdo bajos.

La tasa de acuerdo global entre las tres técnicas fue del 57,28%.

Todas las mujeres con al menos un resultado positivo para EC recibieron tratamiento antibiótico. El 69% de ellas logró la curación tras el primer ciclo antibiótico. El 91,4%

logró la curación después de una segunda pauta de antibiótico. Y, tras realizar un tercer y un cuarto ciclo de antibiótico se resolvieron el 96,6% y el 100% de los casos de EC, respectivamente.

Tras el estudio y resolución de EC en nuestra muestra, las tasas de implantación, gestación clínica y gestación evolutiva mejoraron de forma significativa, alcanzando un 60% de gestación evolutiva.

#### 4. Conclusiones

Parece recomendable aplicar las tres pruebas diagnósticas: histeroscopia, histología con CD138 y cultivo endometrial para realizar el diagnóstico de EC, ya que presentan un grado de acuerdo moderado o bajo entre ellas.

Es conveniente realizar la comprobación de la resolución de EC tras el tratamiento, ya que el 30% de las pacientes requiere más de un ciclo de antibiótico.

Tras el diagnóstico y curación de la EC las tasas de gestación evolutiva mejoran de forma significativa en pacientes con FIR.

# ABSTRACT

## 1. Background

Chronic endometritis (CE) has been associated with recurrent implantation failure (RIF) and is considered one possible cause of failure to conceive. The main problem of CE management is that there are different diagnostic tests available and there is no consensus on the diagnostic criteria.

## 2. Methods

A prospective, longitudinal, cohort study that included all patients with RIF between May 2019 and August 2021 was conducted.

RIF was defined as the failure to conceive after three or more single embryo transfers with good quality blastocysts in women under 40 or two or more euploid blastocysts in women over 40.

Women with antiphospholipid syndrome and other haematological or immunological issues were excluded from the study if they had not received the same treatment in previous transfers.

All patients underwent a hysteroscopy, a histopathological endometrial study with CD138 as well as endometrial and vaginal cultures. The grade of agreement, sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value were calculated.

Women diagnosed with CE were treated with antibiotics. Success rates of antibiotic therapy were assessed.

IVF outcomes previous and subsequent to the study and treatment of CE were compared.

## 3. Results

103 women were included. 33% (34) showed signs of chronic endometritis by hysteroscopy, 30.1% (31) had plasma cells as detected in the histopathological study and 31% (33) had positive endometrial culture. 56% (58) revealed a positive outcome in at least one test.

The degree of agreement was moderate between hysteroscopy and histology ( $\kappa=0,48$ ), and fair between culture and histology ( $\kappa=0,257$ ) and culture and hysteroscopy ( $\kappa=0,294$ ). The global rate of agreement between the three tests was 57.28%.

All women with at least one positive test received antibiotic therapy. In 69% of patients CE was cured after one cycle of treatment. 91.4% reached normal results after two antibiotic treatments and after three and four cycles 100% of patients were cured.

Treatment was repeated until every patient presented normal hysteroscopy, histology and endometrial culture results.

Before treatment, implantation rate was 15,5%, clinical pregnancy rate was 3.9% and live birth rate was zero.

After treatment, 80 patients underwent embryo transfers, with 72.5% implantation rate, 68.8% clinical pregnancy rate and 60% live birth rate. This increase in pregnancy outcome was statistically significant( $p<0.05$ ).

In an effort to reduce confounding, no differences in PGT-A, egg donation and endometrial thickness were found between transfers previous to the chronic endometritis treatment and subsequent.

#### 4. Conclusions

According to our results, it may be convenient to assess chronic endometritis by hysteroscopy, histopathology and endometrial culture, as these tests do not achieve good agreement.

It would be recommendable to reassess CE after antibiotic treatment, as it seems that 30% of patients need more than one cycle of antibiotics.

Overall, diagnosis and resolution of CE may improve ongoing pregnancy rates in patients with RIF.

# INTRODUCCIÓN



## 1. FALLO DE IMPLANTACIÓN RECURRENTE

El FIR es un concepto dinámico cuya definición se ha ido modificando con el paso del tiempo, conforme han ido evolucionando las técnicas de reproducción asistida (TRA). Además de la influencia de los avances técnicos, cabe señalar que el FIR es un término sobre el cual nunca ha llegado a haber un claro consenso dentro de las sociedades científicas.

Durante el final de los años 90 y la primera década de los 2000 encontramos varias definiciones de FIR en diferentes trabajos. Algunas de estas definiciones están basadas en el número de embriones transferidos como la de Stern et al. quienes en 1998 definieron el FIR como la no consecución de embarazo tras la transferencia de 10 embriones (1). Más adelante, Rinehart lo definió como la transferencia de al menos 8 embriones en estadio de células o de 5 blastocistos (2). Por otro lado, algunos autores consideraban como FIR la no consecución de gestación tras dos o tres ciclos de fecundación in vitro (FIV) (3,4).

En la revisión publicada en 2005 por Urman et al. ya se hace hincapié en la importancia de tener en cuenta la edad y la reserva ovárica de la paciente a la hora de definir el FIR (5). Los autores remarcan que estos factores son importantes, ya que las tasas acumuladas de implantación son muy diferentes según los grupos de edad y la cantidad de ovocitos obtenidos por ciclo.

Los rápidos avances en las tecnologías, los equipos diagnósticos, el laboratorio, los medios de cultivo embrionario, las técnicas de vitrificación y el estudio genético preimplantacional de aneuploidías (Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy, PGT-A), entre otros factores, han ido cambiando el paradigma de la medicina de la reproducción. Uno de los principales logros de estos avances ha sido el de reducir el número de embriones por transferencia, y con ello el número de gestaciones múltiples y la morbilidad asociada a ellas. En el registro de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) se refleja que en el año 2000 la transferencia de dos o más embriones constituía en torno al 90% del total de transferencias, mientras que en 2019 este porcentaje se había reducido hasta suponer sólo el 30-45% de las mismas (6).

Este cambio en la forma de trabajar motivó que Coughlan et al. en 2014 propusieran una nueva definición de FIR que resultó bastante aceptada por la comunidad científica. Definieron el FIR como *la no consecución de gestación tras la transferencia de al menos 4 embriones de buena calidad en un mínimo de 3 transferencias en fresco o congelados, en pacientes menores de 40 años* (7).

Por fortuna la ciencia continúa avanzando, y esta definición también ha quedado obsoleta. Entre 2014 y 2019 la transferencia de un embrión único (Single Embryo Transfer, SET) aumentó más del doble y pasó de constituir un 25% a ser la tendencia mayoritaria, suponiendo hoy en día un 50-75% de las transferencias (6).

En 2020, la SEF propone considerar como FIR “la transferencia de al menos 3 blastocistos de buena calidad en mujeres hasta 37 años, o de 3 blastocistos euploides en mujeres mayores de 37 años, sin embarazo, en ausencia de causas evidentes de no implantación en el estudio básico de la pareja infértil”(8).

Siguiendo la misma línea que la SEF, encontramos el trabajo publicado por Pirtea et al. en 2021 (9). Definen el FIR como la no consecución de gestación tras la transferencia de tres blastocistos euploides en tres transferencias de embrión único en mujeres con úteros morfológicamente normales estudiados mediante histerosonografía y/o histeroscopia. Afirman a partir de su estudio que, cumpliendo los criterios de esta definición, sólo un 5% de las pacientes no logró gestación, y, por lo tanto, la prevalencia del FIR es baja en mujeres que consiguen obtener blastocistos euploides.

Se puede ver que tanto el protocolo de la SEF(8) como Pirtea et al.(9), además de tener en cuenta el factor embrionario, incluyen también la ausencia de otras causas uterinas o sistémicas que pudieran justificar el resultado negativo de una transferencia.

Ata et al. en 2021, proponen un modelo predictivo matemático mediante el cual calculan el número necesario de blastos euploide a transferir para lograr una tasa acumulada de implantación del 90-95%. Obtienen que tras la transferencia de 3 o 4 blastocistos euploide, independientemente de la edad de la paciente, alcanzan esta tasa acumulada del 90-95%, resultado acorde con lo publicado por Pirtea et al.(9) Para hacer este cálculo asumen una tasa de implantación del 45-55% por embrión euploide. Suponiendo una tasa de implantación por blasto euploide del 65%, el número necesario de embriones a transferir para lograr un porcentaje acumulado del 90% desciende a dos (10). (Figura 1)

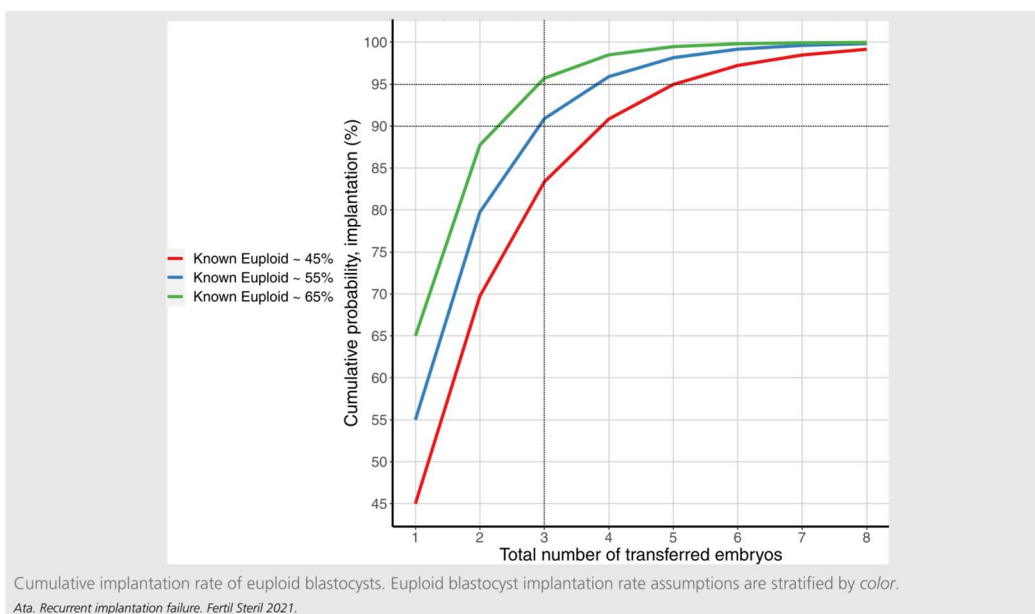


Figura 1. Tasa acumulada de implantación tras transferencias de blastocistos euploides según tasa de implantación por transferencia de blasto euploide. Tomado de Ata. Recurrent implantation failure. Fertil Steril 2021.(10)

Sin embargo, conviene tener en cuenta que la probabilidad de obtener un blastocisto euploide disminuye a medida que va aumentando la edad de la paciente y reduciéndose la hormona antimülleriana (AMH) (11) (Tabla 1). Esta disminución es drástica a partir de los 38-40 años, lo que se traduce en una mayor dificultad para conseguir embriones euploides a partir de esa edad.

	<35 años	35-37 años	38-40 años	41-42 años	>42 años
<b>Demko et al. 2016 (12)</b>	60%	50-55%	40-45%	30-35%	≤20%
<b>Igenomix 2019</b>	72%	55%	47%	30%	15%
<b>Vagnini et al. 2020 (13)</b>	51,1%	43,8%	33,8%	26,7%	21%
<b>La Marca et al 2021 (14)</b>	45-60%	35-40%	20-30%	10-15%	<10%

Tabla 1. Porcentaje de euploidía por blastocisto estudiado.

Las definiciones más actuales del FIR hacen gran hincapié en la importancia del embrión. En los últimos años se ha acotado el FIR al fallo de transferencias de embriones euploides, o embriones de buena calidad en estadio de blastocisto (8–10).

Sin embargo, estas definiciones no especifican con precisión los requisitos mínimos que se deben estudiar a nivel uterino y endometrial para considerar un FIR. Tanto la SEF (8) como Pirtea (9), mencionan la ausencia de causas uterinas de no implantación, pero no concretan hasta dónde es recomendable profundizar en el estudio del endometrio.

Hoy en día, las principales guías científicas (SEF y European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE)) únicamente recomiendan la ecografía convencional en 2 dimensiones para realizar la valoración uterina en el estudio básico del fallo reproductivo (15,16). Por tanto, se puede extrapolar esta recomendación a la definición del FIR, interpretando *“la ausencia de causas uterinas de no implantación”* como la no detección de patología uterina o endometrial en ecografía convencional. Es a partir del momento en el que se establece el FIR cuando las guías recomiendan ampliar el estudio uterino. (8,17)

No obstante, existen ciertas patologías endometriales que no son visibles por ecografía, pero están relacionadas con fracasos de implantación, entre las que se encuentran las adherencias o la EC. Si bien, las adherencias podrían ser fácilmente identificadas por histeroscopia, la endometritis, aunque más controvertido, también presenta en muchas ocasiones signos histeroscópicos.

Por tanto, teniendo en cuenta que el endometrio juega un papel esencial en la implantación, al igual que se han ido delimitando los criterios embrionarios, cabe esperar nuevas actualizaciones en la definición del FIR que incluyan un estudio previo más exhaustivo y sistematizado del endometrio.

## 2. EL ENDOMETRIO

El endometrio es la mucosa que recubre la cara interna del útero. Es un órgano hormonodependiente, cuyas características cambian cíclicamente todos los meses, con el fin de lograr un fenotipo receptivo, adecuado para que se produzca la implantación embrionaria, hacia el sexto o séptimo día después de la ovulación. El correcto funcionamiento del endometrio es, por tanto, fundamental para el desarrollo de la vida.

El interés por el estudio de la fisiología endometrial y sus posibles alteraciones ha ido en aumento en los últimos años.

Gracias a los avances en las TRA hoy en día podemos seleccionar con gran precisión los mejores embriones, aquellos que presentan una mejor morfología y una mejor morfocinética durante su desarrollo, desde el momento de la fecundación en el laboratorio. El desarrollo y la expansión de las técnicas de estudio genético ha permitido también estudiar la dotación cromosómica de los embriones antes de transferirlos al útero materno, de forma que en todos los casos que se realizan este tipo de estudios se transfieren únicamente embriones euploides.

A pesar de estos avances en el estudio y selección embrionaria todavía nos encontramos con un 30-35% de pacientes que no logran la gestación, lo cual nos induce a pensar que además del embrión, las características endometriales juegan un papel decisivo en el proceso de la implantación y en la evolución de la gestación.

Clásicamente se ha descrito que el endometrio está compuesto por tres compartimentos:

- Compartimento epitelial.

El compartimento epitelial está constituido por una monocapa de células que tapizan la cavidad uterina. Esta monocapa se compone de un epitelio luminal y un epitelio glandular, ambos regulados por el efecto hormonal de los estrógenos y la progesterona.

Las células que forman parte del epitelio luminal sufren cambios en la estructura de su membrana plasmática en respuesta a las hormonas, con el fin de regular la adhesión del embrión al endometrio.

El epitelio glandular también se desarrolla y modifica a lo largo del ciclo menstrual según los estímulos hormonales que recibe. La función principal de las glándulas es proporcionar los nutrientes necesarios para que tenga lugar una correcta implantación y su mantenimiento (18,19).

- Compartimento estromal.

El compartimento estromal está compuesto principalmente por fibroblastos y la matriz extracelular. Los fibroblastos son las células protagonistas del proceso de decidualización, fundamental para que tenga lugar una adecuada implantación embrionaria.

La decidualización endometrial es específica de los mamíferos. Consiste en la diferenciación de los fibroblastos del estroma endometrial en células redondeadas, las células deciduales. Estas células deciduales son mucho más resistentes al estrés oxidativo y facilitan la implantación embrionaria, protegiendo al embrión de los eventos proinflamatorios que tienen lugar durante la implantación. En la especie humana la decidualización se produce en cada ciclo menstrual, a diferencia de la mayoría de los mamíferos, donde solo tiene lugar ante la presencia de un embrión (20).

- Compartimento vascular.

Las principales arterias responsables de la vascularización del útero son las arterias uterinas, ramas de las arterias iliacas internas.

Las arterias uterinas se ramifican dando lugar a las arterias arcuatas, las cuales a su vez forman las arterias radiales que, al llegar a la unión miometrio-endometrial, se transforman en las arterias basales de las que se originan las arterias espirales que vascularizan la capa basal del endometrio. (Figura 2)

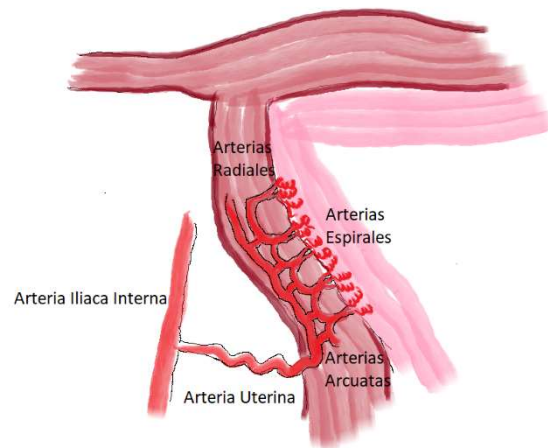


Figura 2. Vascularización uterina.

El desarrollo endometrial en cada ciclo menstrual implica un proceso de angiogénesis para mantener la vascularización.

Además de estos componentes del endometrio, hoy en día sabemos que no es un órgano estéril, por ello podríamos añadir un cuarto compartimento independiente, la microbiota endometrial, imprescindible también para el correcto desarrollo y homeostasis del endometrio.

#### **Cuarto compartimento: la microbiota endometrial**

Tradicionalmente el endometrio se ha considerado un compartimento estéril en el organismo, pero numerosos estudios en los últimos años han demostrado que, al igual que la piel, el intestino, el aparato respiratorio, o la vagina, el endometrio también están colonizado por un conjunto de microorganismos (21–24).

Aunque todavía no disponemos de una evidencia científica sólida, estudios recientes señalan que la microbiota endometrial podría desempeñar un papel importante en el

desarrollo de la vida, ya que su equilibrio y composición influiría sobre una correcta implantación embrionaria (23,25).

En la década de 1960, ya encontramos publicaciones que plantean la posible existencia de microorganismos en la cavidad uterina (26). Moller et al. realizan uno de los primeros estudios orientados a evaluar la presencia de microorganismos en el endometrio (22). Analizan cultivos de muestras vaginales, endocervicales y endometriales en pacientes a las que se ha realizado una histerectomía. Encuentran cultivos endometriales positivos en el 24% de los casos, siendo los microorganismos más frecuentes aislados *Gardnerella vaginalis* y *Streptococcus Agalactiae*. Sugieren que la presencia de estos microorganismos estaría asociada con la endometritis y con la clínica de sangrado uterino anormal y dolor pélvico.

La mayoría de los estudios que inicialmente abordaban la existencia de microorganismos en el endometrio lo hacían en relación con patologías como la endometritis o el cáncer (22,27). Cowling et al. publican en 1992 uno de los primeros trabajos que propone que el endometrio está colonizado por bacterias, sin que la presencia de estas se asocie siempre con patología (21).

En 2007 se desarrolló el Proyecto Microbioma Humano (PMH), cuyo objetivo era estudiar la composición de la microbiota humana a partir del análisis de los genes microbianos presentes en nuestro organismo (el conjunto de estos genes es lo que se conoce como microbioma). Este proyecto supuso un gran avance en el conocimiento de la influencia de las bacterias sobre muchas de las funciones de nuestro organismo y sobre algunas patologías (28).

El PMH pudo llevarse a cabo gracias al desarrollo de las técnicas de secuenciación genética. La expansión de la tecnología de secuenciación ha permitido el avance en el estudio de la microbiota endometrial.

Moreno *et al.* en 2016 realizaron un análisis del microbioma endometrial en pacientes sometidas a FIV en las que se determinó una correcta receptividad endometrial. Concluyeron que la composición bacteriana del endometrio tiene un impacto sobre la reproducción. En este estudio, las pacientes con un patrón de microbioma *Lactobacillus spp.* dominante presentaron unas significativas mayores tasas de implantación, gestación y recién nacido vivo que aquellas que presentaban un patrón no *Lactobacillus spp.* dominante (23). Por contra, en otra publicación similar no se encontró relación entre la composición de la microbiota y el pronóstico reproductivo (29). Por lo tanto, son necesarios más estudios que aporten información sobre el efecto de la microbiota endometrial en la implantación y la gestación.

### **Células del sistema inmune**

En el endometrio existen múltiples poblaciones de células inmunitarias como linfocitos B, linfocitos T, macrófagos o células natural killer (NK). Todas ellas con importantes funciones en el momento de la implantación.

Dentro de las células del sistema inmune algunas de ellas presentan una función proinflamatoria mientras otras desempeñan una función antiinflamatoria, de inmunotolerancia. Algunos de los principales grupos celulares que encontramos en el endometrio son: (30)

- Acción inflamatoria

Entre los grupos celulares con actividad proinflamatoria encontramos los linfocitos T helper 1 (linfocitos Th1), los linfocitos Th17 y los macrófagos M1. Estos dos tipos de linfocitos inducen una respuesta inflamatoria en el endometrio mediante la secreción de moléculas como la interleuquina 2 (IL2), interferón gamma (IFN $\gamma$ ) o el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ).

- Acción antiinflamatoria

En contraposición a las células con actividad inflamatoria encontramos otro grupo celular formado por los linfocitos Th2, los linfocitos T reguladores y los macrófagos M2. Estos linfocitos producen una serie de citoquinas que median acciones de inmunotolerancia, disminuyendo la inflamación, como la IL4.

- Células NK uterinas

Estas células son la fuente principal de citoquinas y segregan moléculas proinflamatorias como IL2 o IFN $\gamma$  y metaloproteasas. Una de sus principales funciones parece que es promover la invasión trofoblástica pero también intervienen en el mantenimiento del balance entre linfocitos Th1 y Th2.

Es imprescindible que exista un equilibrio entre todas las células con actividad proinflamatoria y antiinflamatoria para que pueda tener lugar la implantación. Cualquier evento que altere este balance puede ocasionar defectos en la implantación.

### 3. VENTANA DE IMPLANTACIÓN

El endometrio, como ya se ha mencionado, es un órgano hormono-dependiente y su morfología y composición celular se modifican como consecuencia del estímulo hormonal procedente del ovario. El conjunto de cambios que experimenta el endometrio en respuesta a las hormonas ováricas, principalmente a los estrógenos y a la progesterona, se conoce como ciclo menstrual.

Dentro del ciclo menstrual, el endometrio muestra un fenotipo receptivo para el embrión durante un corto periodo de tiempo, entre 3 y 5 días, coincidiendo con los 5-10 días posteriores a la ovulación. Este periodo se denomina *ventana de implantación*.

En cuanto a las características endometriales durante la ventana de implantación se pueden identificar pequeñas protrusiones en las células del epitelio luminal conocidas como pinópodos. Las glándulas endometriales se vuelven prominentes y aumentan la secreción de líquido endometrial, lo que favorece la aposición y adhesión embrionaria. En esta fase también se observa un incremento de la vascularización del estroma endometrial. (19).

Además de los cambios morfológicos también se han observado cambios en la expresión génica endometrial, la secreción de sustancias y la distribución de las células del sistema inmune, presentando un balance proinflamatorio en esta etapa (19,31).

Sin embargo, según el trabajo publicado por Moreno et al en 2016, a diferencia de la microbiota vaginal, no parece que la composición de la microbiota endometrial esté influida por la fase del ciclo menstrual (23).

#### 4. LA IMPLANTACIÓN

En el momento en el que se libera el embrión en la cavidad endometrial, al realizar una transferencia embrionaria, alcanzamos un punto ciego en el tratamiento de reproducción asistida. Desconocemos muchos de los mecanismos que se activan y las circunstancias que favorecerán el éxito de la transferencia o predispondrán a su fracaso.

A lo largo de los años se han estudiado numerosos marcadores endometriales que parecen jugar un papel importante en el momento de la implantación: integrinas, osteoponina (receptor de integrinas), mucinas, leukemia inhibitory factor (LIF)... pero ninguno ha llegado a demostrar su relevancia clínica (18).

Para poder estudiar el FIR es importante comprender la fisiología normal de la implantación embrionaria. Esta es un proceso muy complejo, en el que intervienen numerosos factores, desde la calidad de los gametos, los embriones, las características endometriales, los factores inmunológicos e inflamatorios, hasta el diálogo entre el embrión y el endometrio, que son los verdaderos protagonistas de este fenómeno.

##### **Implantación embrionaria**

De manera didáctica se considera que la implantación embrionaria se divide en 3 fases:

- Aposición

Durante la fase de aposición, el blastocisto se aproxima al área de implantación del endometrio, que suele localizarse en el tercio superior de la cara posterior uterina. La masa celular interna del blastocisto se orienta hacia la zona del trofoblasto que va a invadir el endometrio. Esta ubicación determina el lugar donde se va a formar la placenta.

Durante esta fase de la implantación el endometrio y el embrión se comunican mediante la liberación de citoquinas, que guían al embrión hacia la zona de implantación.

- Adhesión

En la fase de adhesión la superficie del trofoblasto entra en contacto directo con la superficie del epitelio endometrial dando lugar a la unión del blastocisto al endometrio. Este proceso está mediado por moléculas de adhesión que establecen uniones celulares y conexiones con la matriz extracelular endometrial.

- Invasión

Una vez que el blastocisto se ha unido al epitelio endometrial lo rompe mediante una reacción de apoptosis que le permite penetrar hacia el estroma. A partir de este momento el trofoblasto inicia la invasión del estroma en busca de las arterias espirales que aportarán el sustento al embarazo.

En esta fase, además de las moléculas de adhesión, cobran gran importancia los mediadores inflamatorios y las células del sistema inmune.

### **El embrión**

Incluso antes de que se inicie el proceso de implantación se han descrito algunas modificaciones endometriales inducidas por la presencia del embrión (19,31,32).

En efecto, además de las modificaciones endometriales que suceden por efecto de las hormonas, el embrión también es capaz de inducir cambios sobre el endometrio mediante la secreción de determinadas moléculas que interaccionan con sus receptores endometriales. Este diálogo entre el endometrio y el embrión permite, entre otras funciones, regular la acción de las células inmunes (31,32).

Está descrito que estas señalizaciones emitidas por el embrión difieren entre embriones con mayor potencial para implantar de las de aquellos que no tienen potencial para implantar. Estos últimos emiten señales que resultan en transformaciones endometriales desfavorables para la implantación (31,32).

## 5. ETIOLOGÍA Y ESTUDIO DEL FALLO DE IMPLANTACIÓN

Las definiciones de FIR están basadas en factores que conocemos, de los que tenemos constancia que pueden condicionar el resultado de la transferencia y que podemos estudiar y corregir. A medida que se avanza en el conocimiento de la fisiología de la implantación esta definición, como ya hemos descrito, ha ido evolucionando, pero todavía encontramos muchas incógnitas en el proceso de la implantación y, por tanto, hacen difícil enfocar el estudio del FIR.

Una de las revisiones más recientes publicadas sobre el FIR divide sus posibles causas en seis grandes grupos: (33)

- Factores inmunológicos e inflamatorios: incluyen patologías como la adenomiosis, la endometriosis y la EC. Estas tres entidades se relacionan con un estado inflamatorio que puede alterar el equilibrio en las células del sistema inmune y las citoquinas que liberan a nivel endometrial.
- Factores genéticos: tanto embrionarios como maternos. Algunas alteraciones genéticas maternas predisponen al desarrollo de trombofilias congénitas. También se ha sugerido que determinadas combinaciones del HLA en algunas parejas puede predisponer a un FIR
- Factores anatómicos: principalmente uterinos, como la presencia de miomas submucosos, pólipos, adherencias o algunas dismorfias uterinas, pueden dificultar la implantación embrionaria.
- Factores hematológicos: estados procoagulantes como el factor V de Leyden o la mutación del gen de la protrombina se han asociado con fallo reproductivo.
- Factores endocrinológicos: alteraciones en los niveles hormonales.
- Microbiota: actualmente se investiga el papel que puede desempeñar la microbiota endometrial y vaginal en la implantación embrionaria.

A lo largo de los años se ha tratado de investigar y determinar la relevancia clínica de muchas de estas posibles causas, sin que se haya podido alcanzar conclusiones sólidas en la mayoría de los casos.

En la tabla 2 se encuentran resumidas algunas de las recomendaciones más destacables de las principales guías científicas sobre el manejo de la paciente con FIR (8,17,34,35)





	SEF 	ESHRE 	BFS 	CFAS 
Estilo de vida				
Grosor endometrial				
Cariotipos				
PGT-A				
Transferencia en blastocisto				
Histeroscopia				
Ecografía 3D				
Hidrosalpinx				
Adenomiosis				
Vitamina D				
Función tiroidea				
Progesterona sérica				
EC	Individualizar			
Scratching endometrial				
Receptividad endometrial				
Microbiota endometrial				
Cel. Nk periféricas				En investigación
Cel. NK uterinas				En investigación
HLA	En investigación			
Trombofilias/SAF	Individualizar	Si factores de riesgo		
ADN mitocondrial				
Fragmentación ADN espermático				
Peristaltismo uterino				

Tabla 2. Resumen de recomendaciones para el estudio de FIR según las guías científicas: SEF 2021 (8), ESHRE 2023 (17), British Fertility Society (BFS) 2021 (34) y Canadian Fertility and Andrology Society (CFAS) 2020 (35). En Verde, recomendado. En amarillo, factores a considerar. En rojo, no recomendado. En blanco, no hacen referencia a ese aspecto.

Como se puede observar de forma muy gráfica en la tabla 2, la falta de evidencia científica hace que no exista un consenso sobre los estudios que se deben realizar a las pacientes que presentan FIR. Por este motivo nos parece de interés y utilidad ahondar en el conocimiento de la EC, una de las causas que puede subyacer en el FIR.

## 6. ENDOMETRITIS CRÓNICA

La EC se define como la inflamación persistente del endometrio. Histológicamente se caracteriza por la presencia de células plasmáticas en el tejido endometrial, siendo así que la detección de éstas es considerada el patrón oro para el diagnóstico.

Generalmente cursa de forma asintomática, aunque en algunas pacientes se asocia con clínica de sangrado uterino anormal, dolor pélvico, leucorrea o esterilidad (36–38).

### **Etiología**

Se sugiere que la EC está relacionada con la presencia de microorganismos infecciosos en la cavidad uterina. Para la detección de microorganismos en el tejido endometrial se pueden emplear dos técnicas: los cultivos tisulares tradicionales en diferentes medios o técnicas moleculares, más novedosas, que permiten la identificación de microorganismos mediante la detección de su material genético en el endometrio (39).

Los principales microorganismos implicados son bacterias comunes como *Streptococcus spp*, *Enterococcus spp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus spp*. (39–41). En algunos casos, pero con mucha menor frecuencia, también se han aislado patógenos comunes del tracto genital, como ureaplasma y chlamidia (40).

En un estudio publicado por Moreno *et al.* en 2018 se evaluó mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) la presencia de nueve posibles patógenos en 65 muestras de tejido endometrial de pacientes estudiadas por sospecha de EC. El microorganismo más frecuentemente detectado fue el *Streptococcus spp*. (40). Encontramos resultados similares en otras publicaciones en las que, tras realizar cultivos microbiológicos de las muestras endometriales en pacientes con esterilidad de causa desconocida, obtienen que un 64,2% de ellos son positivos en pacientes diagnosticadas de EC. Entre los principales patógenos que aíslan, los más frecuentes fueron: *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *Ureaplasma urealythicum* y *Streptococcus agalactiae* (36,40). Como vemos, la mayoría de los microorganismos son bacterias comunes y no específicas del tracto genital.

Estas bacterias pueden alcanzar la cavidad uterina mediante múltiples vías. La más probable y estudiada es el ascenso por vía vaginal. Ravel *et al.* proponen una posible relación entre la vaginosis bacteriana, la EC y el fallo reproductivo (42). Aunque no se descarta la migración bacteriana por vía hemática o el desplazamiento desde el tracto digestivo (40,43).

Por otro lado, también encontramos un porcentaje considerable de casos en los que, a pesar de tener una confirmación de diagnóstico anatomopatológico de EC, no se detectan microorganismos en cultivos. Algunos autores afirman que esto se debe al empleo de métodos de cultivo tradicionales en los que microorganismos anaerobios o virus no crecen, lo que supondría un sesgo en la mayoría de los trabajos. (40)

Encontramos otros estudios en los que se postula un posible origen autoinmune de la EC, particularmente en aquellas pacientes que presentan un cultivo negativo y no

responden al tratamiento antibiótico empírico (44). Sin embargo, esta teoría del posible origen autoinmune no termina de ser validada y son necesarios más estudios en esta dirección. Trabajos como el de Kushnir et al. (44) analizan la presencia de mediadores inflamatorios y de autoinmunidad a nivel sistémico en pacientes con antecedente de FIR o Abortos de repetición (AR). Comparan dos grupos, uno con confirmación diagnóstica de EC y otro sin EC y, finalmente, no encuentran evidencia de mayor inflamación ni autoinmunidad a nivel sistémico en pacientes con EC.

### **Factores de riesgo**

Se ha establecido una posible relación entre la EC y la endometriosis, ya que está descrita una mayor prevalencia de EC en pacientes con endometriosis que en la población general (45–47). Aunque no se conoce bien la causa de esta asociación, parece que las pacientes con endometriosis tienen una mayor predisposición a presentar disbiosis a nivel de la flora del tracto genital. La disbiosis, a su vez, condiciona un mayor riesgo para desarrollar infecciones pélvicas. Tanto la disbiosis, como las infecciones desencadenan una respuesta inflamatoria del tracto genital y la pelvis. Esta inflamación constituye el factor común para ambos procesos, tanto para la endometriosis como para la endometritis (48). Por otro lado, en pacientes con EC se ha observado una alteración en la cinética de la contractilidad uterina, lo que podría favorecer el sangrado menstrual retrógrado, convirtiendo a la EC en factor de riesgo para el desarrollo de una endometriosis (49).

Así mismo, parece que la presencia de determinadas patologías endocavitarias como pólipos endometriales, cuadros adherenciales o istmoceles se asocian con un ambiente inflamatorio endometrial. Esto probablemente está relacionado con una situación de disbiosis y alteración en la expresión de factores de crecimiento y citoquinas que predisponen al desarrollo de EC (45,47,50–52).

También se ha relacionado la presencia de patología tubárica con una mayor prevalencia de EC, sin poder concluir cuál de las dos entidades constituye la causa y cuál el efecto (38,47,53).

Todas estas situaciones pueden ser, por sí mismas, causas de fallo reproductivo. Ante el diagnóstico de cualquiera de ellas se debe también tener en consideración su posible relación con la EC.

## **Prevalencia**

La prevalencia de la EC es muy difícil de estimar, ya que para ello sería necesario disponer de unos criterios diagnósticos objetivos y universales, de los que hoy en día carecemos. Por tanto, en la literatura la prevalencia de esta patología es muy variable entre los diferentes estudios. En la población general oscila entre el 10-24% (54,55) y alcanza entre el 14-55% en mujeres que presentan FIR, abortos recurrentes o esterilidad de origen desconocido (36,54,56).

## **Endometritis crónica y fallo reproductivo**

Numerosos estudios relacionan la EC con el fallo reproductivo. Parece que existe una mayor prevalencia de EC en pacientes con FIR y con abortos de repetición que en la población general (36,55–57). Por otro lado, también se sugiere que en pacientes con EC las tasas de implantación tras un tratamiento de FIV están disminuidas (36,38,58,59).

Chen *et al.* (38) compararon las tasas de gestación tras una transferencia de embriones en dos grupos de pacientes que se iban a someter por primera vez a un TRA. Un grupo presentaba más de 5 células plasmáticas por campo de gran aumento, determinadas mediante inmunohistoquímica (IHQ) y el otro grupo 4 células o menos. Obtuvieron una tasa de gestación del 7,7% en el grupo con más de 5 células plasmáticas endometriales, frente al 31,3% en el grupo con menos de 5 plasmáticas. En este trabajo ninguna de las pacientes con células plasmáticas había recibido tratamiento antibiótico previo a la transferencia.

Disponemos de otras publicaciones similares, en las que realizaron las transferencias embrionarias sin administrar ningún tratamiento para la corrección de la EC y los resultados apuntan en la misma línea: una clara disminución de las tasas de gestación y un mayor número de abortos en aquellas con signos de EC (58,60,61).

Otros grupos, como Cicinelli *et al.* (36) alcanzan las mismas conclusiones en un grupo de pacientes con FIR tras realizar un diagnóstico de EC mediante histeroscopia, histología y cultivo. En este caso las pacientes con diagnóstico de EC recibieron tratamiento antibiótico hasta en tres ocasiones por paciente, para lograr la corrección del cuadro y realizar una transferencia embrionaria posterior. En aquellas pacientes en las que tras la administración de tres pautas de antibioterapia no se logró la resolución completa de la EC se realizó la transferencia embrionaria igualmente. En este estudio obtuvieron también tasas de gestación y recién nacido vivo significativamente inferiores en las pacientes en las que persistían signos de EC, en comparación con aquellas en las que se habían resuelto. Este último grupo de pacientes, con EC resuelta, lograba alcanzar tasas de gestación similares a las pacientes que no habían presentado en ningún momento EC.

## **Fisiopatología**

Aunque parece claro que existe una relación entre la EC y la esterilidad, no se conoce bien el mecanismo etiopatogénico. Está bastante aceptado que la base fisiopatológica de la EC se encuentra en el desorden de la microbiota endometrial. Esta alteración está condicionada por la presencia o el aumento en la cantidad de determinadas bacterias que no deberían estar presentes en el endometrio y dan lugar a una respuesta inmune que ocasiona una inflamación endometrial (39,62,63).

El desequilibrio en la composición de la microbiota o el aumento de bacterias patógenas en la cavidad endometrial se ha relacionado con la presencia de células plasmáticas en el estroma endometrial, como respuesta del endometrio ante este trastorno de su flora. Además de la presencia de células plasmáticas en las muestras endometriales de pacientes diagnosticadas de EC, también se encuentran aumentadas otras células como linfocitos B, macrófagos, monocitos, neutrófilos y linfocitos T (57,62,64–66). Estas células del sistema inmune, presentes de forma habitual en el endometrio, liberan citoquinas y mediadores inflamatorios que desempeñan importantes funciones en el momento de la implantación. Es fundamental, por tanto, que exista un equilibrio en la proporción en la que se encuentran, así como en los productos que liberan (30,55,63,67,68).

Dentro de las células del sistema inmune presentes en el endometrio existen dos subpoblaciones diferentes. Un grupo celular que va a presentar funciones proinflamatorias, liberando citoquinas proinflamatorias que inducen el rechazo de injertos, mientras que el otro grupo de células es el responsable de la producción de citoquinas y mediadores que activan mecanismos de inmunotolerancia. La presencia y el correcto funcionamiento de ambos tipos celulares es imprescindible para que se produzca una adecuada implantación embrionaria (30,55,68).

En pacientes diagnosticadas de EC el equilibrio entre estos grupos celulares y citoquinas se encuentra alterado (69,70). Algunas bacterias liberan moléculas o presentan ciertos componentes en sus membranas celulares que, al entrar en contacto con las células del sistema inmune, estimulan la secreción de mediadores inflamatorios. Esto, a su vez, favorece la proliferación de los grupos celulares con actividad proinflamatoria en detrimento de aquellas responsables de las funciones de inmunotolerancia. Además del estado proinflamatorio, algunos estudios también relacionan la EC y la alteración de la microbiota endometrial con desequilibrios en las rutas metabólicas que tienen lugar durante el proceso de la implantación (62). Todo ello conlleva el desarrollo de un microambiente excesivamente inflamatorio, desfavorable para que tenga lugar la implantación embrionaria (30,63).

Las células del sistema inmune y las citoquinas intervienen en importantes mecanismos durante la implantación como la invasión trofoblástica, la remodelación de las arterias espirales e incluso en la deciduización endometrial (63,71).

Wu et al. en 2017 publicaron un trabajo sobre diecisiete pacientes, nueve diagnosticadas de EC mediante IHQ CD138 y ocho sin EC, en las que estudiaron in vitro el proceso de

decidualización endometrial. Observaron que, en aquellas que presentaban EC, la decidualización se encontraba alterada a expensas de una expresión anormal de los receptores hormonales de las células endometriales, lo que condicionaba una disminución en la acción de la progesterona sobre dichos receptores (71).

Además de la posible disfunción en la expresión de los receptores hormonales endometriales, parece que la EC podría producir también una alteración a nivel de la producción hormonal. Los factores de crecimiento y las citoquinas segregadas como consecuencia de la inflamación endometrial pueden estimular la función de la aromatasas endometrial, dando lugar a un incremento local de los niveles estrogénicos en el endometrio. Este aumento de estrógenos endometriales puede tener como consecuencia una alteración en la maduración y diferenciación endometrial, además de constituir un mayor riesgo para el desarrollo de pólipos endometriales (72).

Por otro lado, la presencia de EC también se ha asociado con una alteración en el patrón de contractilidad uterina. Pinto et al. (49) en 2015 observaron que en pacientes diagnosticadas de EC existía una alteración en la cinética de la contractilidad uterina, lo que consideraron que podría justificar la clínica de sangrado, leucorrea y dolor, así como los problemas de fertilidad.

Por lo tanto, la EC puede alterar numerosos procesos endometriales fundamentales para que la implantación embrionaria tenga lugar de manera exitosa, dando lugar al FIR.

### **Diagnóstico**

A pesar de producir alteraciones endometriales, la EC es una entidad que no puede ser diagnosticada mediante pruebas de imagen como la ecografía, la histerosonografía o la histerosalpingografía, ya que no produce modificaciones en la anatomía de la cavidad uterina.

Se considera que la detección de células plasmáticas en una muestra endometrial constituye el patrón oro actual para el diagnóstico de EC. Pero existen otras pruebas diagnósticas como la histeroscopia que, mediante la visión directa del endometrio, permite identificar una serie de características endometriales que también parecen estar altamente relacionadas con esta patología. Así mismo, los cultivos endometriales o las técnicas moleculares que determinan la presencia de microorganismos en una muestra endometrial también pueden ser útiles para el diagnóstico de la EC, ya que su principal etiología es la presencia de bacterias en el endometrio.

#### Estudio histológico: detección de células plasmáticas en una muestra endometrial.

El diagnóstico de EC se establece mediante la confirmación de la presencia de células plasmáticas en el endometrio. Para ello, es imprescindible el estudio histopatológico de una muestra endometrial. La obtención de esta muestra se puede realizar empleando cánulas para toma de biopsias endometriales, o bien, de forma dirigida mediante histeroscopia.

### Hematoxilina eosina, CD138 y MUM 1

Las células plasmáticas son células de la serie blanca que se forman a partir de la diferenciación de linfocitos B. Estas células tienen como función secretar inmunoglobulinas y son responsables de la inmunidad humoral.

Clásicamente, en el estudio anatomopatológico, se ha empleado la tinción con hematoxilina-eosina para la detección de células plasmáticas en las biopsias endometriales. Sin embargo, en los últimos años se ha observado que el estudio inmunohistoquímico del marcador CD138 (también conocido como syndecan 1, un proteoglicano presente en las membranas de las células plasmáticas) mejora la sensibilidad en la detección de las células plasmáticas, y por tanto, el diagnóstico de EC (38,64,73,74). Esto es debido a que con la aplicación de este marcador se logra un realce visual de las células plasmáticas, mientras que con la HE las células plasmáticas pueden pasar desapercibidas en muchas ocasiones a causa del parecido en su morfología con otras células que habitualmente están presentes en el estroma endometrial. (Figura 4)

Encontramos varios estudios que comparan la eficacia diagnóstica de la detección de células plasmáticas mediante hematoxilina eosina frente al empleo del CD138. Demuestran claramente una superioridad en la tasa de detección de las células plasmáticas con CD138 y una menor subjetividad de la técnica, además de un mejor grado de acuerdo interobservador (38,57,58,73,75).

En la tinción con HE las células plasmáticas se caracterizan por presentar una cromatina granular y un citoplasma basófilo con un halo rosa alrededor del núcleo. La tinción con CD138 realza la membrana celular de las células plasmáticas proporcionándoles un tono ocre oscuro, sin teñir los núcleos celulares (64,74,76). (Figura 3)

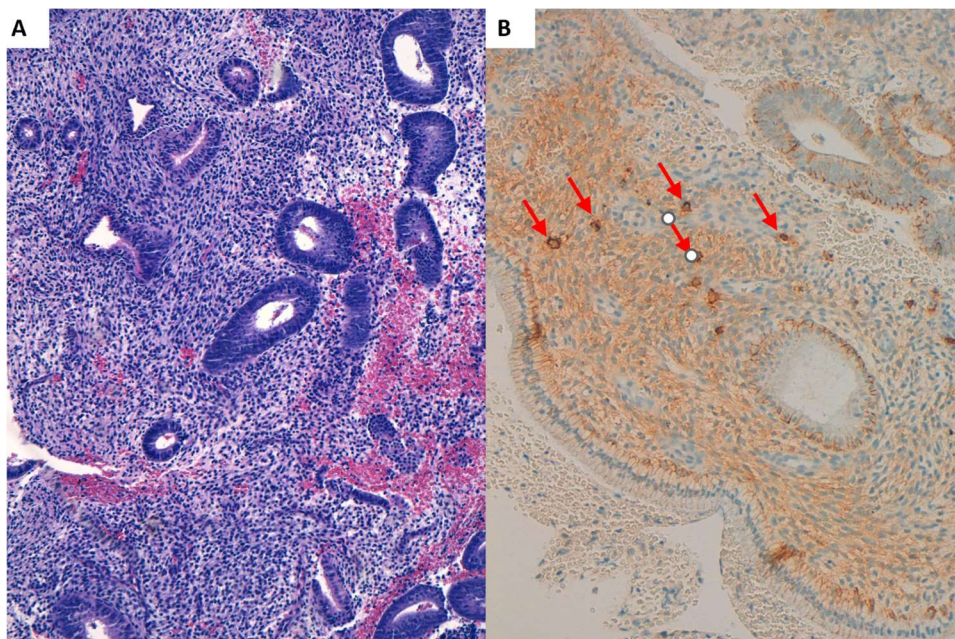


Figura 3. A. Endometrio proliferativo. H&E 4x. B. Tinción CD138. Tinción inespecífica en las glándulas endometriales, pero se reconocen abundantes células con tinción circunferencial e intensa para CD138 (flechas rojas). IHQ CD138 20x.

En publicaciones más recientes, algunos autores han introducido otro anticuerpo para detectar la proteína MUM 1, también presente en las células plasmáticas, linfocitos B activados y linfocitos T, empleado inicialmente para el diagnóstico de mieloma múltiple y otros síndromes linfoproliferativos (77). La tinción de MUM 1 realza el núcleo celular, muestra las células plasmáticas con su núcleo granular de color marrón oscuro y su abundante citoplasma en un tono arena más claro (76).

El Grupo de trabajo internacional para la estandarización del diagnóstico de la EC, liderado por Ettore Cicinelli, ha publicado en 2022 un trabajo en que comparan ambos marcadores histológicos, el MUM 1 frente al CD138. Tomando como diagnóstico estándar la combinación de la histeroscopia junto con el estudio histológico con hematoxilina eosina, obtienen una sensibilidad (S) y especificidad (E) similares, aunque algo superiores para MUM 1 (S 93,48% y E 85,03%) frente a CD138 (S 89,13% y E 79,59%) y una precisión diagnóstica similar para ambos marcadores (MUM1 AUC= 0,893 y CD138 AUC=0,844). El grado de acuerdo interobservador resultó bueno para ambas técnicas, algo superior de nuevo para MUM 1. Sin embargo, observaron un mayor número de falsos positivos al emplear CD138 debido a la intensa tinción de membrana de las células epiteliales endometriales en algunos casos (77).

Aunque los resultados con MUM1 parecen prometedores, por el momento, la técnica histopatológica más extendida para la identificación de células plasmáticas en muestras endometriales es la tinción IHQ CD138.

Siempre que se emplea el CD138 para la identificación de células plasmáticas en el endometrio es importante tener en cuenta que las células epiteliales endometriales también tiñen su membrana con este marcador. Este hecho puede llevar a confusión, considerando como positivas las células epiteliales y confundiéndolas con células plasmáticas, lo que supone un mayor riesgo de obtener un falso positivo en el diagnóstico de EC (74,76,77). Por ello es importante que las células plasmáticas sean identificadas en el estroma endometrial y así lo subrayan los patólogos. (Figura 4)

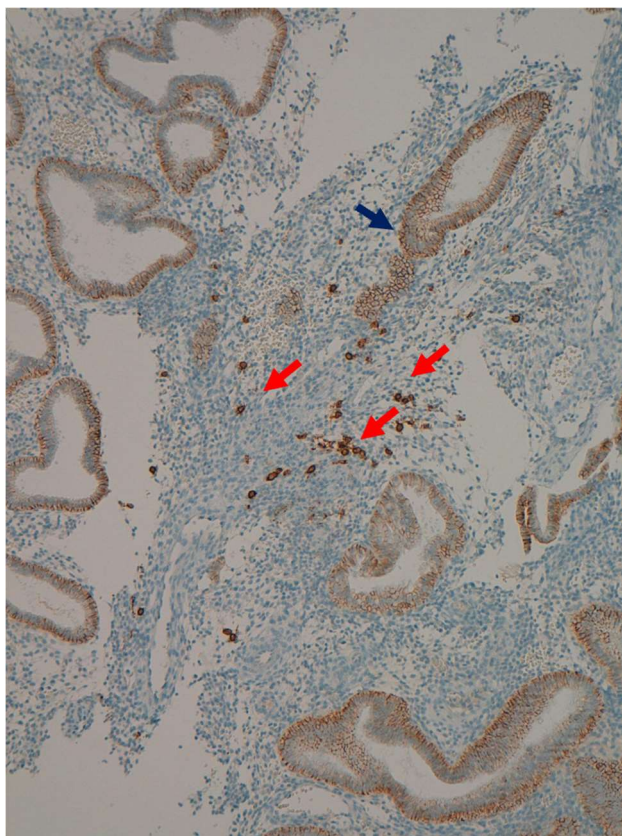


Figura 4. Tinción CD138. Tinción inespecífica en las glándulas endometriales (flecha azul) pero se reconocen abundantes células con tinción circunferencial e intensa para CD138 (flecha roja). IHQ CD138 10x

#### Número de células plasmáticas

Además de la dificultad para la identificación de las células plasmáticas en las muestras endometriales y la falta de acuerdo sobre la técnica a emplear, encontramos otro punto de controversia importante a la hora de realizar el diagnóstico de EC mediante el estudio histológico: el número de células plasmáticas necesarias para considerar un diagnóstico de EC. Este factor hace especialmente difícil comparar y agrupar los resultados de los diferentes trabajos publicados, ya que muchos autores aplican criterios diferentes y establecen el número de células plasmáticas de forma arbitraria. (Tabla 3)

No sólo sería importante estandarizar cuanto antes el número de células plasmáticas considerado diagnóstico de EC, sino también el modo de llevar a cabo su recuento. Este conteo puede realizarse sobre toda la muestra endometrial de la que disponga el patólogo o en un número determinado de campos microscópicos, seleccionados al azar, que tendrán una diferente extensión en función de los aumentos aplicados.

Además, algunos estudios demuestran que se puede encontrar un número reducido de células plasmáticas en el endometrio de pacientes sanas y fértiles (57,73,78). Por ello algunos autores proponen no sólo tener en cuenta la presencia y/o el número de células plasmáticas sino también recalcan la importancia de realizar una valoración del estroma endometrial en su conjunto, hipercelular en los casos de EC y con una asincronía entre la maduración estromal y glandular (57,64).

Encontramos varios estudios que sugieren diferentes propuestas para establecer los criterios diagnósticos en el estudio histológico de la EC. (Tabla 3)

	Fase del ciclo	Criterios diagnósticos histológicos
Mc Queen 2015 (58)	No específica	1-5 células plasmáticas en un campo de gran aumento
Chen et al. 2016 (38)	Fase folicular	5 ó > células plasmáticas en un campo de gran aumento
Liu et al. 2018 (73)	Fase lútea	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 5,15 células plasmáticas por 0,1mm<sup>2</sup> identificadas mediante CD138 en toda la muestra.</li> <li>- 2,95 células plasmáticas en toda la muestra</li> <li>- 1,95 células plasmáticas en 10 campos de gran aumento</li> </ul>
Zargar et al. 2020 (59)	Fase folicular	5 ó > células plasmáticas en 20 campos de gran aumento
Li et al 2020 (66)	Fase lútea	5 ó > células plasmáticas en un campo de gran aumento
Rimmer et al 2020 (78)	Fase lútea	4-6 células plasmáticas en un campo de gran aumento
Mc Queen et al. 2021 (57)	No específica	1 ó > células plasmáticas identificadas mediante CD138 por campo de gran aumento + cambios en el estroma endometrial.
Hirata et al. 2021 (61)	Fase lútea	1 ó > células plasmáticas en 10 campos de gran aumento
Xiong et al. 2021 (79)	Fase folicular	5 ó > células plasmáticas en toda la muestra

Tabla 3. Criterios histológicos diagnósticos de EC.

El grupo de Liu et al. (73) en 2018, propuso relacionar el número de células plasmáticas en toda la muestra y la extensión de dicha muestra, informando el número de células plasmáticas por unidad de superficie. De este modo, eliminaron la posible influencia del tamaño o cantidad de la muestra endometrial frente a aquellos estudios que analizan el número de plasmáticas en toda la muestra. También eliminaron así el sesgo que puede producir el azar en aquellos trabajos en los que estudian el número de células plasmáticas en un número determinado de campos de gran aumento y no tienen en cuenta toda la muestra (38,58,61,66,78).

Una encuesta internacional realizada a anatomopatólogos en 2019-2020 en la que participaron 336 especialistas confirmó que no existe ningún consenso en cuanto a los criterios diagnósticos de EC. Un 28% consideraba diagnóstico de EC la presencia de al menos una célula plasmática en toda la muestra endometrial, el 35% aplicaban el punto de corte entre 2-5 células plasmáticas, un 18% lo definían en 5 ó más células plasmáticas y un 16% consideraba como diagnóstico la presencia de al menos 3 células agrupadas. Por lo tanto, tras la cumplimentación de esta encuesta, se concluyó que era necesario llegar a un consenso sobre los criterios diagnósticos de esta entidad (80).

Por último, también sería conveniente estandarizar el momento de la toma de la muestra endometrial ya que se sugiere que se puede hallar un mayor número de células plasmáticas cuando la muestra es recogida en fase proliferativa que cuando se toma en fase lútea (66,81).

### Histeroscopia

La histeroscopia además de permitir la obtención de tejido endometrial aporta una mayor información sobre el estado de la cavidad endometrial ya que nos proporciona una visión directa de la misma.

### Hallazgos sugestivos de EC

Se han descrito una serie de patrones histeroscópicos asociados a la EC como la presencia de micropólipos, endometrio polipoide, edema estromal y/o hiperemia focal o difusa. Varios estudios demuestran que existe una buena correlación entre dichos hallazgos y la confirmación diagnóstica de EC en el estudio anatomopatológico (40,82–84).

- Hiperemia difusa o focal



Figura 5. Imagen histeroscópica de endometrio con hiperemia difusa

Entre los patrones histeroscópicos asociados a inflamación endometrial se encuentra muy frecuentemente la hiperemia endometrial, esto es, el enrojecimiento de la superficie endometrial. Clásicamente se ha denominado “*endometrio en fresa*” por su aspecto de color rojizo con un punteado blanco (84). El endometrio en fresa suele corresponder a una hiperemia difusa que se extiende por toda la cavidad endometrial. (Figura 5)



Figura 6. Imagen histeroscópica de endometrio con áreas de hiperemia focal

En algunos casos, en lugar de un enrojecimiento generalizado, estas áreas rojizas presentan una menor extensión en su superficie, aparecen como una mancha, y se encuentran localizadas en determinadas zonas del endometrio, dando lugar a lo que se conocen como áreas de hiperemia focal. (Figura 6)

- Endometrio polipoide

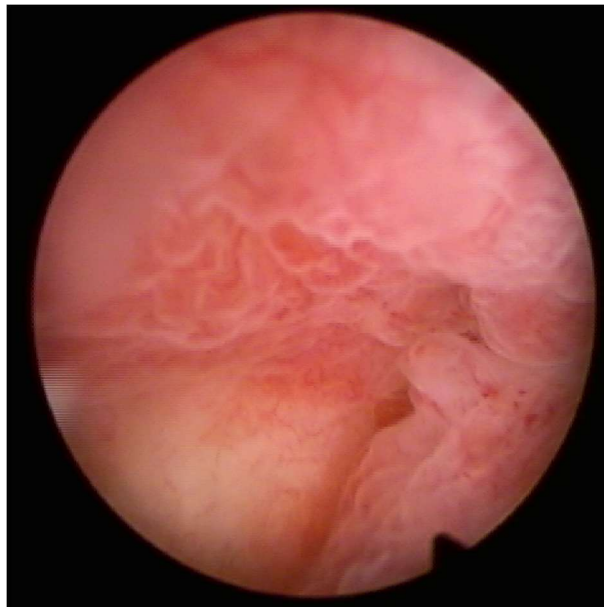


Figura 7. Imagen histeroscópica de endometrio con áreas de maduración irregular.

Se caracteriza por un engrosamiento endometrial irregular producido por falta de homogeneidad en la maduración de las glándulas del endometrio, secundario a una disfunción hormonal. (Figura 7)

- Edema estromal

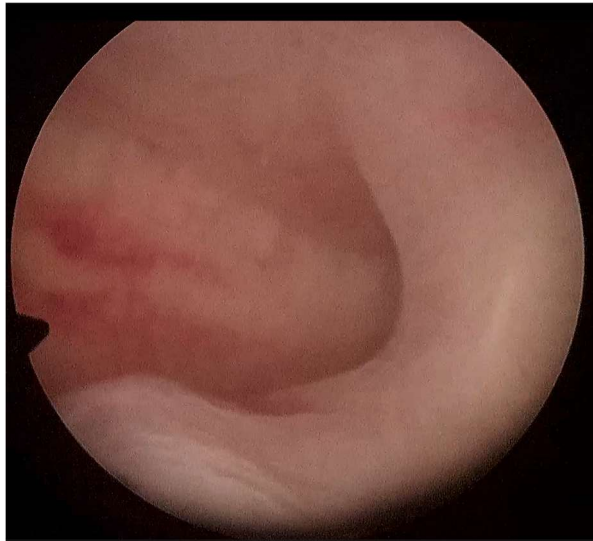


Figura 8. Imagen histeroscopia de endometrio con edema estromal.

El edema estromal del endometrio confiere un aspecto histeroscópico característico que consiste en un endometrio pálido, irregular y con áreas de engrosamiento en primera fase de ciclo. (Figura 8) Estas características endometriales pueden considerarse normales en la fase secretora tardía o premenstrual, por lo que es importante tener en cuenta el momento del ciclo de cara a interpretar las imágenes histeroscópicas (84,85).

- Micropólipos



Figura 9. Imagen histeroscópica de endometrio con múltiples micropólipos

Los micropólipos son pequeñas proliferaciones endometriales, menores de 1mm, que presentan un vaso en su eje central (85) (figura 9). Fueron descritos y relacionados con la presencia de EC por primera vez por el grupo de Cicinelli en 2005 (84).

Clásicamente, cuando se empleaba CO2 como medio de distensión de la cavidad uterina para realizar la histeroscopia, el principal signo que se asociaba con EC era la presencia de hiperemia y el edema estromal.

El hallazgo de micropólipos en la histeroscopia se considera prácticamente patognomónico de EC. Resulta curioso que no se encuentra en la literatura ninguna descripción de micropólipos en histeroscopias hasta que no se instaura el empleo de suero como medio de distensión. Esto parece deberse a que con el CO2 los micropólipos quedaban comprimidos contra la pared y no se apreciaban, mientras que, con el empleo del suero, los micropólipos se observan flotando desde la superficie endometrial (84).

Cicinelli et al. (86) clasifican la severidad de la inflamación en la EC en tres grados en función de los hallazgos histeroscópicos:

- Grado 0: histeroscopia normal
- Grado 1: hiperemia focal o periglandular con engrosamiento y palidez de la mucosa endometrial asociado o no a presencia de micropólipos aislados.
- Grado 2: hiperemia intensa y difusa, engrosamiento de la mucosa endometrial y abundantes micropólipos.

Además, demuestran que existe un buen grado de acuerdo entre los hallazgos histeroscópicos y el nivel de inflamación encontrado en el estudio anatomopatológico (86).

Sin embargo, existen resultados muy heterogéneos entre las diferentes publicaciones que evalúan la validez de la histeroscopia tomando como patrón oro el estudio histológico. La sensibilidad de la histeroscopia para el diagnóstico de EC varía entre el 35 y el 85% entre los trabajos publicados (Tabla 4). Por ello, algunos autores recomiendan emplear la histeroscopia sólo como método de sospecha para EC y confirmar o descartar la EC mediante el estudio histológico de células plasmáticas en la biopsia endometrial (82,87).

	N	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Cicinelli et al. 2005 (84)	910	55,4%	99,9%	98,4%	94,5%
Bouet et al. 2016 (82)	99	40%	80%	35%	83%
Song et al. 2019 (87)	1189	59,3%	69,7%	42,1%	82,2%
Zargar et al. 2020 (59)	85	86,36%	87,3%	70,37%	94,82%
Tsonis et al 2021 (83)	350*	34,48%	98,77%	76,92%	92,72%

Tabla 4. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de la histeroscopia. \*350 pacientes con fallo reproductivo.

Recientemente, en 2019, el Grupo de trabajo para el diagnóstico de EC liderado por Cicinelli ha propuesto una actualización y unificación de los criterios histeroscópicos para el diagnóstico de la EC. En esta actualización incluyen los mismos hallazgos ya descritos en 2005, eliminando el endometrio polipoide y añadiendo el punteado hiperémico.

De tal forma, que hoy en día se consideran hallazgos histeroscópicos sugestivos de EC los siguientes: (85)

- Endometrio en fresa: equivalente a la hiperemia difusa anteriormente descrita.
- Hiperemia focal
- Punteado hemorrágico: áreas rojas focales con bordes irregulares, bien delimitados, que aparecen en continuidad con capilares
- Micropólipos
- Edema estromal en fase folicular

Al igual que en el análisis anatomopatológico, también parece que es importante tener en cuenta el momento de realización de la HSC (84,85,87). Hallazgos como el edema estromal pueden ser normales en la fase secretora tardía o premenstrual y en ese caso no se debe considerarlo signo de EC (84,85).

#### Cultivo endometrial

Como ya se ha expuesto anteriormente, en la actualidad se considera que la principal causa de EC es infecciosa (39,40,42). La presencia de microorganismos que no forman parte de la microbiota endometrial habitual o el desequilibrio en la composición de ésta pueden desencadenar una respuesta inflamatoria del endometrio.

Por lo tanto, una de las técnicas descritas para el diagnóstico de EC es el cultivo endometrial. Siendo la principal etiología una alteración en la composición bacteriana del endometrio, parecería lógico pensar que la detección de microorganismos en los cultivos endometriales podría constituir la prueba definitiva para el diagnóstico de EC. Sin embargo, el cultivo presenta limitaciones importantes. La principal es su baja sensibilidad, que puede estar ocasionada porque algunos microorganismos no crecen adecuadamente en medios de cultivo habituales, como los virus y algunas bacterias anaerobias (40).

Otra limitación de los cultivos es la posible contaminación de la muestra. Es importante ser extremadamente cuidadoso durante la obtención de la muestra endometrial y su posterior manipulación. Encontramos pocos trabajos en la literatura que evalúen este aspecto, pero parece que la concordancia entre los cultivos vaginales y endocervicales con los endometriales es escasa (23,41). La mayoría de los autores consideran que el empleo del espéculo, la desinfección de la vagina, una canalización cervical cuidadosa a la hora de realizar la histeroscopia y la toma de la muestra endometrial es suficiente para evitar su contaminación (40,88).

A pesar de estas dos limitaciones, el cultivo puede considerarse una técnica de gran utilidad para el manejo de la EC. Además de identificar el microorganismo, los cultivos permiten realizar un antibiograma y así, poder seleccionar el antibiótico más adecuado para eliminar el patógeno aislado, optimizando el tratamiento.

## Detección de microorganismos mediante técnicas moleculares

En los últimos años la evolución y la expansión de las técnicas genómicas moleculares como la RT-PCR y la secuenciación genómica masiva (Next Generation Sequencing, NGS) han permitido el desarrollo de pruebas diagnósticas que detectan la presencia de microorganismos en diferentes muestras biológicas mediante el análisis del ácido desoxirribonucleico (ADN). Estas pruebas identifican secuencias genéticas de diferentes microorganismos, que son exclusivas para cada uno de ellos (29,89).

Las técnicas moleculares nos permiten aplicar dos estrategias diferentes para el diagnóstico de la EC. Por un lado, tanto la RT-PCR como la NGS, pueden buscar un microorganismo en concreto aplicando una sonda con una determinada secuencia de genes que es exclusiva para cada microorganismo o para una familia de microorganismos. Existen kits en el mercado que incluyen sondas con secuencias genéticas de las principales bacterias que se han identificado como causantes de EC. Esta técnica, por tanto, es útil para el diagnóstico de EC en aquellos casos que está causada por los patógenos que más frecuentemente la producen, pero presentará resultados falsos negativos en caso de que el microorganismo no esté incluido en ninguna de las sondas (39).

Por otro lado, la generalización y el desarrollo de la inteligencia artificial y el “big data” y la mayor facilidad de acceso a la NGS ha permitido que, además de identificar determinados microorganismos, se pueda analizar todo el microbioma de la muestra endometrial. También se encuentran paquetes comerciales que secuencian todos los genes bacterianos presentes en el endometrio, permitiendo así identificar posibles desequilibrios en la composición de la microbiota que puedan ocasionar una respuesta inflamatoria (29,39).

Para realizar estas técnicas, previamente se realiza una amplificación del ADN, lo que facilita la identificación microorganismos, aunque estén presentes en pequeña cantidad. Por lo tanto, como ventaja frente al cultivo, parece que el estudio molecular del endometrio tiene una mayor sensibilidad para la detección de microorganismos (39).

Como contrapartida, el diagnóstico por NGS no detecta microorganismos vivos, sino que identifica material genético, que puede estar presente en restos bacterianos, aunque el microorganismo ya no esté activo (89). En base a ello, esta prueba tiene un mayor riesgo de presentar resultados falsos positivos, ya que podría identificar restos genéticos de microorganismos muertos, sin significación patológica.

Además del mayor riesgo de resultados falsos positivos, esta prueba también presenta otras limitaciones. Comparte con el cultivo la limitación de la posible contaminación de la muestra en el momento de su extracción o durante su manipulación, por lo que también es importante ser extremadamente cuidadosos en el manejo del tejido endometrial. Por último, a diferencia del cultivo, otra importante limitación que presenta el diagnóstico por NGS es que al identificar el material genético y no el microorganismo vivo en sí, no se puede realizar antibiograma, por lo que presenta una menor utilidad en cuanto al manejo terapéutico.

## Tratamiento

La identificación del microorganismo causante de la endometritis es el método ideal para conseguir un tratamiento dirigido y eficaz. (36)

En aquellos casos en los que no se detecta ningún patógeno también se recomienda administrar tratamiento antibiótico empírico, ya que parece que las tasas de embarazo tras la antibioterapia mejoran en estas pacientes. La pauta empírica empleada mayoritariamente es la Doxiciclina en dosis de 100mg/12h durante 14 días (82,90). En caso de persistir la EC algunos autores repiten la pauta de tratamiento añadiendo Metronidazol 500mg/12h + Ofloxacino 400mg/12h durante otro ciclo de 14 días (82). Cicinelli *et al.* (36) en 2015, emplean como antibioterapia empírica desde el inicio la combinación de Ceftriaxona 250mg en dosis única intramuscular, asociada a Doxiciclina 100mg/12h y Metronidazol 500mg/12h durante 14 días y, en caso de ser necesario, repiten la misma pauta hasta en 3 ocasiones.

Tras el tratamiento antibiótico parece recomendable repetir las pruebas diagnósticas que resultaron positivas para EC al diagnóstico, en orden a comprobar la resolución del cuadro (91,92). Li et al. observaron que disminuía el porcentaje de células inmunitarias en el estroma endometrial, que previamente habían hallado aumentado en las pacientes con EC (66). Tras la administración del tratamiento también se ha observado la desaparición de los hallazgos histeroscópicos sugestivos de EC, dando lugar a imágenes intracavitarias con endometrios normales (36,56,93).

Por lo tanto, aunque de los resultados publicados en la literatura parece inferirse que el tratamiento antibiótico en pacientes con EC mejora las tasas de gestación en TRA e incluso puede llegar a mejorar las tasas de gestación espontánea, son necesarios más estudios (56,82,92).

### 7. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

Actualmente se mantiene la controversia sobre los métodos diagnósticos y el manejo terapéutico de la EC.

El estudio anatomopatológico con IHQ CD138 continúa considerándose el patrón oro para el diagnóstico. No obstante, la histeroscopia, el cultivo y el diagnóstico molecular parece que también son de utilidad en el diagnóstico y, en el caso del cultivo y el NGS, también pueden serlo para el tratamiento (39,56,84). Sin embargo, pocos estudios evalúan el grado de acuerdo entre las diferentes técnicas diagnósticas, la prevalencia de la EC y el papel de la endometritis sobre el fallo reproductivo. Y los que lo hacen son heterogéneos y, en general, poco precisos en cuanto a los criterios de inclusión de pacientes, por lo que obtienen resultados dispares (39,40,82,87).

Por ello, consideramos de gran utilidad el análisis de las posibles pruebas diagnósticas, así como de la tasa de resolución de la EC tras administrar el tratamiento antibiótico en nuestra población de pacientes con FIR.



# HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



## 1. HIPÓTESIS

### **Hipótesis alternativa (H1)**

La detección en la histeroscopia de micropólipos, hiperemia focal o difusa, o edema estromal, así como la presencia de microorganismos en el cultivo endometrial, tienen un grado de acuerdo moderado o bueno con el diagnóstico de EC realizado mediante estudio IHQ.

### **Hipótesis nula (H0)**

La detección en la histeroscopia de micropólipos, hiperemia focal o difusa, o edema estromal, así como la presencia de microorganismos en el cultivo endometrial, no tienen un grado de acuerdo moderado o bueno con el diagnóstico de EC realizado mediante estudio IHQ.

## 2. OBJETIVOS

**Principal:** Determinar el grado de acuerdo entre las pruebas diagnósticas orientadas a la detección de EC: detección de células plasmáticas mediante inmunohistoquímica CD138 en muestra endometrial, histeroscopia y cultivo microbiológico

### **Secundarios**

1. Calcular la prevalencia de EC en pacientes con FIR en nuestra población.
2. Determinar la sensibilidad, especificidad y tasas de verdaderos y falsos positivos y negativos de la histeroscopia para el diagnóstico de EC, tomando como patrón oro el diagnóstico anatomopatológico con identificación de células plasmáticas mediante IHQ CD138.
3. Calcular el valor predictivo positivo y negativo de la histeroscopia para el diagnóstico de la EC.
4. Determinar la sensibilidad, especificidad y las tasas de verdaderos y falsos positivos del cultivo microbiológico para el diagnóstico de EC.
5. Calcular el valor predictivo positivo y negativo del cultivo microbiológico para la detección de EC.
6. Determinar el grado de acuerdo entre la detección de células plasmáticas mediante IHQ CD138, la histeroscopia, el cultivo microbiológico y la NGS.
7. Determinar la sensibilidad, especificidad y las tasas de verdaderos y falsos positivos del diagnóstico metagenómico por NGS para la EC.
8. Calcular el valor predictivo positivo y negativo del diagnóstico metagenómico por NGS para la detección de EC.
9. Analizar el número de tratamientos necesarios para la resolución de la EC.
10. Evaluar si existen diferencias entre la tasa de implantación, gestación clínica y gestación evolutiva previas y posteriores al estudio y tratamiento de la EC.
11. Analizar la posible contaminación de los cultivos endometriales por microorganismos presentes en vagina.



# MATERIAL Y MÉTODOS



## 1. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se han incluido en el estudio todas las pacientes diagnosticadas de FIR entre mayo 2019 y agosto de 2021 en los centros HM Fertility Center del Hospital Universitario HM Montepríncipe, Hospital Universitario HM Puerta del Sur y de la Unidad de Reproducción del Hospital Ruber Internacional que cumplían los criterios de inclusión y no presentaban ningún criterio de exclusión.

El presente trabajo se diseñó en 2018, cuando todavía no disponíamos de las nuevas definiciones de FIR (8–10) y aún permanecía vigente la propuesta por Coughlan et al. (7) Para la determinación de los criterios de inclusión revisamos las características de nuestra población y los protocolos que estábamos empleando en nuestros centros.

La media de edad de las pacientes que se habían realizado tratamientos de fecundación in vitro en nuestras unidades se situaba por encima de los 38 años. Esto implicaba que el porcentaje de PGT-A por riesgo asociado a la edad de la paciente también era elevado, realizándose en más de un 80% de los ciclos. Del mismo modo, esta edad avanzada también conllevaba una baja reserva ovárica en las pacientes y peor calidad ovocitaria, con un menor número de ovocitos y por tanto de embriones obtenidos por ciclo. Este número reducido de blastocistos por paciente unido a la menor probabilidad de lograr un blastocisto euploide a mayor edad daba lugar a que las pacientes obtuvieran un número muy escaso de embriones euploides que pudieran ser transferidos por ciclo y, en muchos casos, blastocistos difíciles de volver a conseguir.

Por lo tanto, teniendo todo esto en cuenta, para establecer los criterios de inclusión en nuestro estudio, definimos el FIR como *la no consecución de una gestación tras la transferencia de al menos 3 embriones de buena calidad en tres transferencias en pacientes menores de 40 años; o tras la transferencia de 2 blastocistos euploides en dos transferencias de embrión único en pacientes que habían realizado PGT-A.*

Esta definición es más conservadora que las publicadas en la literatura, pero se adapta a los protocolos empleados en ese momento en nuestras unidades, en los que realizábamos el estudio de FIR tras el fracaso de dos transferencias de blastocistos euploides, dada la dificultad para conseguir otro embrión euploide en muchas de nuestras pacientes. A día de hoy, sin embargo, vemos que encaja con los criterios establecidos según el modelo predictivo de Ata et al. (10), teniendo en cuenta que la tasa de implantación por blastocisto euploide en nuestros centros es del 65%.

### **Criterios de inclusión**

1. Pacientes mayores de edad, que han otorgado su consentimiento informado por escrito, aprobado por el comité de ética de la investigación, tras haber sido debidamente informadas de la naturaleza del estudio y tras aceptar voluntariamente su participación en el mismo conociendo los potenciales riesgos, beneficios y las posibles molestias.
2. Pacientes con FIR definido como la no consecución de una gestación tras la transferencia de al menos 3 embriones de buena calidad (A o B según la clasificación de ASEBIR (94)) en día +3 o en estadio de blastocisto, ó 2 embriones con resultado de PGT-A euploide, en fresco o congelados, en un mínimo de 2 transferencias.
3. Pacientes menores de 40 años con óvulos propios.
4. Pacientes mayores de 40 años con óvulos de donante.
5. Pacientes mayores de 40 años con resultado de PGT-A euploide.
6. Mujeres con indicación de PGT-A con resultado de euploidia embrionaria, independientemente de la edad de la paciente.
7. Pacientes con índice de masa corporal (IMC) inferior a 30.

### **Criterios de exclusión**

1. Pacientes que han recibido transferencias de embriones de mala calidad (C o D de la clasificación ASEBIR (94)).
2. Mujeres diagnosticadas de pólipos o miomas submucosos en la histeroscopia.
3. Pacientes diagnosticadas de síndrome antifosfolípido, que no hubiera sido tratado en las transferencias previas.
4. Uso de dispositivo intrauterino (DIU) o tratamiento antibiótico en el mes previo.
5. No acceso o no firma del consentimiento informado y de la documentación informativa durante el proceso de tratamiento en cualquiera de los centros colaboradores.

## 2. DISEÑO

Estudio observacional, longitudinal de cohortes, analítico, prospectivo.

## 3. MÉTODO

Siguiendo los protocolos de las Unidades de Reproducción participantes, a todas las pacientes con diagnóstico de FIR se les realizó una histeroscopia diagnóstica y la toma de dos muestras endometriales, una para estudio anatomopatológico y otra para cultivo microbiológico, ambas obtenidas mediante cánula de Cornier tras la realización de la histeroscopia.

Así mismo, se ofreció la posibilidad de realizar un test transcriptómico para estudiar la receptividad endometrial y el análisis de la presencia de microorganismos en la muestra endometrial mediante NGS. Estos tests se realizaron en el grupo de pacientes que lo solicitaron.

### **Consentimiento informado y hoja de información**

Todas las pacientes leyeron y firmaron el consentimiento informado y hoja de información sobre el estudio previo a la realización de las pruebas.

### **Histeroscopia diagnóstica**

Las histeroscopias se realizaron en consulta, empleando un histeroscopio diagnóstico Bettochi® (©Karl Storz) de 4,3mm o un histeroscopio diagnóstico ©Richard Wolf de 3mm. Todas las histeroscopias se realizaron en segunda fase de ciclo (entre el día 15º y el día 25º del ciclo).

Para asegurar las condiciones de asepsia, se colocó un espéculo vaginal a todas las pacientes para localizar y acceder al cuello uterino, evitando así el contacto del histeroscopio con la vagina.

Se consideraron signos sugestivos de EC la presencia de los siguientes patrones:

- Micropólipos.
- Endometrio polipoide.
- Edema estromal en segunda fase temprana o periovulatorio.
- Hiperemia focal o difusa.

### **Toma de muestras**

Al finalizar la histeroscopia se llevó a cabo la toma de la muestra endometrial para el estudio anatomopatológico, el cultivo microbiológico y en algunas pacientes, una tercera muestra para la realización del estudio molecular.

Para ello se colocó un espéculo que permitía localizar el cérvix en el fondo de la vagina, se desinfectó la vagina y el exocérnix con clorhexidina diluida y se procedió a la toma de las muestras endometriales con una cánula de Cornier.

Las muestras fueron enviadas al laboratorio de anatomía patológica y de microbiología de cada centro hospitalario participante. La tercera muestra, en caso de haberla, se envió al laboratorio de estudio genético Igenomix para la realización del test de diagnóstico de EC por NGS.

- Estudio anatomopatológico con IHQ CD138

El objetivo del estudio anatomopatológico de la muestra endometrial es la identificación de células plasmáticas en la misma. A día de hoy, la detección de células plasmáticas en una muestra endometrial se considera el patrón oro para el diagnóstico de EC.

Se realizó la tinción inmunohistoquímica para identificar células CD138 positivas empleando el anticuerpo monoclonal B-A38 siguiendo las recomendaciones del fabricante. Las preparaciones fueron cortadas a 3 micras y fueron procesadas en Ventana BenchMark ULTRA (Ventana Medical Systems, Roche Diagnostics Tucson,AZ). En cada preparación se empleó amígdala como control de calidad de la técnica.

Se realizó el conteo de células plasmáticas en toda la muestra endometrial mediante IHQ CD138 positiva identificadas en el microscopio a 400x.

- Cultivo microbiológico

El objetivo del cultivo es la identificación de microorganismos en el endometrio. En aquellos casos en los que se produce el crecimiento de algún microorganismo patógeno en una muestra endometrial se realiza el antibiograma para evaluar qué antibiótico es el más indicado para tratar la bacteria presente en el endometrio.

Las muestras endometriales fueron recogidas por aspiración mediante una cánula de Cornier, vía transcervical. Se introdujeron en un contenedor estéril y fueron entregadas en el laboratorio en los primeros 15-30 minutos desde su recogida a temperatura ambiente.

El procesamiento de la muestra se llevó a cabo dentro de la primera hora desde su recepción. Se realizó la siembra de la muestra endometrial en medio agar sangre de cordero, agar chocolate y caldo de Thiglicollate para seleccionar microorganismos que no forman parte de la microbiota habitual. También se realizó una tinción de GRAM con el fin de reconocer distintos microorganismos y evaluar la cantidad de PMN por campo.

Las muestras se incubaron en estufa a 35-37°C, en atmosfera aeróbica y anaeróbica durante 5 días. Durante ese periodo de tiempo se realizaron pases del caldo Thio-T a agar sangre para recuperar microorganismos patógenos.

En caso de crecimiento de patógenos se realiza identificación y antibiograma mediante VITEK 2 Compact, que es un sistema totalmente automatizado que garantiza la excelencia en la identificación microbiana de rutina. Dado que el sistema funciona con tarjetas con códigos de barras, se garantiza una trazabilidad completa y se minimiza el riesgo de errores de transcripción.

- Estudio molecular por NGS

Las pruebas moleculares permiten detectar la presencia de microorganismos en las muestras endometriales mediante la identificación del material genético de diferentes bacterias gracias a técnicas de secuenciación masiva. Disponemos de dos test moleculares:

- Test ALICE: analiza la presencia de las 9 bacterias que se han descrito como los principales patógenos causantes de EC: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Enterobacteria (Escherichia, Klebsiella)*, *Chlamydia* y *Neisseria*
- Test EMMA: estudia la microbiota endometrial mediante el análisis de los genes bacterianos (microbioma) presentes en una muestra de endometrio. Informa sobre la proporción de bacterias que componen una muestra endometrial y si existe un desequilibrio (disbiosis) en la distribución de la población bacteriana.

En el momento del análisis de las muestras endometriales ninguno de los especialistas responsables de informarlas conocía el resultado de las otras pruebas realizadas.

**Diagnóstico de endometritis crónica**

Se consideró diagnóstico de EC cualquiera de los siguientes hallazgos:

- La presencia de 5 ó más células plasmáticas en toda la muestra endometrial evidenciadas mediante IHQ CD138+ en un campo de 400x.
- La presencia de un microorganismo patógeno en el cultivo endometrial.
- La presencia signos sugestivos de EC en la histeroscopia.
- La identificación de microorganismos en el estudio molecular por NGS.

Criterios diagnósticos anatomopatológicos

En nuestra unidad, tras realizar una revisión bibliográfica, se decidió en conjunto con los patólogos establecer como criterio diagnóstico histológico la presencia de 5 células plasmáticas en toda la muestra. El hecho de estudiar toda la muestra parece que tiene un excelente grado de acuerdo inter e intra observador lo que permite reducir sesgos (73). Además, las células plasmáticas en los casos de EC suelen aparecer agrupadas, por ello seleccionando al azar un determinado número de campos es posible que no detectemos algunos de estos acúmulos.

El punto de corte se estableció en la identificación de 5 células plasmáticas para evitar sobre diagnosticar, dado que algunos estudios demuestran que se puede encontrar un número reducido de células plasmáticas en el endometrio de pacientes sanas y fértiles (57,66,73).

## **Antibioterapia**

En los casos en los que se obtuvo un cultivo endometrial positivo la paciente fue tratada con el antibiótico específico dirigido según el antibiograma hacia el patógeno concreto.

En los casos en los que se determinó la presencia del microorganismo por NGS y el cultivo no resultó positivo, no se disponía de antibiograma, pero el resultado del test molecular venía acompañado de una pauta antibiótica recomendada, que fue la que se administró.

En los casos en los que la paciente presentó diagnóstico histológico o histeroscópico de EC, pero el cultivo endometrial y el diagnóstico por NGS fueron negativos, se administró de forma empírica: Doxiciclina 100mg cada 12h durante 14 días, siguiendo las recomendaciones establecidas en la literatura. (36,82)

En pacientes con persistencia de EC tras haber completado el ciclo de tratamiento antibiótico se repitieron nuevas pautas. En casos de cultivo positivo o identificación de microorganismo por NGS se siguieron las recomendaciones del antibiograma o del informe del resultado molecular, respectivamente. Las pacientes que habían recibido la pauta empírica por falta de identificación del microorganismo fueron tratadas con Ciprofloxacino 500mg/12h + Metronidazol 500mg/12h durante 10 días en caso de persistencia de signos histeroscópicos o células plasmáticas en el control endometrial. (82)

## **Control post tratamiento**

Entre 10-15 días después de haber completado el tratamiento antibiótico, coincidiendo de nuevo con la segunda fase del ciclo menstrual, se realizó un nuevo control para determinar si se había resuelto o no el cuadro de endometritis.

El control se realizó en base a la prueba que había resultado positiva en el primer examen. De modo, que en las pacientes que presentaron alteraciones en la histeroscopia se repitió la histeroscopia. Mientras que, en pacientes con cultivo positivo, diagnóstico anatomopatológico o diagnóstico molecular de EC, se tomó una muestra endometrial con una cánula de Cornier para un nuevo cultivo, estudio inmunohistoquímico o estudio molecular. Si las cuatro pruebas resultaron positivas en el inicio todas ellas fueron repetidas para el control.

Se consideró éxito del tratamiento aquellos casos en los que se detectó la ausencia ó  $\leq 2$  células plasmáticas por campo de 400x, la desaparición de signos sugestivos de EC en la histeroscopia y la negativización del cultivo endometrial o del test molecular.

En las pacientes que persistían signos de EC se administraron nuevas pautas antibióticas y se repitieron los controles las veces que fue necesario hasta lograr la resolución.

## Cultivo vaginal

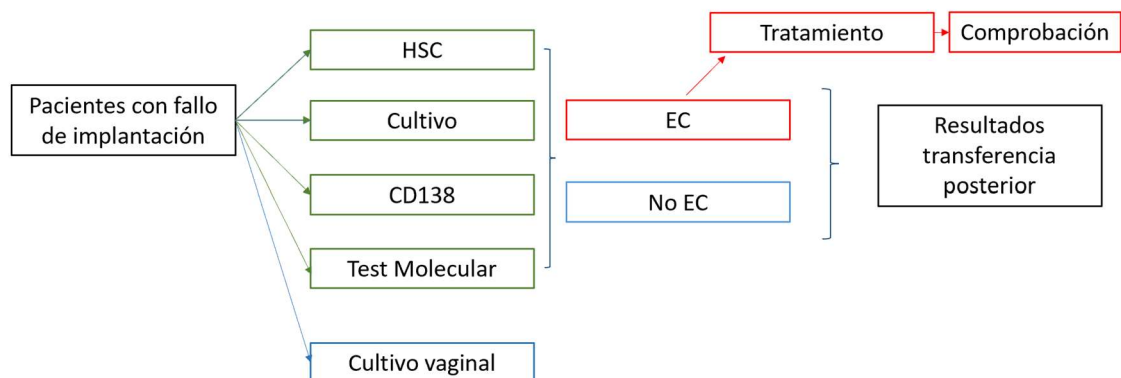
Desde marzo de 2021 se añadió el cultivo de una muestra vaginal para descartar posibles contaminaciones de origen vaginal sobre las muestras endometriales. Esta muestra se tomó previamente a la desinfección vaginal con clorhexidina diluida.

La recogida de la muestra se llevó a cabo mediante una torunda de algodón y se introdujo en un tubo estéril con medio de transporte para anaerobios. Las muestras se entregaron en el laboratorio en los primeros 15-30 minutos desde su recogida a temperatura ambiente y fueron procesadas dentro de las primeras 8 horas.

Se realizó la siembra del exudado vaginal en medio agar sangre de cordero, agar chocolate y agar can (medio cromatográfico para identificación de levaduras) para seleccionar microorganismos que no forman parte de la microbiota habitual. Las muestras se incubaron en estufa a 35-37°C, en atmosfera aeróbica durante 4 días. También se realizó una tinción de GRAM con el fin de reconocer distintos microorganismos y evaluar la cantidad de PMN por campo y se realizó un examen microscópico en fresco con el fin de descartar *Trichomonas vaginalis*

## Transferencia embrionaria tras resolución de EC

Tras la comprobación de la ausencia de EC se procedió a programar y realizar la transferencia embrionaria en las pacientes que así lo desearon. (Algoritmo 1)



Algoritmo 1. Protocolo de estudio.

#### 4. VARIABLES

##### **Variables principales**

Se recogieron los hallazgos histeroscópicos:

- Signos de EC:
  - Micropólipos.
  - Edema estromal.
  - Hiperemia focal.
  - Hiperemia difusa.
- Malformaciones uterinas congénitas.
- Pólipos.
- Miomas.
- Adherencias.
- Día del ciclo en que se realizó la histeroscopia.
- Complicaciones en caso de haberlas.

Se recopilaron los resultados del estudio histopatológico de la muestra endometrial:

- Diagnóstico anatomopatológico
- Número de células plasmáticas detectadas mediante IHQ CD138+

También se recogieron los resultados del cultivo endometrial y del test molecular, así como, la pauta antibiótica empleada en los casos de diagnóstico de EC.

En los casos positivos para EC, al repetir la prueba tras el tratamiento se recogieron las mismas variables.

##### **Variables secundarias**

Se recopilaron datos clínicos sobre las pacientes

- Edad
- Talla
- Peso
- Índice de masa corporal (IMC)
- Raza
- Grupo sanguíneo
- Enfermedades y tratamientos concomitantes
- Antecedentes familiares
- Edad de la menarquía
- Fórmula obstétrica
- Legrados previos
- Antecedente de corioamnionitis
- Consumo de tabaco y alcohol

También se recogió el consumo previo de antibióticos o probióticos en el último mes.

Y por último los datos referentes al ciclo o ciclos previos y el ciclo posterior del tratamiento de reproducción asistida:

- AMH
- Recuento de folículos antrales (RFA)
- Número de transferencias embrionarias previas a estudio EC
- Características de transferencias embrionarias previas y posterior al estudio EC
  - Número de embriones transferidos
  - Calidad embrionaria según clasificación ASEBIR (94)
  - Día de transferencia
  - Congelado o en fresco
  - Tipo de preparación endometrial: ciclo natural, sustituido o estimulado
  - Ovocitos propios o donados
  - PGT-A
  - Tiempo desde estudio negativo para EC
  - Resultado

#### **Definición y descripción de las variables recogidas**

- Edad: medida en años completos, cumplidos desde la fecha de nacimiento.
- Nivel sérico de AMH: concentración sérica de AMH en cualquier momento del ciclo (unidades expresadas en ng/mL).
- RFA: suma del total de folículos entre 2 y 10 mm, en ambos ovarios, mediante ecografía transvaginal.
- Peso: medido en kilogramos.
- Talla: medida en metros.
- IMC: medido en kilogramo por metro cuadrado.
- Día del ciclo en el que se realiza la histeroscopia: determinado por la diferencia entre la fecha en que se realiza la histeroscopia y la fecha de la última regla de la paciente.
- Hallazgos histeroscópicos:
  - Micropólipos: excrecencias endometriales <1mm con un vaso central.
  - Hiperemia difusa: enrojecimiento endometrial.
  - Edema estromal: endometrio de aspecto pálido en primera fase.
  - Hiperemia focal: pequeñas áreas de enrojecimiento parcheadas distribuidas por el endometrio.
- Número de células plasmáticas identificadas mediante estudio IHQ CD138 observadas en toda la muestra endometrial a 400x.
- Microorganismos identificados en cultivo de la muestra endometrial.
- Microorganismos identificados mediante estudio molecular.
- Número de ciclos de antibiótico hasta resolución del cuadro de EC.

- Pautas de antibiótico empíricas administrada:
  - Primera línea: Doxiciclina 100mg/12h durante 14 días
  - Segunda línea si persistencia de EC: Ciprofloxacino 500mg/12h + Metronidazol 500mg/12h durante 10 días.
- Pautas de antibiótico administradas según antibiograma:
  - Amoxicilina-clavulánico 500/125/8h durante 10 días
  - Ampicilina 500/8h durante 7 días
  - Ciprofloxacino 500/12h durante 10 días
  - Clindamicina 450/6h durante 10 días
  - Eritromicina 500/8h durante 7 días
  - Levofloxacino 500/12h durante 10 días
  - Metronidazol 500/12h durante 7 días

#### Ciclos previos y posterior al estudio de EC:

- Número de embriones transferidos en día +2, +3 o blastocistos en día +5, +6: recuento de embriones que son transferidos en ciclo en fresco o tras ser descongelados.
- Calidad de los embriones transferidos de acuerdo con la clasificación de la Asociación Española para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR). Embriones de calidad A o B son los considerados de buena calidad. (94)
- Grosor endometrial el día de la transferencia embrionaria: espesor en milímetros de la doble banda endometrial delimitada por la zona de transición endo-miometrial, medida a 1 cm del fondo uterino.
- Preparación endometrial:
  - Ciclo natural modificado: crecimiento endometrial en el contexto del desarrollo folicular espontáneo de la paciente. Administración de HCG para desencadenar ovulación en el momento en el que se observa ecográficamente un folículo >17mm, un endometrio de aspecto trilaminar >7mm y progesterona sérica < 1ng/ml. Suplementación posterior con 200mcg de progesterona cada 12 horas.
  - Ciclo sustituido: preparación endometrial mediante la administración de 2mg de estradiol cada 8h desde el primer día del ciclo. Suplementación con progesterona desde los 5 días previos a la transferencia tras comprobar ecográficamente que el endometrio alcanza un grosor >7mm.
  - Ciclo estimulado: preparación endometrial mediante la administración de dosis bajas de gonadotropinas para estimular el desarrollo folicular y, como consecuencia endometrial. Administración de HCG para desencadenar ovulación en el momento

en el que se observa ecográficamente un folículo >17mm, un endometrio de aspecto trilaminar >7mm y progesterona sérica < 1ng/ml.

- Tiempo desde estudio negativo para EC: tiempo medido en días desde la fecha de obtención de resultado negativo para todas las pruebas dirigidas al diagnóstico de EC y la fecha de la transferencia posterior.
- Resultados de las transferencias:
  - o No implantación:  $\beta$ HCG negativa (<5 mUI/ml)
  - o Aborto bioquímico:  $\beta$ HCG positiva (>5 mUI/ml) que negativiza antes de llegar a ver saco gestacional en ecografía
  - o Implantación:  $\beta$ HCG positiva (>5 mUI/ml)
  - o Gestación clínica: saco gestacional intrauterino observado por ecografía transvaginal
  - o Gestación evolutiva: feto que presenta latido cardiaco positivo en la semana 20 de gestación.
  - o Recién nacido vivo: recién nacido vivo de más de 24 semanas.
  - o Aborto clínico: pérdida espontánea de la gestación después de haber objetivado embrión con latido cardiaco por ecografía vaginal.
- Tasa de implantación: numero de pacientes con  $\beta$ HCG positiva dividido entre el total de pacientes que ha realizado transferencia embrionaria multiplicado por 100.
- Tasa de gestación clínica: número de pacientes a las que se objetiva saco gestacional intrauterino en ecografía transvaginal dividido entre el total de pacientes que se ha realizado transferencia embrionaria multiplicado por 100.
- Tasa de gestación evolutiva: número de pacientes en las que se objetiva feto con latido cardiaco positivo en la semana 20 de gestación dividido entre el total de pacientes que se ha realizado transferencia embrionaria multiplicado por 100.
- Tasa de aborto bioquímico: número de pacientes con  $\beta$ HCG positiva menos número de pacientes en las que se objetiva saco gestacional intrauterino en ecografía dividido entre el número de pacientes con  $\beta$ HCG positiva, multiplicado por 100.
- Tasa de aborto clínico: número de pacientes con saco gestacional intrauterino objetivado por ecografía transvaginal menos número de pacientes en las que se observa feto con latido cardiaco positivo en la semana 20, dividido entre el numero de pacientes con saco gestacional intrauterino, multiplicado por 100.

## 5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### **Registro de datos**

Los datos se han recopilado desde la primera consulta. Se han incluido todos los datos demográficos y variables clínicas requeridas.

Todas las muestras fueron codificadas.

Los datos se tabularon en una base de datos principal con el programa Microsoft Excel 365 (Microsoft® Excel® para Microsoft 365 MSO).

### **Inicio de la observación**

La observación para cada paciente comenzó desde el momento de la realización de la histeroscopia.

### **Finalización de la observación**

El periodo de observación finalizó tras registrar el resultado de la transferencia de embriones posterior al estudio de EC de la última paciente recogida en el estudio.

### **Cálculo del tamaño muestral**

El tamaño muestral necesario fue de 102 pacientes para estimar el coeficiente de acuerdo entre las pruebas, asumiendo que el coeficiente de concordancia Kappa esperado entre las pruebas es de 0,85 con proporción de clasificaciones positivas por cualquiera de las pruebas igual al 14% (82) y precisión de 0.15 al 95% de confianza.

### **Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 25.0 (IBM Corp. Released 2008. IBM SPSS Statistics for Windows, version 25.0 Armonk, NY: IBM Corp).

#### Estadística descriptiva

El estudio de las variables cuantitativas se expresa mediante el número de sujetos, la media (desviación típica), mediana, mínimo y máximo.

Para el estudio de las variables categóricas se presentan porcentajes y distribuciones de frecuencia.

#### Estadística analítica

##### - VALIDEZ Y FIABILIDAD DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

Se calculó la sensibilidad (S), especificidad (E) y valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN) para la histeroscopia, el cultivo y el estudio molecular. Asimismo, se analizó la fiabilidad de las pruebas diagnósticas evaluando el grado de acuerdo entre las mismas calculando el índice  $\kappa$ . Para valorar el índice de Kappa se aplicó la escala de Landis y Koch (95) que en función de los valores de  $\kappa$  obtenidos, definen el grado de acuerdo como se puede ver en la tabla 5.

Muy bajo	<0,20
Bajo	0,20-0,40
Moderado	0,40-0,60
Bueno	0,60-0,80
Excelente	>0,80

Tabla 5. Definición del grado de acuerdo entre dos técnicas diagnósticas según la escala de Landis y Koch. (95)

- ANÁLISIS DE GRUPOS APAREADOS

Se realizó un análisis de grupos apareados, comparando las tasas de implantación, gestación clínica y gestación evolutiva previas y posteriores al diagnóstico, tratamiento y curación de EC.

Para ello se emplearon dos pruebas estadísticas, la prueba de simetría exacta de McNemar y la prueba de simetría relativa.

La prueba de simetría exacta de McNemar sólo tiene en cuenta los casos que cambian el resultado de las transferencias previas con respecto a la posterior al despistaje de EC, sin analizar los casos que obtienen el mismo resultado en ambas transferencias.

La prueba de simetría relativa compara las proporciones de cambio entre los resultados de las transferencias previas al estudio de la EC y los resultados de las transferencias posteriores, por lo que tiene en cuenta toda la muestra.

Para la comparación de medias se aplicó el test estadístico T de Student.

La significación estadística se estableció en  $p < 0,05$ .

## 6. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

Todas las pacientes recibieron una hoja informativa sobre el estudio y un consentimiento informado específico mediante el cual aceptaron o declinaron la participación en el estudio.

No se intervino con los principios éticos básicos de respeto a la vida ni se involucró la identificación de las personas relacionadas con el estudio.

En todo momento durante el estudio los datos fueron tratados y custodiados cumpliendo rigurosamente la vigente normativa de protección de datos. (Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD) relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de sus datos personales y a la libre circulación de estos datos y con la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales).

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación de HM Hospitales en octubre de 2019 y por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Ruber Internacional en noviembre de 2019.



# RESULTADOS



## 1. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

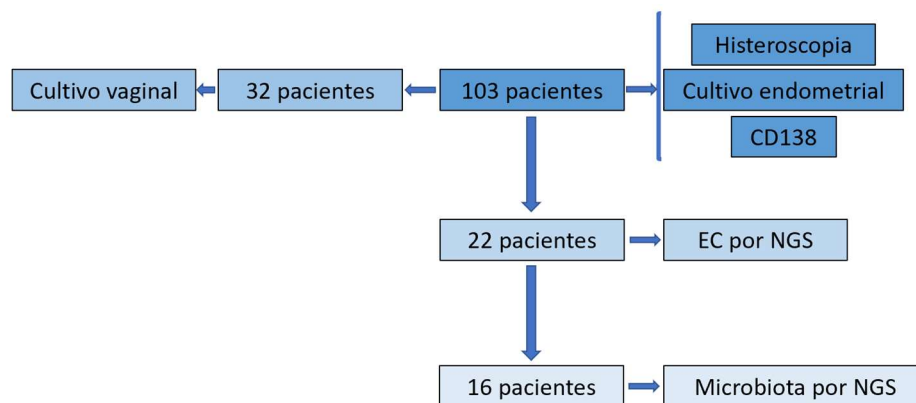
Se reclutaron 105 pacientes con FIR, 2 de ellas fueron excluidas tras la realización de la histeroscopia: una por presentar un pólipo endometrial que no había sido sospechado previamente en la ecografía y otra tras ser diagnosticada de útero dismórfico en forma de T. Ambas pacientes requirieron una cirugía previa a la transferencia embrionaria.

Finalmente, se incluyó un total de 103 pacientes con FIR que cumplían los criterios de inclusión y no presentaban ningún criterio de exclusión. En todas ellas se llevó a cabo una histeroscopia diagnóstica y la toma de dos muestras endometriales:

- Una para la detección de células plasmáticas en el estudio anatomopatológico con IHQ CD138.
- Otra para cultivo microbiológico.

Asimismo, a un grupo de 22 pacientes se les realizó el análisis de EC por NGS y a 16 de ellas también se les realizó el estudio de la microbiota endometrial por NGS.

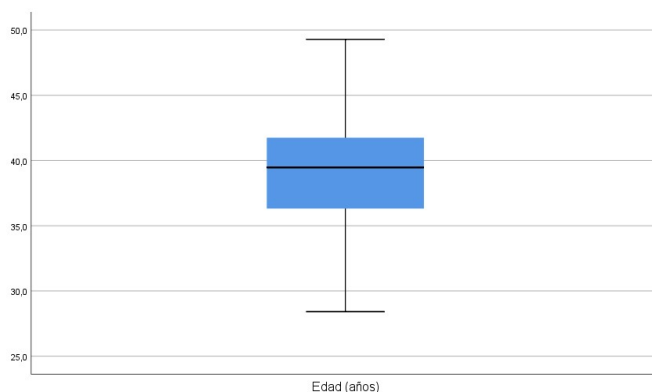
Además, a todas las pacientes (32) reclutadas en el estudio desde marzo de 2021 se les realizó un cultivo vaginal para descartar contaminación de la muestra endometrial. (Algoritmo 2)



Algoritmo 2. Pacientes que participaron en el estudio y pruebas diagnósticas realizadas.

### Edad

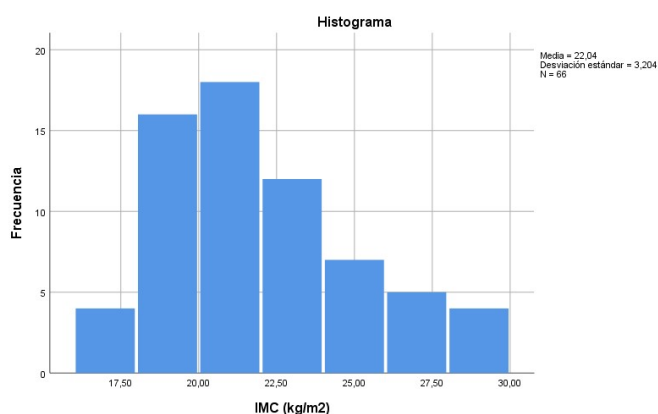
La edad media de las pacientes fue de 38,99 (4,32) años. (Gráfica 1)



Gráfica 1. Edad de las pacientes

## Índice de masa corporal

La media del IMC fue de 22,04 (3,20) kg/m<sup>2</sup>. (Gráfica 2)



Gráfica 2. Índice de masa corporal

## Antecedentes personales

Se recogieron de la historia clínica de las pacientes todos los antecedentes que pudieran haber influido sobre el resultado de las transferencias embrionarias previas o sobre el desarrollo de EC. (Tabla 6)

Antecedentes	N	%
Sin antecedentes de interés	61	59,2%
Cirugías abdomino-pélvicas no ginecológicas (apendicectomía, colecistectomía o peritonitis)	7	6,8%
Cirugía ginecológica (salpinguectomía, cirugía de endometriosis, anexectomía)	8	7,8%
Histeroscopia quirúrgica (miomectomía, metroplastia por Útero en T o septo) / Conizaciones	13	12,7%
Endometriosis	5	4,8%
Coagulopatías (déficit factor XI, Factor V Leyden, déficit proteína S, mutación homocigota gen de la protrombina, mutación MTHFR en homocigosis o síndrome antifosfolípido) o alteraciones inmunológicas	11	10,8%
Consumo de antibióticos, probióticos o DIU en el mes previo	0	0
Tabaco	12	11,65%
Alcohol ocasional	34	33%

Tabla 6. Antecedentes personales

Dentro de las 5 pacientes que padecían endometriosis, 2 de ellas habían sido intervenidas quirúrgicamente y las otras 3 pacientes cumplían criterios clínicos y ecográficos de endometriosis entre mínima y moderada.

Todas las pacientes (11) que presentaban coagulopatías o alteraciones inmunológicas incluidas en el estudio habían recibido tratamiento con Ácido acetilsalicílico a bajas dosis y/o heparina BMP y/o inmunomoduladores en los ciclos de transferencias previas.

### Reserva ovárica

Las pacientes incluidas en el estudio presentaban una AMH media de 2,21 (1,65)ng/ml.

La media del RFA fue de 11,14 (5,5) folículos.

### Fallo de implantación

La media de transferencias consecutivas con resultado negativo previas al estudio de EC fue de 2,94 (1,35) transferencias.

En todas las transferencias se habían transferido embriones de calidad A o B según la clasificación de ASEBIR. (94)

Todas las pacientes mayores de 40 años recibieron transferencias de embriones con PGT-A euploide o de ovocitos donados de pacientes menores de 35 años.

En los ciclos previos al diagnóstico y tratamiento de la EC encontramos una tasa de implantación del 15,5% (16/103), un 3,9% (4/103) de gestación clínica y ninguna gestación evolutiva. (Tabla 7)

En la tabla 8 encontramos las características de las transferencias previas al estudio de EC.

Pre diagnóstico EC	
<b>N</b>	103
<b>Implantación</b>	15,5% (16)
<b>Gestación clínica</b>	3,9% (4)
<b>Gestación evolutiva</b>	0

Tabla 7. Tasas de implantación, gestación clínica y gestación evolutiva en las transferencias previas al estudio y tratamiento de EC.

Transf. previas	
<b>N</b>	103
<b>PGT-A Euploide</b>	45,6% (47)
<b>Ovodonación</b>	28,1% (29)
<b>Grosor endometrial (media en mm)</b>	9,07± 1,33
<b>Nº embriones</b>	1,08 ± 0,33

Tabla 8. Características de las transferencias previas al estudio y tratamiento de EC.

## 2. DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS CRÓNICA

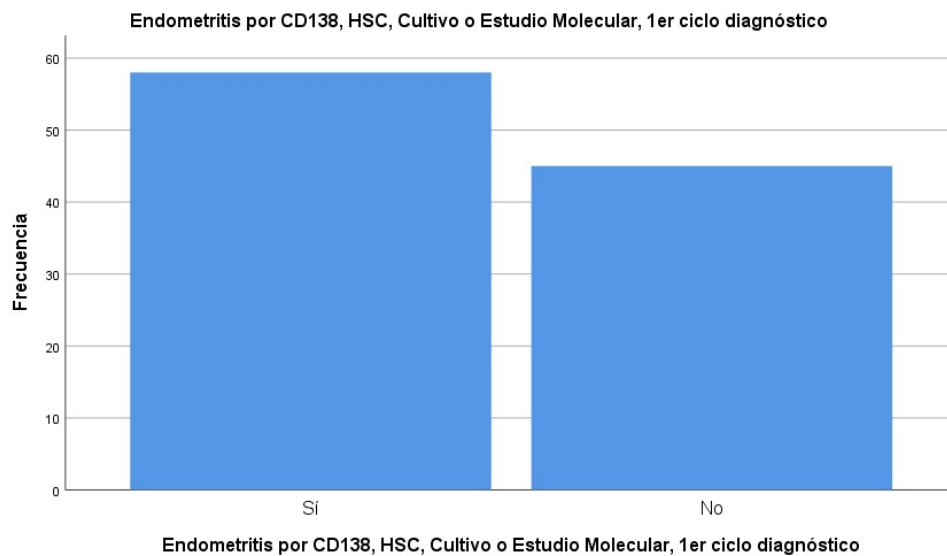
Todas las pruebas diagnósticas se realizaron entre el día 15 y el 25 del ciclo.

La media del día del ciclo fue el día 17,51(2,83).

El 79,6% de las pacientes en el momento del estudio se encontraba en ciclo natural y el 20,4% restante en ciclo sustituido.

La media del grosor endometrial en el momento del estudio fue de 8,55 (1,29)mm.

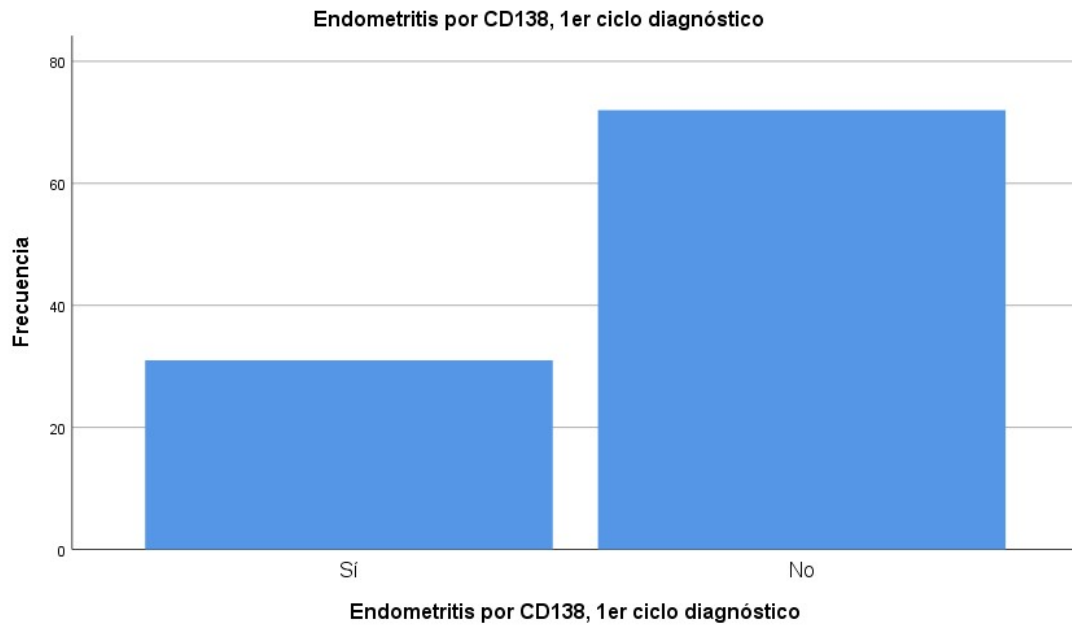
Teniendo en cuenta los resultados de todas las pruebas diagnósticas el 56,3% (58/103) de las pacientes fueron diagnosticadas de EC. (Gráfica 3)



Gráfica 3. Diagnóstico de EC positivo en al menos una de las pruebas diagnósticas.

### Inmunohistoquímica CD138

El 30,1% (31/103) de las pacientes fueron diagnosticadas de EC según criterios histológicos, por la presencia de 5 o más células plasmáticas en la muestra endometrial identificadas mediante IHQ CD138. (Gráfica 4)



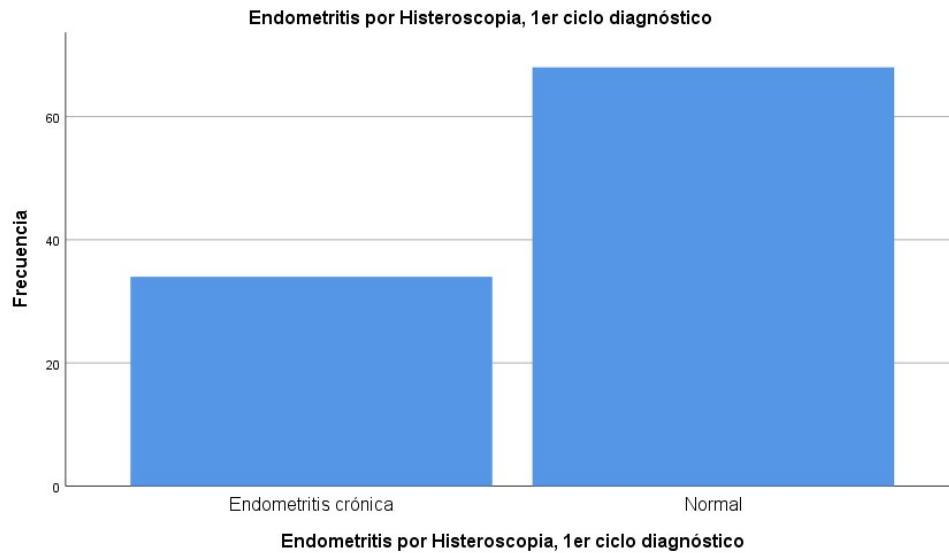
Gráfica 4. Resultados identificación células plasmáticas en endometrio mediante IHQ CD138.

## Histeroscopia

El 33% (34/103) de las pacientes presentaron signos de EC en el estudio histeroscópico.

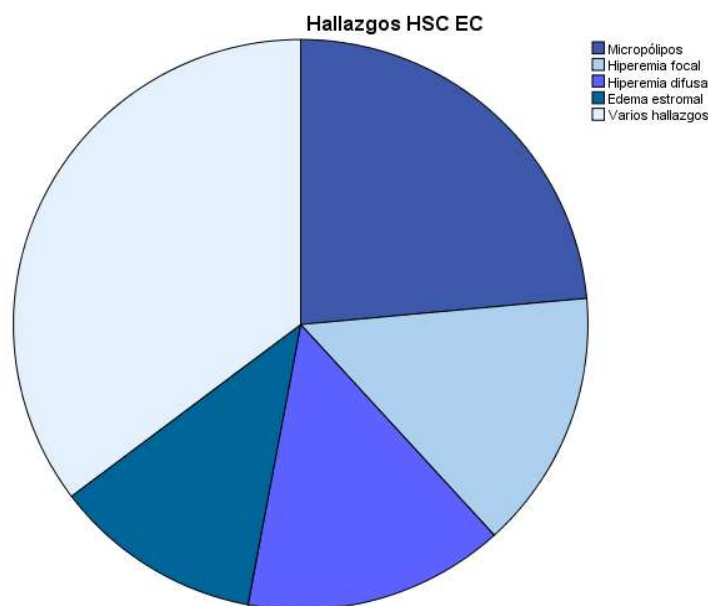
Una histeroscopia resultó no valorable por sangrado.

El 66% (68/103) restante obtuvo un resultado normal en la histeroscopia. (Gráfica 5)



Gráfica 5. Resultados de las histeroscopias.

Dentro de las pacientes diagnosticadas de EC por histeroscopia el 23,5% (8/34) presentaba micropólipos, el 14,7% (5/34) hiperemia difusa, el 14,7% (5/34) de ellas reflejaba hiperemia focal, el 11,8% (4/34) edema estromal y el 35,3% (12/34) varios hallazgos, que en todos los casos incluían también micropólipos. (Gráfica 6)



Gráfica 6. Hallazgos histeroscópicos.

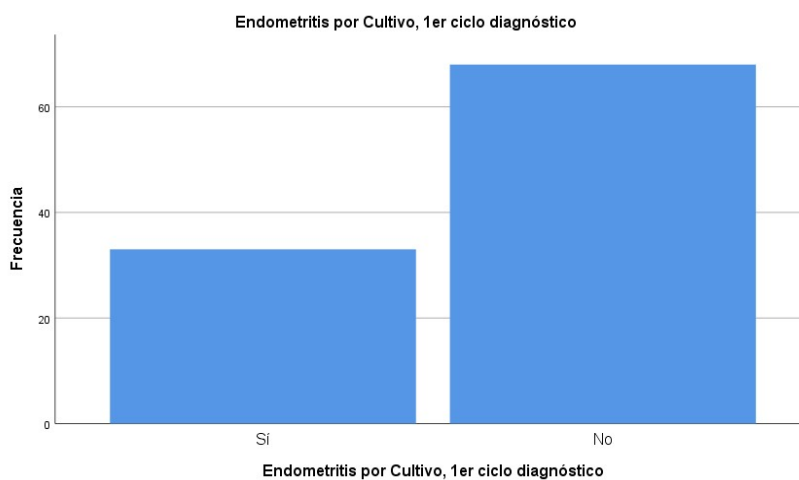
## Cultivo endometrial

El 37,8% (39/103) de los cultivos resultó positivo. (Gráfica 7)

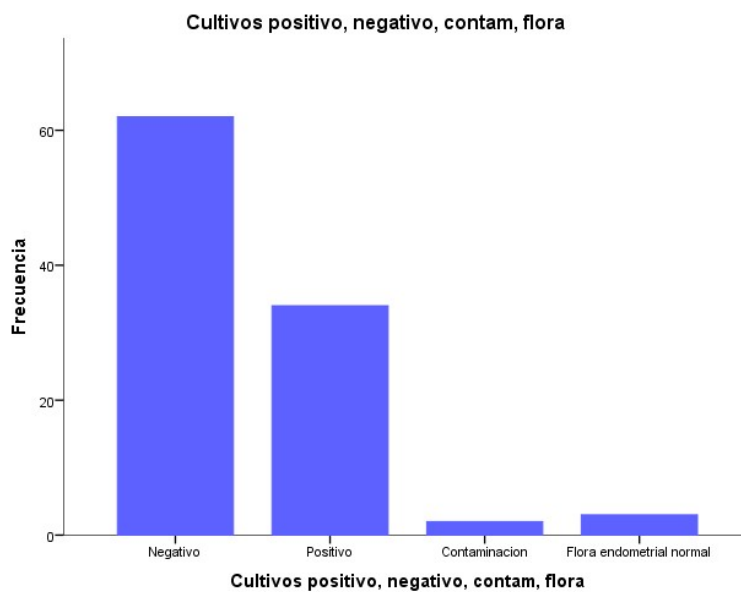
En 2 casos creció *Staphylococcus epidermidis*, cuya presencia se considera contaminación de la muestra. Lo que implica una tasa del 1,9% de contaminación en la toma de la muestra.

En 4 pacientes, 10,2% de los cultivos positivos, el resultado fue positivo para *Lactobacillus gasseri*, que forma parte de la microbiota normal sana del endometrio, por lo tanto, su detección no es diagnóstica de EC.

Por lo tanto, en base al resultado de los cultivos microbiológicos se obtuvo un 32,03% (33/103) de muestras positivas para EC. (Gráfica 8)

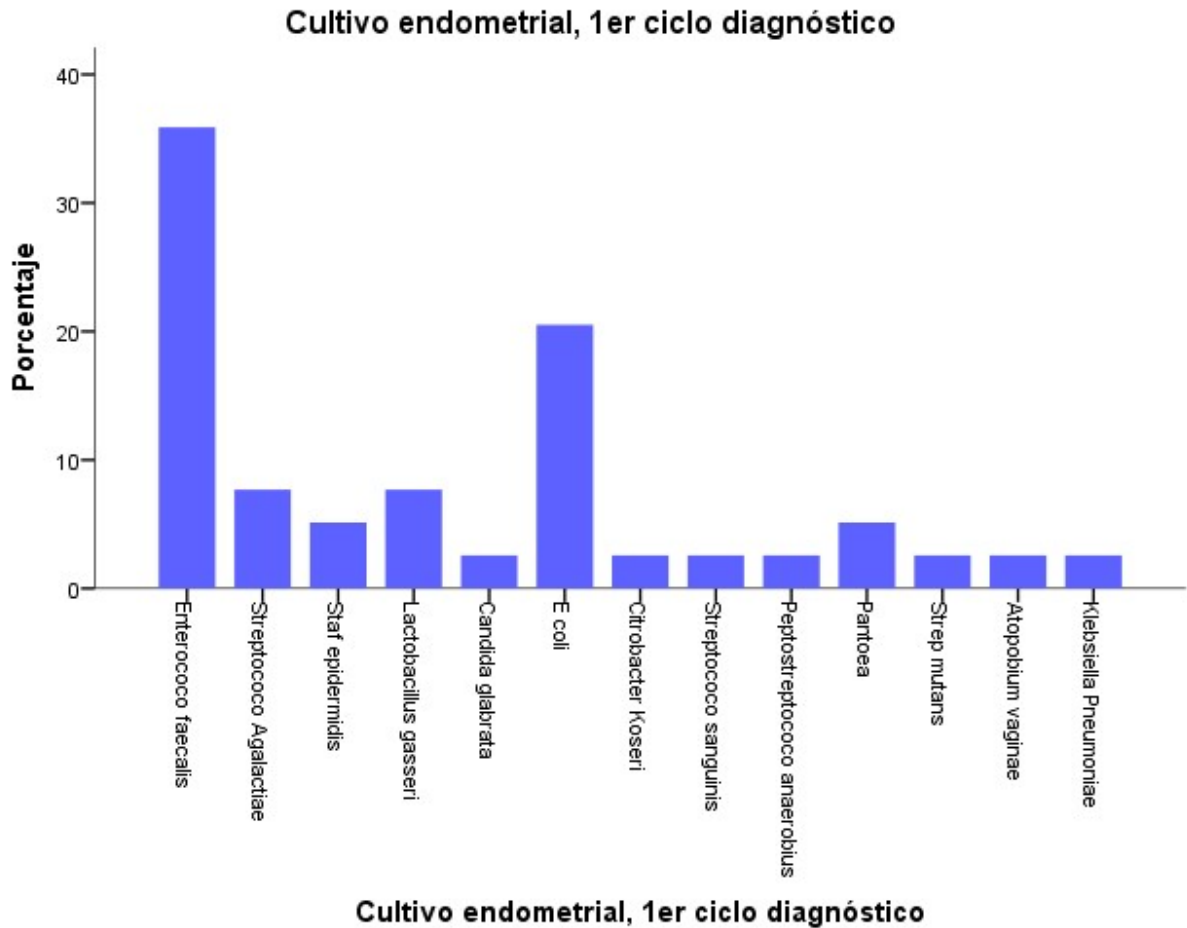


Gráfica 7. Resultados del cultivo endometrial.



Gráfica 8. Diagnóstico de EC según cultivo endometrial.

La bacteria causante de EC más frecuente en nuestra cohorte fue el *Enterococcus Faecalis* constituyendo un 35,9% (14/39) de los cultivos positivos. Seguida por *Escherichia Coli*, que supuso un 20,5% (8/39) de los cultivos positivos. La siguiente bacteria causante de EC en frecuencia, 7,7% (3/39), fue el *Streptococco Agalactiae*. (Gráfica 9)



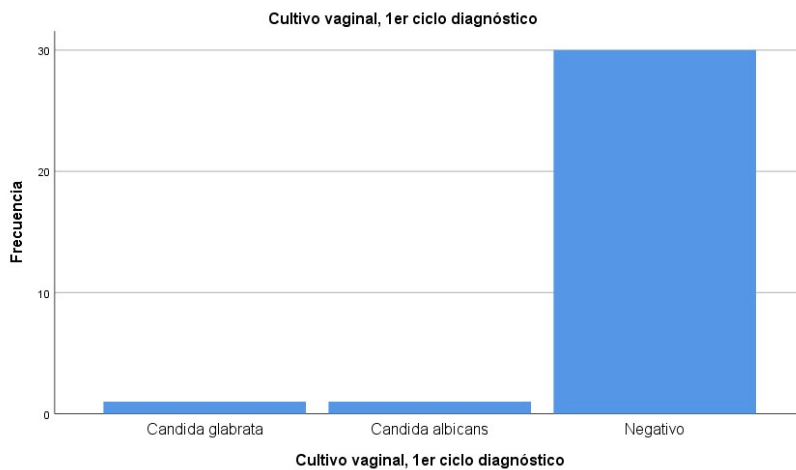
Gráfica 9. Distribución de la frecuencia microorganismos en cultivos positivos

## Cultivo vaginal

A partir de marzo de 2021 se incluyó en el protocolo de estudio la realización de un cultivo vaginal, con el objetivo de descartar contaminación de las muestras endometriales por microorganismos de origen vaginal.

Este grupo estaba formado 32 pacientes.

El 93,75% (30/32) de los cultivos vaginales resultaron negativos. Una paciente presentó *Candida glabrata* y una paciente *Candida albicans*. En ninguno de los casos el microorganismo aislado en vagina coincidía con el aislado en endometrio. (Gráfica 10)

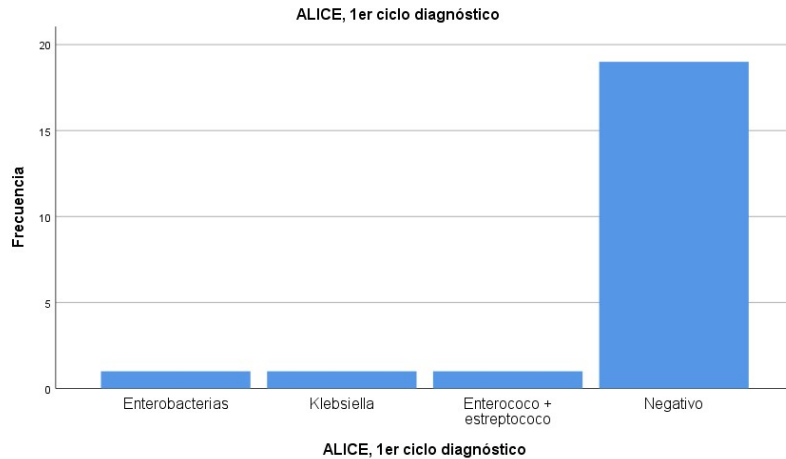


Gráfica 10. Resultados de los cultivos vaginales.

### Análisis de endometritis crónica por NGS (test ALICE)

En este grupo se incluyeron 22 pacientes.

El 86,36% (19/22) obtuvieron resultado negativo para EC. (Gráfica 11)



Gráfica 11. Resultados del test ALICE.

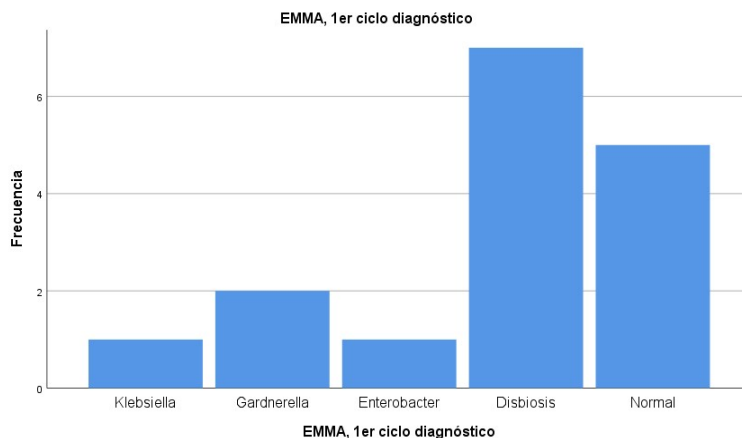
### Análisis de la microbiota endometrial por NGS (test EMMA)

En este grupo se incluyeron 16 pacientes.

El 43,8% (7/16) presentaron disbiosis, entendiendo como tal una disminución en la proporción de *Lactobacillus spp.* deseable. En estas pacientes el tratamiento que se realizó consistió en la suplementación con probióticos por vía vaginal y no se requería muestra de control para comprobar la mejoría. No se consideró diagnóstico de EC.

El 31,3% (5/16) de las pacientes presentó un resultado normal.

El 25% (4/16) fueron diagnosticadas de EC por la presencia de una proporción aumentada de Enterobacterias, Gardnerella o Klebsiella. (Gráfica 12)



Gráfica 12. Resultados del test EMMA.

### 3. VALIDEZ Y FIABILIDAD DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

Se calculó la S, E, VPP y VPN para la histeroscopia, el cultivo y el estudio molecular tomando como referencia el estudio histológico, que a día de hoy sigue siendo el patrón oro para el diagnóstico de EC. (Tabla 9)

Asimismo, se analizó la fiabilidad de las pruebas diagnósticas evaluando el grado de acuerdo entre las mismas calculando el índice  $\kappa$  (tabla 10).

	S	E	VPP	VPN
Histeroscopia	67,7%	81,7%	61,8%	85,3%
Cultivo	51,7%	75%	45,5%	79,4%
NGS	75%	72,2%	37,5%	92,8%

Tabla 9. Validez de la histeroscopia, el cultivo y el NGS para el diagnóstico de EC

	$\kappa$	Grado de acuerdo	p	Tasa de acuerdo global	IC95%
HSC-CD138	0,481	Moderado	<0,05	77,45%	68,43%-84,48%
HSC-Cultivo	0,294	Bajo	<0,05	69%	59,37%-77,22%
Cultivo-CD138	0,257	Bajo	<0,05	68,32%	58,71%-76,58%
Cultivo- NGS	0,61	Bueno	0,014	81,82%	61,48%-92,69%
NGS- CD138	0,34	Bajo	0,076	72,73%	51,58%-86,58%
NGS-HSC	0,43	Moderado	0,014	76,27%	56,56%-89,88%
HSC-Cultivo-CD138				57,28%	
HSC- Cultivo-CD138- NGS				54,54%	

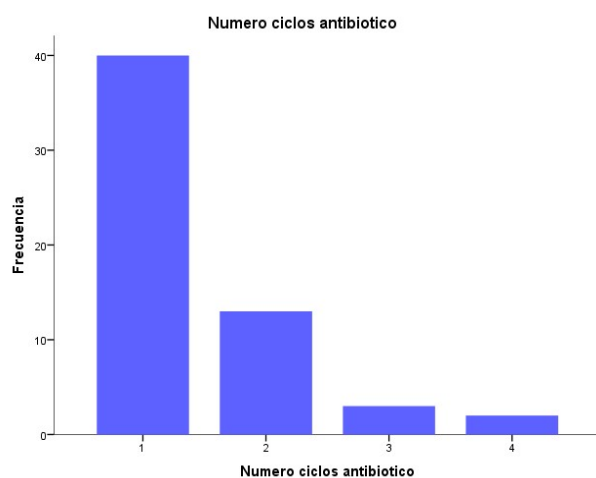
Tabla 10. Fiabilidad de la histeroscopia: HSC, el cultivo, el CD138 y el NGS para el diagnóstico de EC.

#### 4. TRATAMIENTO DE ENDOMETRITIS CRÓNICA

Gracias al tratamiento antibiótico en todas las pacientes se logró la resolución del cuadro de EC diagnosticada mediante cualquiera de las pruebas diagnósticas anteriormente descritas (58).

En el 69% (40/58) de las pacientes con EC esta se resolvió tras completar el primer tratamiento antibiótico. Un 22,4% (13/58) requirió un segundo ciclo de antibiótico. En un 5,2% (3/58) fue necesario administrar un tercer antibiótico. Un 3,4% (2/58) logró la curación tras 4 ciclos de tratamiento antibiótico.

La media de ciclos de antibiótico necesarios para la curación de la EC fue de 1,43 con una DS de 0,75. (Gráfica 14)



Gráfica 13. Número de ciclos de antibiótico necesarios para curar EC.

##### **Tratamiento según antibiograma**

De las 33 pacientes con cultivos positivos el 66,7% (22/33) se resolvió tras un primer ciclo de antibiótico, el 18,2% (6/33) requirieron dos ciclos porque el cultivo de control continuaba positivo tras el tratamiento, el 9,1% (3/33) requirió 3 ciclos de antibiótico y el 6,1% (2/33) requirieron cuatro ciclos de antibiótico para lograr la negativización de los cultivos. En la mayoría de los casos (8) los microorganismos que crecieron en los cultivos sucesivos eran diferentes del previo.

En las 25 pacientes restantes se obtuvo un cultivo negativo. El 68% (17/25) de las pacientes con cultivo negativo resolvió la EC en un único ciclo de antibiótico. El 32% (8/25) restante requirió un segundo ciclo de antibiótico para lograr la curación.

## 5. RESULTADOS REPRODUCTIVOS TRAS LA RESOLUCIÓN DE ENDOMETRITIS CRÓNICA

### Resultados reproductivos sobre toda la muestra

Tras el estudio, tratamiento y resolución de la EC el 77,7% (80/103) de las pacientes se realizó una nueva transferencia embrionaria.

Se obtuvo una tasa de implantación del 72,5% (58/80), una tasa de gestación clínica del 68,8% (55/80) y una tasa de gestación evolutiva del 60% (48/80). (Tabla 11)

En las características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Tabla 12)

	Pre diagnóstico EC	Post estudio EC	P (McNemar)	OR (simetría relativa)	IC95% (simetría relativa)
<b>N</b>	103	80			
<b>Implantación</b>	15,5% (16)	72,5% (58)	,000	4,37	(1,22-15,71)
<b>Gest. clínica</b>	3,9% (4)	68,8% (55)	,000	4,52	(0,39-52,40)
<b>Gest. evolut.</b>	0	60% (48)	,000	Infinito	
<b>Aborto bioquímico</b>	75% (12) <sup>a</sup>	5,1% (3) <sup>a</sup>	-. <sup>c</sup>		
<b>Aborto clínico</b>	100% (4) <sup>b</sup>	12,7% (7) <sup>b</sup>	-. <sup>c</sup>		

Tabla 11. Tasas de implantación, gestación clínica, gestación evolutiva, aborto bioquímico y aborto antes y después del diagnóstico y tratamiento de EC en toda la muestra. <sup>a</sup>Tasa de aborto bioquímico sobre el total de βHCG positivas. <sup>b</sup>Tasa de aborto clínico sobre el total de gestaciones clínicas. <sup>c</sup>No se puede calcular p de McNemar por el pequeño tamaño muestral.

	Transf. previas	Transf. post curación EC	P
<b>N</b>	103	80	
<b>PGT-A Euploide</b>	45,6% (47)	58,8% (47)	0,093 *
<b>Ovodonación</b>	28,1% (29)	35% (28)	0,289 *
<b>Grosor endometrial (media en mm)</b>	9,07± 1,33	9,09 ± 0,97	0,94 **
<b>Nº embriones</b>	1,08 ± 0,33	1,08 ± 0,33	1 **

Tabla 12. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en toda la muestra. \*Mc Nemar, \*\*T-Student.

## Resultados reproductivos en pacientes con diagnóstico y curación de EC

De las 58 pacientes diagnosticadas y tratadas de EC, en el 84,48% (49/58) se realizó una transferencia embrionaria tras la curación de la EC.

En este grupo de pacientes se había realizado una media de 2,84 transferencias embrionarias previas con una DS de 1,36.

En este grupo obtuvimos una tasa de implantación del 69,4% (34/49), una tasa de gestación clínica del 67,3% (33/49) y una tasa de gestación evolutiva del 57,14% (28/49), siendo estas tasas significativamente superiores a las obtenidas antes del diagnóstico y tratamiento de la EC. (Tabla 13)

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC. (Tabla 14)

	Pre diagnóstico EC	Post estudio EC	P (McNemar)	OR (simetría relativa)	IC95% (simetría relativa)
<b>N</b>	58	49			
<b>Implantación</b>	15,5% (9)	69,4% (34)	,000	6,75	(1,18-38,41)
<b>Gest. clínica</b>	3,4% (2)	67,3% (33)	,000	infinito	
<b>Gest. evolut.</b>	0	57,14% (28)	,000	infinito	
<b>Aborto bioquímico</b>	77,8% (7) <sup>a</sup>	2,9% (1) <sup>a</sup>	- <sup>c</sup>		
<b>Aborto clínico</b>	100% (2) <sup>b</sup>	15,2% (5) <sup>b</sup>	- <sup>c</sup>		

Tabla 13. Tasas de implantación, gestación clínica, gestación evolutiva, aborto bioquímico y aborto clínico antes y después del diagnóstico y tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC con cualquiera de las pruebas diagnósticas. <sup>a</sup>Tasa de aborto bioquímico sobre el total de βHCG positivas. <sup>b</sup>Tasa de aborto clínico sobre el total de gestaciones clínicas. <sup>c</sup>No se puede calcular p de McNemar por el pequeño tamaño muestral.

	Transf. previas	Transf. post curación EC	P
<b>N</b>	58	49	
<b>PGT-A Euploide</b>	51,7% (30)	59,1% (29)	0,607*
<b>Ovodonación</b>	27,6% (16)	34,7% (17)	0,25*
<b>Grosor endometrial (media en mm)</b>	8,90± 0,77	9,31± 0,80	0,181**
<b>Nº embriones</b>	1,10± 0,05	1,03± 0,03	0,183**

Tabla 14. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC con cualquiera de las pruebas diagnósticas. \*McNemar, \*\*T-Student.

## Resultados reproductivos en pacientes con resultado negativo para EC

De las 45 pacientes que obtuvieron un resultado negativo para EC en todas las pruebas realizadas, en el 68,9% (31) se realizó una transferencia embrionaria tras el estudio.

El número medio de transferencias previas al estudio de EC en este grupo fue de 3,07 transferencias embrionarias, con una DS de 1,34.

En este grupo obtuvimos una tasa de implantación del 77,4% (24/31), una tasa de gestación evolutiva del 70,9% (22/31) y una tasa de gestación clínica del 64,5% (20/31). (Tabla 15)

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC, pero encontramos un 20% más de transferencias de embriones euploides tras el estudio de la EC. (Tabla 16)

	Pre diagnóstico EC	Post estudio EC	P (McNemar)	OR (simetría relativa)	IC95% (simetría relativa)
<b>N</b>	45	31			
<b>Implantación</b>	15,5% (7)	77,4% (24)	,000	1,92	(0,16-23,34)
<b>Gest. clínica</b>	4,4% (2)	70,9% (22)	,000	2,62	(0,15-47,18)
<b>Gest. evolut.</b>	0	64,5% (20)	,000	Infinito	
<b>Aborto bioquímico</b>	71,4% (5) <sup>a</sup>	8,3% (2) <sup>a</sup>	- <sup>c</sup>		
<b>Aborto clínico</b>	100% (2) <sup>b</sup>	9,1% (2) <sup>b</sup>	- <sup>c</sup>		

Tabla 15. Tasas de implantación, gestación clínica, gestación evolutiva, aborto bioquímico y aborto clínico antes y después del estudio de EC, en pacientes que obtuvieron un resultado negativo en todas las pruebas diagnósticas. <sup>a</sup>Tasa de aborto bioquímico sobre el total de  $\beta$ HCG positivas. <sup>b</sup>Tasa de aborto clínico sobre el total de gestaciones clínicas. <sup>c</sup>No se puede calcular p de McNemar por el pequeño tamaño muestral.

	Transf. previas	Transf. Post estudio EC	P
<b>N</b>	45	31	
<b>PGT-A Euploide</b>	37,8% (17)	58,06% (18)	0,07*
<b>Ovodonación</b>	28,9% (13)	35,5% (11)	1*
<b>Grosor endometrial (media en mm)</b>	9,25± 1,77	8,86± 1,12	0,451**
<b>Nº embriones</b>	1,04± 0,19	1,15± 0,37	0,083**

Tabla 16. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en pacientes que obtuvieron un resultado negativo en todas las pruebas diagnósticas.

\*Mc Nemar, \*\*T-Student.

### Resultados reproductivos en pacientes con IHQ CD138 positiva

La detección de células plasmáticas en la biopsia endometrial mediante IHQ CD138 resultó positiva en 31 pacientes. En un 83,8% (26) de ellas se realizó una transferencia embrionaria tras la curación de la EC.

La media de transferencias embrionarias previas al estudio de EC en este grupo fue de 3,06, con una DS de 1,65.

En este grupo obtuvimos una tasa de implantación tras la curación de EC del 65,4% (17/26), tasa de gestación clínica del 61,5% (16/26) y tasa de gestación evolutiva del 50% (13/26), siendo todas significativamente superiores a las obtenidas antes del tratamiento de la EC. (Tabla 17)

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC. (Tabla 18)

	Pre diagnóstico EC	Post estudio EC	P (McNemar)	OR (simetría relativa)	IC95% (simetría relativa)
<b>N</b>	31	26			
<b>Implantación</b>	3,2% (1)	65,4% (17)	,000	Infinito	
<b>Gest. clínica</b>	0	61,5% (16)	,000	Infinito	
<b>Gest. evolut.</b>	0	50% (13)	,000	Infinito	

Tabla 17. Tasas de implantación, gestación clínica y evolutiva antes y después del tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas mediante detección de células plasmáticas con CD138.

	Transf. previas	Transf. post curación EC	P
<b>N</b>	31	26	
<b>PGT-A Euploide</b>	48,4% (15)	57,7% (15)	0,727*
<b>Ovodonación</b>	35,5% (11)	46,1% (12)	0,5*
<b>Grosor endometrial (media en mm)</b>	8,87± 0,91	9,42± 0,67	0,079**
<b>Nº embriones</b>	1,13± 0,34	1,04± 0,21	0,33**

Tabla 18. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC detección de células plasmáticas con CD138. \*McNemar, \*\*T-Student.

## Resultados reproductivos en pacientes con histeroscopia positiva para EC

34 pacientes presentaron signos de EC en la histeroscopia. En un 82,35% (28) de ellas se realizó una transferencia embrionaria tras la curación de la EC.

En este grupo de pacientes se había realizado una media de 3,03 transferencias previas, con una DS de 1,60 antes de llevar a cabo el despistaje de EC.

En la transferencia posterior al tratamiento de la EC obtuvimos una tasa de implantación del 78,5% (22/28), una tasa de gestación clínica del 75% (21/28) y una tasa de gestación evolutiva del 64,2% (18/28), siendo estas tasas significativamente superiores a las obtenidas antes del diagnóstico y tratamiento de la EC. (Tabla 19)

Este grupo presentó un porcentaje más elevado de PGT-A euploide en las transferencias posteriores al tratamiento de la EC. (Tabla 20)

	Pre diagnóstico EC	Post estudio EC	P (McNemar)	OR (simetría relativa)	IC95% (simetría relativa)
<b>N</b>	34	28			
<b>Implantación</b>	11,8% (4)	78,5% (22)	,000	infinito	
<b>Gest. clínica</b>	2,9% (1)	75% (21)	,000	infinito	
<b>Gest. evolutiva</b>	0	64,2% (18)	,000	infinito	

Tabla 19. Tasas de implantación, gestación clínica y evolutiva antes y después del diagnóstico y tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC mediante histeroscopia

	Transf. previas	Transf. post curación EC	P
<b>N</b>	34	28	
<b>PGT-A Euploide</b>	38,2% (13)	67,9% (19)	0,039*
<b>Ovodonación</b>	20,6% (7)	32,1% (9)	0,5*
<b>Grosor endometrial (media en mm)</b>	8,84± 1,01	9,5± 0,71	0,074**
<b>Nº embriones</b>	1,14± 0,35	1,05± 0,21	0,329**

Tabla 20. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC mediante histeroscopia. \*Mc Nemar, \*\*T-Student.

### Resultados reproductivos en pacientes con cultivo endometrial positivo

33 pacientes presentaron el cultivo endometrial positivo. De ellas, en 32 pacientes se realizó una transferencia embrionaria tras la curación de la EC.

Antes de la realización del estudio para el despistaje de EC este grupo de pacientes había recibido una media de 2,94 transferencias, con una DS de 1,54.

Tras el tratamiento y curación de la EC en este grupo, obtuvimos una tasa de implantación del 62,5% (20/32), una tasa de gestación clínica del 62,5% (20/32) y una tasa de gestación evolutiva del 53,1% (17/32), siendo estas tasas significativamente superiores a las obtenidas antes del diagnóstico y tratamiento de la EC. (Tabla 21)

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC. (Tabla 22)

	Pre diagnóstico EC	Post estudio EC	P (McNemar)	OR (simetría relativa)	IC95% (simetría relativa)
<b>N</b>	33	32			
<b>Implantación</b>	15,15% (5)	62,5% (20)	,000	2,83	(0,40-20,18)
<b>Gest. clínica</b>	6,1% (2)	62,5% (20)	,000	infinito	
<b>Gest. evolutiva</b>	0	53,1% (17)	,000	infinito	

Tabla 21. Tasas de implantación, gestación clínica y evolutiva antes y después del diagnóstico y tratamiento de EC en pacientes con cultivos endometriales positivos.

	Transf. previas	Transf. post curación EC	P
<b>N</b>	33	32	
<b>PGT-A Euploide</b>	57,6% (19)	62,5% (20)	1*
<b>Ovodonación</b>	21,2% (7)	31,2% (10)	0,25*
<b>Grosor endometrial (media en mm)</b>	8,7± 0,74	9,25± 0,88	0,186**
<b>Nº embriones</b>	1,11± 3,20	1	0,083**

Tabla 22. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en pacientes con cultivos endometriales positivos. \*Mc Nemar, \*\*T-Student.

### Resultados reproductivos en pacientes con análisis molecular por NGS (test EMMA + test ALICE) positivo para EC

8 pacientes obtuvieron un resultado positivo para EC mediante el análisis molecular del endometrio por NGS con el test ALICE, el test EMMA o la combinación de ambos. En 7 de ellas se realizó una transferencia embrionaria tras la curación de la EC.

En este grupo de pacientes se había realizado una media de 3,13 transferencias embrionarias previas al estudio de EC, con una DS de 2,47.

En este grupo obtuvimos una tasa de implantación del 71,4% (5/7), una tasa de gestación clínica del 71,4% (5/7) y una tasa de gestación evolutiva del 57,1% (4/7). Las diferencias obtenidas no resultaron estadísticamente significativas, probablemente debido al pequeño tamaño muestral de este grupo. (Tabla 23)

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC. (Tabla 24)

	Pre diagnóstico EC	Post estudio EC	P (McNemar)	OR (simetría relativa)	IC95% (simetría relativa)
<b>N</b>	8	7			
<b>Implantación</b>	0	71.4% (5)	,0625	Infinito	
<b>Gest. clínica</b>	0	71,4% (5)	,0625	Infinito	
<b>Gest. evolutiva</b>	0	57,1% (4)	,125	Infinito	

Tabla 23. Tasas de implantación, gestación clínica y evolutiva antes y después del diagnóstico y tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC mediante NGS.

	Transf. previas	Transf. post curación EC	P
<b>N</b>	8	7	
<b>PGT-A Euploide</b>	62,5% (5)	57,1% (4)	1*
<b>Ovodonación</b>	0	14,3% (1)	1*
<b>Grosor endometrial (media en mm)</b>	9	9	-
<b>Nº embriones</b>	1,14± 0,34	1	0,36**

Tabla 24. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC mediante NGS. \*Mc Nemar, \*\*T-Student.

## Tiempo desde la obtención de resultado negativo para EC hasta la transferencia embrionaria posterior

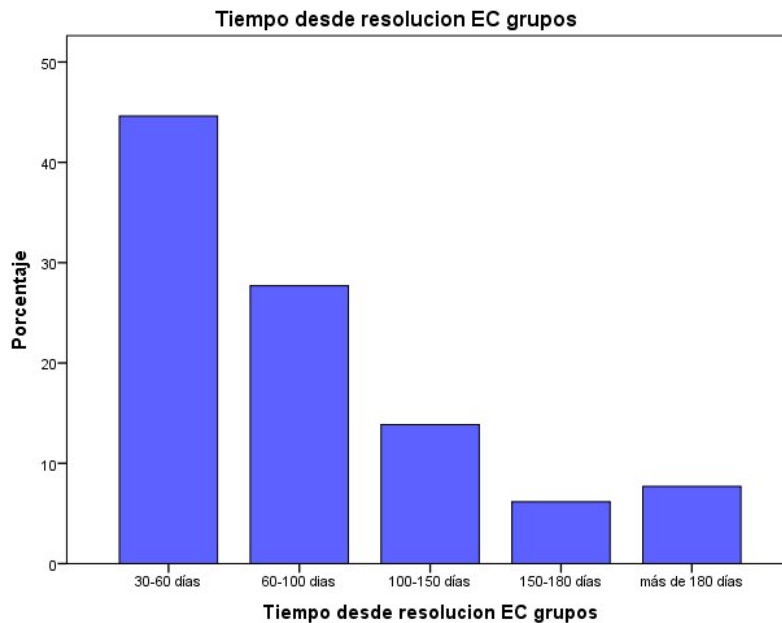
### En toda la muestra

La media de tiempo desde la obtención de un resultado negativo para EC en todas las pruebas hasta la transferencia embrionaria entre las 80 pacientes fue de 83,33 días, con una DS 60,48.

En la tabla 25 y en la gráfica 14 se presentan la distribución de frecuencias.

Días desde obtención de resultado negativo para EC en todas las pruebas hasta la transferencia	% de pacientes
Primeros 60 días	45% (36)
61-100 días	27,5% (22)
101-150 días	13,8% (11)
151-180 días	6,2% (5)
>180 días	7,5% (6)

Tabla 25. Días hasta la transferencia embrionaria en toda la muestra.



Gráfica 14. Distribución de pacientes en función del tiempo hasta la transferencia en toda la muestra.

Se analizaron también los resultados de las transferencias en relación con el tiempo transcurrido entre la obtención del resultado negativo para la EC y el momento de realización de la transferencia. No se encontraron diferencias significativas en la tasa de implantación, de gestación clínica ni de gestación evolutiva. (Tabla 26)

	Tiempo (días) en pacientes con resultado positivo	Tiempo (días) en pacientes con resultado negativo	P (T-Student)
<b>Implantación</b>	84,36± 64,38	80,89± 51,60	0,836
<b>Gestación clínica</b>	84,44± 64,89	81,05± 51,70	0,835
<b>Gestación evolutiva</b>	91,05± 67,55	72,74± 48,44	0,235

Tabla 26. Tiempo transcurrido hasta la transferencia en función del resultado de dicha transferencia embrionaria en toda la muestra.

Sin embargo, sí se obtuvieron diferencias significativas entre el momento de realización de la transferencia en pacientes con resultado positivo para EC y aquellas con resultado negativo para EC en el primer estudio diagnóstico.

Las pacientes que habían obtenido un resultado positivo para EC en el primer ciclo diagnóstico recibieron la transferencia embrionaria en una media de 61,97 días (DS 44,45) tras la obtención del resultado negativo para EC en todas las pruebas. Mientras que las pacientes que habían presentado un resultado negativo para EC en el primer diagnóstico fueron transferidas tras una media de 113,5 días (DS 68,2) p 0,00.

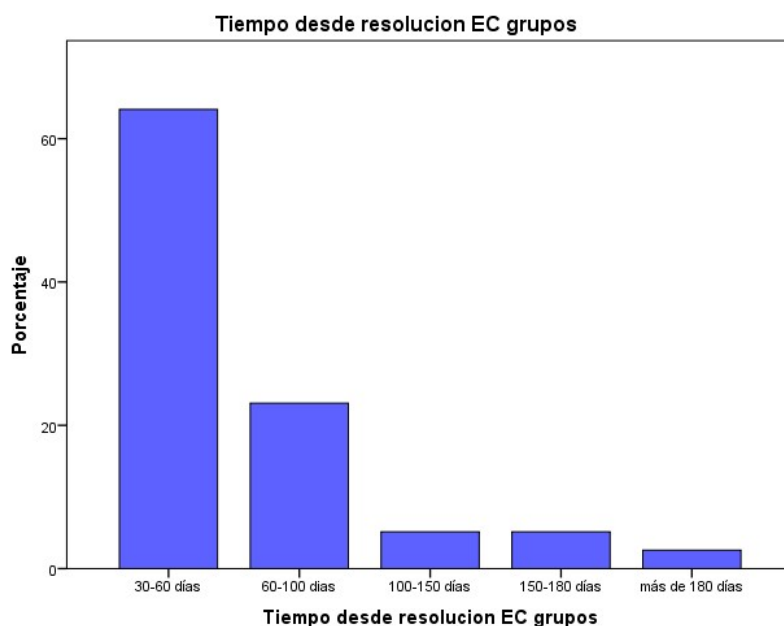
Pacientes con resultado positivo para EC en alguna de las pruebas

49 pacientes recibieron una transferencia embrionaria tras ser diagnosticadas de EC y lograr la curación del cuadro. La media de tiempo desde la obtención de un resultado negativo para EC en todas las pruebas hasta la transferencia fue de 61,97 días (DS 44,45).

En la tabla 27 y en la gráfica 15 se presentan la distribución de frecuencias.

Días desde obtención de resultado negativo para EC en todas las pruebas hasta la transferencia	% de pacientes
<b>Primeros 60 días</b>	65,3% (32)
<b>61-100 días</b>	24,5% (12)
<b>101-150 días</b>	4,1% (2)
<b>151-180 días</b>	4,1% (2)
<b>&gt;180 días</b>	2% (1)

Tabla 27. Días hasta la transferencia embrionaria en pacientes con diagnóstico inicial de EC y curación.



Gráfica 15. Distribución de pacientes en función del tiempo hasta la transferencia en pacientes con diagnóstico inicial de EC y curación.

Se analizaron también los resultados de las transferencias en relación con el tiempo transcurrido entre la obtención del resultado negativo para la EC y el momento de realización de la transferencia. En este grupo tampoco se encontraron diferencias significativas en la tasa de implantación, de gestación clínica ni de gestación evolutiva. (Tabla 28)

	Tiempo (días) en pacientes con resultado positivo	Tiempo (días) en pacientes con resultado negativo	P (T-Student)
<b>Implantación</b>	59,31± 45,49	67,31± 43,55	0,603
<b>Gestación clínica</b>	60,48± 46,03	64,64± 43,02	0,78
<b>Gestación evolutiva</b>	64± 50,68	59,84± 38,07	0,77

Tabla 28. Tiempo transcurrido hasta la transferencia en función del resultado de dicha transferencia embrionaria en pacientes con diagnóstico inicial de EC y posterior curación.

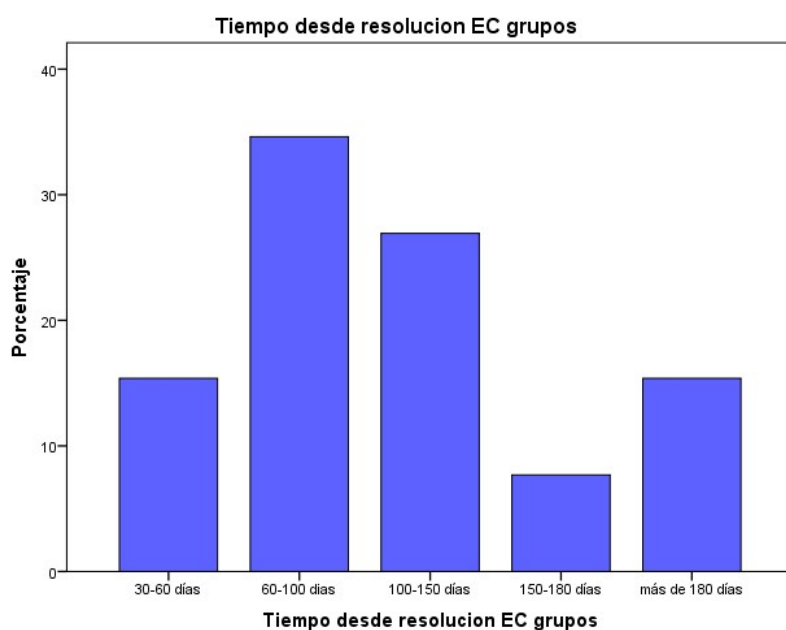
#### Pacientes con resultado negativo para EC en el ciclo diagnóstico inicial

Entre las pacientes que obtuvieron un resultado negativo para EC en todas las pruebas en el primer ciclo diagnóstico, se realizaron 31 transferencias embrionarias. La media de tiempo desde la obtención del resultado negativo para EC en todas las pruebas hasta la transferencia fue de 113,5 días (DS 68,21).

En la tabla 29 y en la gráfica 16 se presentan la distribución de frecuencias.

Días desde obtención de resultado negativo para EC en todas las pruebas hasta la transferencia	% de pacientes
Primeros 60 días	16,1% (5)
61-100 días	35,5% (11)
101-150 días	25,8% (8)
151-180 días	6,5% (2)
>180 días	16,1% (5)

Tabla 29. Días hasta la transferencia embrionaria en pacientes con resultado negativo para EC en todas las pruebas en el ciclo diagnóstico inicial.



Gráfica 16. Distribución de pacientes en función del tiempo hasta la transferencia en pacientes con resultado negativo para EC en todas las pruebas en el ciclo diagnóstico inicial.

Se analizaron también los resultados de las transferencias en relación con el tiempo transcurrido entre la obtención del resultado negativo para la EC y el momento de realización de la transferencia. Tampoco se encontraron diferencias significativas en la tasa de implantación, de gestación clínica ni de gestación evolutiva. (Tabla 31)

	Tiempo (días) en pacientes con resultado positivo	Tiempo (días) en pacientes con resultado negativo	P (T-Student)
<b>Implantación</b>	118,63± 71,49	110,33± 59,29	0,8
<b>Gestación clínica</b>	117,72± 73,46	113,86± 59,91	0,9
<b>Gestación evolutiva</b>	122,88± 72,28	103,38± 58,86	0,51

Tabla 30. Tiempo transcurrido hasta la transferencia en función del resultado de dicha transferencia embrionaria en pacientes con resultado negativo para EC en todas las pruebas en el ciclo diagnóstico inicial.

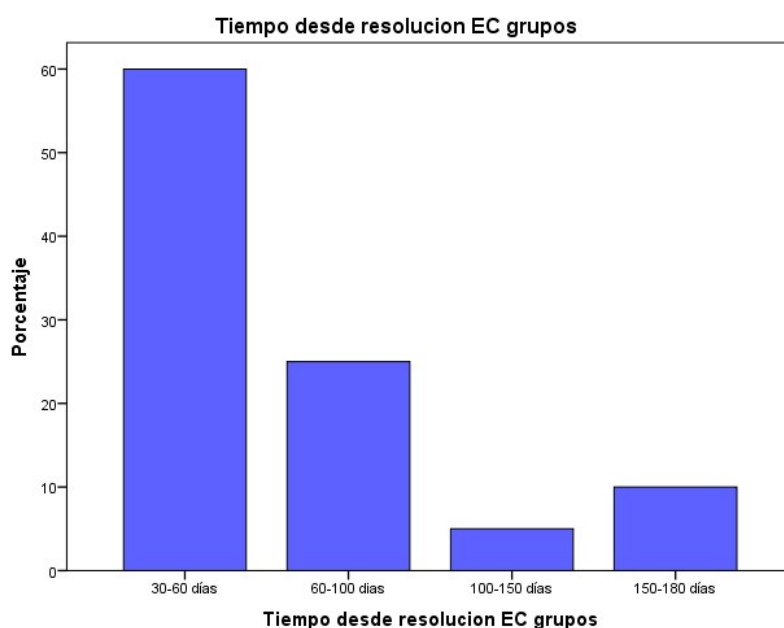
### Pacientes con signos histeroscópicos positivos para EC al diagnóstico

Dentro del grupo de pacientes que presentó signos histeroscópicos positivos para EC, 28 de ellas recibieron una transferencia embrionaria tras la resolución de la EC. La media de tiempo desde la obtención del resultado negativo para EC en todas las pruebas hasta la transferencia fue de 61,35 días (DS 39,41).

En la tabla 31 y en la gráfica 17 se presentan la distribución de frecuencias.

Días desde obtención de resultado negativo para EC en todas las pruebas hasta la transferencia	% de pacientes
Primeros 60 días	60,7% (17)
61-100 días	25% (7)
101-150 días	3,6% (1)
151-180 días	10,7% (3)
>180 días	0

Tabla 31. Días hasta la transferencia embrionaria en pacientes con signos histeroscópicos positivos para EC al diagnóstico.



Gráfica 17. Distribución de pacientes en función del tiempo hasta la transferencia en pacientes con signos histeroscópicos positivos para EC al diagnóstico.

Se analizaron también los resultados de las transferencias en relación con el tiempo transcurrido entre la obtención del resultado negativo para la EC y el momento de realización de la transferencia. En este grupo tampoco se encontraron diferencias significativas en la tasa de implantación, de gestación clínica ni de gestación evolutiva. (Tabla 32)

	Tiempo (días) en pacientes con resultado positivo	Tiempo (días) en pacientes con resultado negativo	P (T-Student)
<b>Implantación</b>	59,43± 35,8	65,83± 50,36	0,75
<b>Gestación clínica</b>	61,69± 36,20	60,71± 47,93	0,96
<b>Gestación evolutiva</b>	64,50± 40,66	58,20± 40,05	0,73

Tabla 32. Tiempo transcurrido hasta la transferencia en función del resultado de dicha transferencia embrionaria en pacientes con signos histeroscópicos positivos para EC al diagnóstico.

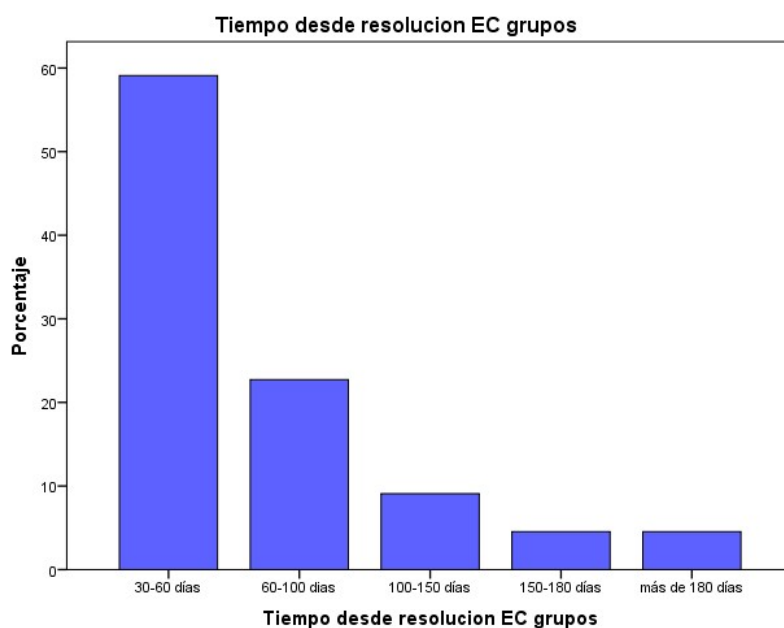
#### Pacientes con diagnóstico de EC mediante identificación de células plasmáticas con IHQ CD138

26 pacientes con resultado positivo para EC mediante IHQ CD138 recibieron una transferencia embrionaria tras la curación del proceso. La media de tiempo desde la obtención del resultado negativo para EC en todas las pruebas hasta la transferencia fue de 67,68 días (DS 51,81).

En la tabla 33 y en la gráfica 18 se presenta la distribución de frecuencias.

Días desde obtención de resultado negativo para EC en todas las pruebas hasta la transferencia	% de pacientes
<b>Primeros 60 días</b>	61,6% (16)
<b>61-100 días</b>	23,1% (6)
<b>101-150 días</b>	7,7% (2)
<b>151-180 días</b>	3,8% (1)
<b>&gt;180 días</b>	3,8% (1)

Tabla 33. Días hasta la transferencia embrionaria en pacientes con CD138 + al diagnóstico.



Gráfica 18. Distribución de pacientes en función del tiempo hasta la transferencia en pacientes con CD138 + al diagnóstico.

Se analizaron también los resultados de las transferencias en relación con el tiempo transcurrido entre la obtención del resultado negativo para la EC y el momento de realización de la transferencia. En este grupo tampoco se encontraron diferencias significativas en la tasa de implantación, de gestación clínica ni de gestación evolutiva. (Tabla 34)

	Tiempo (días) en pacientes con resultado positivo	Tiempo (días) en pacientes con resultado negativo	P (T-Student)
<b>Implantación</b>	65,47± 51,78	72,43± 55,78	0,77
<b>Gestación clínica</b>	68± 52,76	67,13± 53,69	0,97
<b>Gestación evolutiva</b>	74,82± 57,68	60,55± 46,89	0,53

Tabla 34. Tiempo transcurrido hasta la transferencia en función del resultado de dicha transferencia embrionaria en pacientes con CD138 + al diagnóstico.

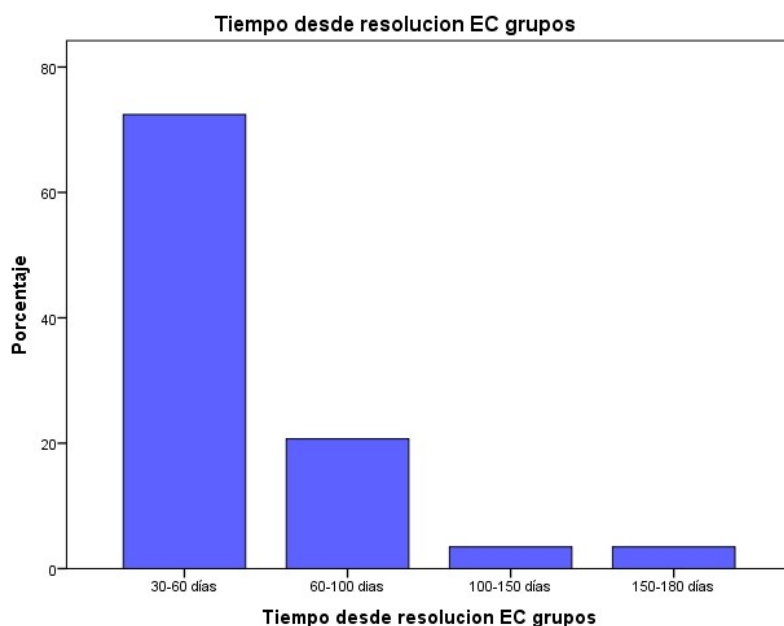
#### Pacientes con cultivo endometrial positivo

En el grupo de pacientes que presentó un cultivo endometrial positivo al diagnóstico, se realizaron 32 transferencias embrionarias tras la curación de la EC. La media de tiempo desde la obtención del resultado negativo para EC en todas las pruebas hasta la transferencia fue de 53,55 días (DS 31,57).

En la tabla 35 y en la gráfica 19 se presenta la distribución de frecuencias.

Días desde obtención de resultado negativo para EC en todas las pruebas hasta la transferencia	% de pacientes
<b>Primeros 60 días</b>	71,9% (23)
<b>61-100 días</b>	21,9% (7)
<b>101-150 días</b>	3,1% (1)
<b>151-180 días</b>	3,1% (1)
<b>&gt;180 días</b>	0

Tabla 35. Días hasta la transferencia embrionaria en pacientes con cultivo positivo al diagnóstico.



Gráfica 19. Distribución de pacientes en función del tiempo hasta la transferencia en pacientes con cultivo positivo al diagnóstico.

Por último, se analizaron también los resultados de las transferencias en relación con el tiempo transcurrido entre la obtención del resultado negativo para la EC y el momento de realización de la transferencia. Al igual que en los anteriores, en este grupo tampoco se encontraron diferencias significativas en la tasa de implantación, de gestación clínica ni de gestación evolutiva. (Tabla 36)

	Tiempo (días) en pacientes con resultado positivo	Tiempo (días) en pacientes con resultado negativo	P (T-Student)
<b>Implantación</b>	50,22± 28,47	59± 36,87	0,48
<b>Gestación clínica</b>	51,41± 28,88	56,58± 36,14	0,67
<b>Gestación evolutiva</b>	50,64± 31,67	56,27± 32,32	0,64

Tabla 36. Tiempo transcurrido hasta la transferencia en función del resultado de dicha transferencia embrionaria en pacientes con cultivo positivo al diagnóstico.



# DISCUSIÓN



## 1. PREVALENCIA DE ENDOMETRITIS CRÓNICA

Consideramos las tres técnicas adecuadas para realizar el diagnóstico de EC, por lo que todas las pacientes que presentaron al menos un resultado positivo para EC en alguna de las pruebas recibieron tratamiento antibiótico. De esta manera, la prevalencia de EC en nuestra cohorte fue del 56,3%.

La prevalencia de EC presentada en la literatura oscila enormemente entre el 14% y el 98%. A continuación, en la tabla 37, se pueden observar desglosadas las características y los resultados de algunas de las principales publicaciones.

Esta gran disparidad en las prevalencias podría explicarse por varios motivos, como el empleo de distintos métodos diagnósticos, la escasa homogeneidad en las características de las pacientes estudiadas y la ausencia de estandarización de los criterios diagnósticos.

Se puede observar que las series que incluyen población general con alguna indicación de estudio endometrial (sospecha ecográfica de patología intracavitaria, sangrado uterino anormal (AUB, por sus siglas en inglés abnormal uterine bleeding) presentan una prevalencia de EC en torno al 20-25% (40,87).

La mayor parte de los trabajos que incluyen únicamente pacientes con fallo reproductivo presentan prevalencias de EC más elevadas (30-60%), similares a la obtenida en nuestra cohorte, pero muy variables dependiendo de la técnica empleada para el diagnóstico de la EC.

La única publicación que incluye un grupo de pacientes fértiles sin sospecha de patología endometrial obtiene una prevalencia del 5% de EC en este grupo poblacional (36,73,82,96).

	N	Tipo de estudio	Población incluida	Fase de ciclo	Técnica empleada	Prevalencia
Cicinelli et al. 2008 (40)	2190	Caso control prospectivo	Cualquier indicación de histeroscopia: AUB, sospecha de pólipos o miomas, infertilidad...	Folicular	HSC	20%
Cicinelli et al. 2015 (36)	106	Retrospectivo	FRI	Folicular	HSC	66%
Bouet et al. 2016 (82)	99	Observacional prospectivo	FRI (46) AR (53)	Folicular	CD138 FRI + AR CD138 FRI CD138 AR HSC FRI + AR HSC y/o CD138 FRI + AR	21,3% 14% 27% 24% 37,23%
Moreno et al. 2018 (39)	65	Prospectivo	Fracaso reproductivo	Folicular	HE y CD138 HSC Cultivo Molecular CD138 y/o HSC y/o Cultivo	38,46% 96,9% 52,3% 55,8% 98,46%
Liu et al. 2018 (73)	Fértiles 40 AR 93 FRI 39 Infertilidad 48	Observacional prospectivo	Fracaso reproductivo	Secretora	CD138 (más de 2,95 células en toda la muestra)	Fértiles 5% AR 17,2% FRI 20,5% Infertilidad 33,3%
Song et al. 2019 (87)	1189	Cohortes retrospectivo	Cualquier indicación: AUB, FRI, AR, fracaso reproductivo, sospecha ecográfica...	Folicular	HSC CD138	38,2% 27,1%
Zargar et al. 2020 (59)	85	Prospectivo	FRI y AR	Folicular	CD138 HSC	25,88% 29,4%
Liu et al. 2020 (96)	320	Prospectivo	Fracaso reproductivo y AR	Folicular	CD138 HSC	51,25% 36,25%
Demirag et al. 2021 (97)	232	Retrospectivo	FRI	Folicular	CD138	55,6%
Xiong et al 2021 (79)	640	Retrospectivo	Fracaso reproductivo	Folicular	CD138	37%
Liu et al 2022 (98)	4003	Retrospectivo	Fracaso reproductivo	Folicular	CD138	31,5%
Kitaya et al. 2022 (99)	3449	Retrospectivo/Prospectivo	FRI	Folicular	CD138	31,4%

Tabla 37. Prevalencias de EC. HSC: histeroscopia, AR: abortos de repetición.

Por tanto, a pesar de la falta de unanimidad en las técnicas y criterios diagnósticos, sí parece que las pacientes con fallo reproductivo presentan una prevalencia elevada de EC.

## 2. DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS CRÓNICA

El principal caballo de batalla de la EC continúa siendo su diagnóstico. No está claro qué técnica se debe emplear, o si es necesaria la combinación de varias pruebas. En el caso de la histología, ni siquiera están claros los criterios diagnósticos.

El escenario ideal sería que realizando una única prueba fuéramos capaces de determinar si una paciente padece EC o no, tanto por la comodidad de la paciente como por rentabilidad y optimización de recursos.

### **Fiabilidad de los métodos diagnósticos de EC**

#### Grado de acuerdo

Teniendo en cuenta cada prueba de forma individual la prevalencia de EC en nuestra cohorte se encontraría en torno al 30%, tanto en el cultivo, como en la histología como en la histeroscopia.

Sin embargo, considerando diagnóstico de EC un resultado positivo en cualquiera de las pruebas realizadas la prevalencia global de EC obtenida fue del 56%. Esto se debe a que el grado de acuerdo obtenido entre las tres técnicas no es excelente. La histeroscopia y el estudio histológico alcanzan un grado de acuerdo moderado, mientras que ambas con el cultivo presentan un grado de acuerdo bajo.

Esta diferencia en los resultados implica que, si sólo empleáramos una técnica diagnóstica, estaríamos catalogando como sanas a un 25% de pacientes que presentan signos de endometritis identificables por alguno de los otros métodos

Hasta la fecha no encontramos publicaciones que analicen el grado de acuerdo entre las tres técnicas empleadas para el diagnóstico de EC. Únicamente dos trabajos recientes establecen el grado de acuerdo entre la histeroscopia y la histología, sin incluir ninguno de ellos el cultivo.

Liu et al. en 2020 evalúan el papel de la histeroscopia para el diagnóstico de EC y proponen un sistema de puntuación según los hallazgos histeroscópicos. Aplicando este sistema obtienen un grado de acuerdo moderado con los resultados del estudio histológico con CD138 ( $\kappa=0,529$ ) (96).

Resultados similares presenta el Grupo de Trabajo para la estandarización del diagnóstico de la EC en 2021. Los autores reportan un coeficiente de relación intraclase (CCI) entre la histeroscopia y el diagnóstico histológico mediante CD138 de 0,463 (77), lo que traduce un grado de acuerdo moderado, muy similar también al obtenido en nuestra cohorte ( $\kappa=0,481$ ).

Esta falta de acuerdo entre los resultados de las diferentes técnicas diagnósticas podría deberse a que cada una de ellas analiza parámetros diferentes. La histeroscopia identifica signos macroscópicos de inflamación y la histología signos microscópicos. Sin embargo, los cultivos y el estudio molecular evalúan la presencia de microorganismos.

De esta manera parece razonable que la histeroscopia y el estudio anatomopatológico presenten un grado de acuerdo moderado, ya que ambas analizan la presencia de signos inflamatorios. Algunos autores, incluso, proponen que existe una cierta correlación entre los hallazgos histeroscópicos, la cantidad de células plasmáticas obtenidas en la biopsia endometrial y la gravedad de la EC (86).

Sin embargo, como ya se ha mencionado el cultivo estudia un aspecto diferente, quizá es por este motivo por el cual el grado de acuerdo de la histeroscopia y la histología con el cultivo es bajo.

En nuestra cohorte los resultados obtenidos en los cultivos endometriales presentaron un grado de acuerdo bueno con el estudio molecular ( $\kappa$  0,61) con una tasa de acuerdo global del 81,82%, bastante superior a la reportada anteriormente por Moreno et al del 56,92% (39).

Se puede observar como las dos pruebas que estudian el mismo parámetro, la presencia de microorganismos, sí presentan un buen grado de acuerdo. Basándonos en este resultado parece que realizando únicamente una de ellas se podría determinar adecuadamente el diagnóstico microbiológico.

En nuestra opinión, entre estas dos técnicas, el cultivo debería ser la primera opción dado que es más económico y aporta la información adicional del antibiograma, reservando el diagnóstico molecular para aquellos casos de endometritis persistentes con cultivos negativos.

#### Tasa de acuerdo global

En cuanto a la tasa de acuerdo global, hemos obtenido un 57,3% de acuerdo entre la histeroscopia, la histología y el cultivo endometrial. Analizando únicamente la histeroscopia y el estudio anatomopatológico la tasa de acuerdo asciende al 77,5%.

Algunas publicaciones presentan la tasa de acuerdo global entre la histeroscopia y la histología, aunque no realizan el análisis del grado de acuerdo. Como se puede ver en la tabla 38 la tasa de acuerdo es muy variable entre las diferentes series, oscilando desde el 40% hasta el 90%.

Estas variaciones pueden estar muy influidas por la falta de homogeneidad en los criterios diagnósticos de la histología. Algunos autores emplean la tinción con HE sin IHQ CD138 (36,39), lo cual implica una menor tasa de detección de células plasmáticas. También hay diferencias en el punto de corte del número de células plasmáticas consideradas diagnósticas (5 o más (82) o más de una (83,87)), lo que hace aún más difícil realizar comparaciones.

En la publicación de Bouet et al. (82) se siguen los mismos criterios diagnósticos, tanto histeroscópicos como anatomopatológicos, que en nuestro estudio y obtienen una tasa de acuerdo global entre la histeroscopia y la histología con IHQ CD138 muy similar a la nuestra.

	Tipo de estudio	N	% Acuerdo global	
			HSC-CD138	HSC-Cultivo-CD138
<b>Cicinelli et al. 2015 (36)</b>	Retrospectivo	106	91,62%	
<b>Bouet et al 2016 (82)</b>	Prospectivo	95	71,28%	
<b>Moreno et al 2018 (39)</b>	Prospectivo	65	41,54%	20%
<b>Song et al. 2019 (87)</b>	Retrospectivo	1189	66,9%	
<b>Tsonis et al 2021 (83)</b>	Retrospectivo	2675	91,97%	

Tabla 38. Tasa de acuerdo global entre los diferentes métodos diagnósticos de EC.

El único trabajo en el que se emplean todas las pruebas diagnósticas es el de Moreno *et al.* en 2018 (39). Este estudio incluye un grupo de pacientes con fallo reproductivo que van a realizar un tratamiento de fecundación *in vitro*, sin especificar otros criterios de inclusión. Los investigadores reportan que el 98% de las pacientes presentan al menos un resultado positivo en alguna de las pruebas, siendo llamativamente elevada la tasa de resultados positivos por histeroscopia (96,9%). Este hallazgo resulta sorprendente teniendo en cuenta que las histeroscopias fueron realizadas por el grupo de Cicinelli, especialistas en histeroscopia con gran experiencia y numerosas publicaciones sobre esta patología. Estos mismos investigadores reportan unas prevalencias de EC por histeroscopia sustancialmente inferiores en otros trabajos (36,40,56).

En esta serie obtienen una tasa de acuerdo global entre histeroscopia, cultivo y estudio histológico del 20%. No obstante, este estudio presenta algunos sesgos, entre los que encontramos una gran pérdida de pacientes (30 de las 95 inicialmente incluidas) a las que no habían realizado las tres técnicas clásicas de estudio de EC.

### **Validez de los métodos diagnósticos de EC**

Se considera que el estudio histológico es el patrón oro para el diagnóstico de la EC, por lo tanto, es la técnica empleada como referencia para evaluar la validez de la histeroscopia, el cultivo y las técnicas moleculares.

En nuestra cohorte la histeroscopia presentó una S: 67,7%, una E: 81,7%, un VPP: 61,8% y un VPN: 85,3%; y el cultivo una S: 51,7%, una E: 75%, un VPP: 45,5% y un VPN: 79,4%.

Por tanto, el cultivo y la histeroscopia presentan una especificidad elevada para el diagnóstico de EC. Estos resultados traducen que si se obtiene un resultado negativo para EC en cualquiera de las dos pruebas es poco probable que la paciente presente EC.

La histeroscopia es la técnica diagnóstica más estudiada y comparada con el estudio anatomopatológico. De nuevo, encontramos publicaciones con criterios diagnósticos histológicos heterogéneos que dificultan la comparación entre los diferentes trabajos y que obtienen valores para la S, E, VPP y VPN muy diferentes (59,82,83,87,96). Lo que sí parece común en todas las publicaciones es la alta especificidad de la histeroscopia. (Tabla 39)

	S	E	VPP	VPN
Cicinelli et al. 2005 (84)	55,4%	99,9%	98,4%	94,5%
Bouet et al. 2016 (82)	40,0%	80,0%	35,0%	83,0%
Song et al. 2019 (87)	59,3%	69,7%	42,1%	82,2%
Zargar et al. 2020 (59)	86,36%	87,3%	70,37%	94,82%
Liu et al. 2020 (96)	62,8%	91,7%	88,8%	70,1%
Tsonis et al. 2021 (83)	34,48%	98,77%	76,92%	92,72%

Tabla 39. Validez histeroscopia.

Otro factor que también podría afectar a la hora de evaluar la validez de la histeroscopia es su carácter subjetivo, ya que es una técnica operador dependiente (85).

Sin embargo, conviene recalcar que este análisis de la validez presupone que la histología aporta el diagnóstico de certeza de EC.

En nuestra cohorte un 25% de pacientes presentaba signos histeroscópicos de EC y/o cultivos endometriales positivos, con un resultado anatomopatológico negativo. Esto podría explicarse porque el estudio histológico, al igual que la histeroscopia, es una técnica operador dependiente. Además, no existen unos criterios anatomopatológicos unificados para diagnosticar la EC y, no sólo eso, la técnica también está influida por la cantidad y la calidad de la muestra endometrial obtenida.

Por ello, para comparar unas pruebas con otras, consideramos más útil el análisis del grado de acuerdo entre las pruebas que la evaluación de su validez en referencia a un patrón oro que puede presentar importantes sesgos.

### **¿Histología, histeroscopia o cultivo?**

Algunos investigadores, tras comparar la histeroscopia y la histología, concluyen que la histeroscopia es una técnica útil para establecer un diagnóstico de sospecha de EC, pero que debe ser siempre complementada con el estudio histológico para confirmar o refutar el diagnóstico. De tal forma que el diagnóstico de EC estaría definido por los hallazgos anatomopatológicos (59,82,87,100).

Por otro lado, encontramos autores que presentan una postura diferente, considerando la histeroscopia como la herramienta principal para el diagnóstico de EC (36,40,56).

Ambas corrientes se basan en el análisis de la validez de las técnicas, por lo tanto, asumen que el diagnóstico de EC lo establece el estudio histológico y no analizan el grado de acuerdo entre los diferentes métodos.

A la vista de nuestros resultados, no existe un grado de acuerdo suficientemente bueno entre las pruebas como para poder establecer el diagnóstico de EC en base únicamente a una de ellas.

Por ello, consideramos que puede resultar de utilidad emplear las tres técnicas para definir el diagnóstico de EC, siempre que estén a nuestro alcance. Esta propuesta es novedosa con respecto a todas las publicaciones que encontramos en la literatura, ya que la mayoría de ellas van encaminadas a identificar la mejor técnica única para el diagnóstico, y ninguna alcanza resultados concluyentes (39,40,82,87)

Las tres técnicas podrían realizarse en una única intervención, ya que hoy en día disponemos de histeroscopios de calibre muy fino con canal de trabajo, que permiten recoger las muestras endometriales durante la propia histeroscopia.

### **Cultivo endometrial**

En nuestra cohorte el 37,8% de los cultivos endometriales resultaron positivos. La bacteria más frecuentemente aislada fue *Enterococcus faecalis* (36% de los cultivos positivos) seguida de *Escherichia Coli* (20,5%). Estos resultados continúan en la misma línea que las publicaciones previas, en las que parece que las bacterias que más frecuentemente causan la EC son bacterias comunes y no específicas del tracto genital (39,40).

Las publicaciones que incluyen el cultivo endometrial como parte del diagnóstico de la EC son muy escasas y ninguna de ellas determina la validez de esta técnica con respecto a la histología (36,39,40).

La mayoría de los trabajos que incluyen el cultivo endometrial (36,56) sólo reportan los resultados de cultivos realizados en pacientes que ya presentaban signos de EC en la histeroscopia y la histología. Por tanto, en estas series obtienen un porcentaje menor de resultados positivos en los cultivos que en la histeroscopia y el estudio anatomopatológico, ya que no realizan el cultivo a todas las pacientes de la muestra (36,40,56).

El principal inconveniente del cultivo, a diferencia de la anatomía patológica, no es la falta de criterios diagnósticos, sino el riesgo de obtener resultados falsos negativos como consecuencia de las limitaciones en la técnica o falsos positivos por contaminación.

En nuestro trabajo para obtener la muestra endometrial empleamos una cánula de Cornier. Las cánulas se introdujeron a través del cérvix bajo visión directa tras haber colocado adecuadamente el espéculo vaginal y desinfectado el exocérvix. Previamente a la desinfección de la vagina se recogieron muestras de exudados vaginales para cultivo y no obtuvimos ningún caso de contaminación de origen vaginal.

Algunos investigadores emplean cánulas con una doble vaina, de tal forma que la muestra endometrial no contacta ni siquiera con el canal endocervical, ya que se extrae protegida por la vaina externa (40). Pero a la vista de nuestros resultados no parece necesaria la utilización de cánulas especiales, siempre y cuando la muestra sea extraída de forma cuidadosa.

El cultivo aporta una información muy valiosa en el estudio de la EC. La identificación del microorganismo y la realización del antibiograma, además de establecer el diagnóstico, constituyen un importante beneficio a la hora de dirigir el tratamiento. Por este motivo consideramos su aplicación de gran utilidad para el manejo de la EC.

### 3. TRATAMIENTO DE ENDOMETRITIS CRÓNICA

Todos los casos diagnosticados de EC en nuestra cohorte recibieron tratamiento antibiótico y en todos ellos los signos de EC se resolvieron tras un máximo de cuatro ciclos antibióticos. La comprobación del estado endometrial tras el antibiótico se realizó únicamente con las técnicas que habían resultado positivas.

Por un lado, podríamos interpretar esta resolución de la endometritis tras el tratamiento antibiótico como un argumento a favor de su etiología infecciosa. Por otro lado, el hecho de que los signos de EC desaparecieran en todos los métodos diagnósticos empleados podría apoyar la utilidad de aplicar las tres técnicas para su despistaje.

Si bien es cierto que una de las limitaciones de nuestro trabajo es que no disponemos de grupo control para evaluar adecuadamente la eficacia del tratamiento, ya que no se estableció como objetivo.

No obstante, Song et al. publicaron en 2021 un ensayo aleatorizado con grupo control evaluando la eficacia del tratamiento antibiótico sobre la desaparición de células plasmáticas en muestras endometriales. En este trabajo demostraron que el tratamiento antibiótico empírico con levofloxacino 500mg + tinidazol 1g cada 24 horas durante 14 días es eficaz. En el grupo que recibió tratamiento lograron la negativización de las células plasmáticas en el 89,3% de las pacientes, mientras que en el grupo control sólo se negativizaron el 12,7% (92).

Además de este ensayo, encontramos trabajos que también defienden la utilidad del tratamiento antibiótico, aunque algunos de ellos son de carácter retrospectivo y otros no presentan grupo control (Tabla 40)

	N	Diseño	Técnica diagnóstica	Pauta antibiótica	Tasa de resolución
Cicinelli et al 2015 (36)	106	Retrospectivo	HSC + CD138 + Cultivo	Según antibiograma. Pauta empírica: Ceftriaxona 250mg i.m. dosis única + Doxiciclina 100mg/12h + Metronidazol 500mg/12h x 14 días	1º ciclo: 27,9% 2º ciclo: 45,9% 3º ciclo 75,4%
Kitaya et al 2017 (90)	421	Prospectivo	CD138	1º Doxiciclina 100mg/12h x 14 días 2º Ciprofloxacino 200mg/12h + metronidazol 250/12h x 14 días	24,6% Persistente. 92,3%
Song et al. 2021 (92)	132	Ensayo clínico aleatorizado prospectivo	CD138	Levofloxacino 500mg + Tinidazol 1g/24 x 14 días	99,6% Grupo tratamiento 89,3%
Xiong et al 2021 (79)	640	Retrospectivo	CD138	1º Doxiciclina 100/12h x 14 días 2º Levofloxacino 200g/12h + metronidazol 500mg/8h x 14 días	74,7% 89%
Cicinelli et al. 2021 (93)	128	Caso control retrospectivo	CD138 + HSC +/- Cultivo	Según antibiograma Pauta empírica: Ceftriaxona 240mg im, dosis única + Doxiciclina 100mg/12h + Metronidazol 500mg/12 x 14 días	Grupo tratamiento: 1º ciclo: 32,25% 2º ciclo: 62,5% 3º ciclo: 81,25%
Liu et al. 2022 (98)	927	Cohortes retrospectivo	CD138	Doxiciclina 100mg/12h x 14 días	Grupo control 6,25% 79,07%
Kitaya et al 2022 (99)	3449	Retrospectivo	CD138	1º Doxiciclina 100mg/12h x 14 días 2º Ciprofloxacino 200/12h + metronidazol 250/12h x 14 días	78,8% 91,8%

Tabla 40. Tasa de resolución EC tras el tratamiento antibiótico.

En nuestra cohorte el 69% de los casos con EC se resolvió tras completar el primer tratamiento antibiótico. El 91,4% logró la curación después de una segunda pauta de antibiótico. Y, tras realizar un tercer y un cuarto ciclo de antibiótico el 96,6% y el 100%, respectivamente, alcanzaron la negativización.

Como se puede observar en la tabla 41 la tasa de resolución de la EC tras la administración de tratamiento antibiótico es elevada y similar a la obtenida en nuestro estudio, entre el 70% y el 90% tras el primer ciclo antibiótico, alcanzando cerca del 100% tras tres ciclos de antibióticos.

En nuestro caso, en las pacientes que presentaron signos de EC en la histeroscopia o la histología, pero el cultivo endometrial resultó negativo, la pauta empírica que empleamos fue Doxiciclina 100mg/12h y alcanzamos casi el 70% de curación. El 30% restante logró la resolución de la EC tras una segunda línea de tratamiento con ciprofloxacino 500mg/12h + metronidazol 500mg/12h durante 10 días.

Teniendo en cuenta la importancia y las graves consecuencias del aumento de las resistencias a los antibióticos (99), consideramos recomendable el empleo secuencial de los antibióticos, ya que en el 70% de los casos podremos evitar el uso de la terapia combinada.

Algunos investigadores proponen la aplicación de infusiones intrauterinas de antibiótico. Esta vía de administración del tratamiento no parece aportar grandes beneficios ni mejores resultados que la vía oral y su administración es más compleja tanto para la paciente como para el sistema sanitario (101,102).

### **Comprobación del estado endometrial tras el tratamiento**

En nuestra cohorte hemos alcanzado un 100% de curación de la EC, pero un 30% de las pacientes ha requerido más de un ciclo de antibiótico. A la vista de estos resultados parece conveniente realizar la comprobación de la resolución de la EC tras la administración del tratamiento antibiótico y en caso de persistencia del cuadro administrar una nueva pauta antibiótica.

Esta es una cuestión todavía debatida en la literatura. El metaanálisis publicado por Vitagliano et al se posiciona claramente a favor de realizar la comprobación de la desaparición de los signos de EC (91). Recomendación que ha sido apoyada posteriormente por estudios más recientes (103).

Otros investigadores defienden que no es necesario realizar ningún tipo de control postratamiento asumiendo que la administración de un ciclo antibiótico presenta elevadas tasas de curación de EC (97,98).

Sin embargo, como se puede observar en la tabla 41, estas tasas de resolución varían en función de la serie analizada, entre el 30% y el 90%. Estas diferencias podrían justificarse por las distintas técnicas diagnósticas y pautas antibióticas empleadas, así como, las posibles variaciones en las resistencias antibióticas en diferentes poblaciones.

#### 4. ENDOMETRITIS CRÓNICA Y PRONÓSTICO REPRODUCTIVO

Tras el estudio y resolución de EC en nuestra muestra, las tasas de implantación, gestación clínica y gestación evolutiva mejoraron de forma significativa, alcanzando un 60% de gestación evolutiva.

En nuestro trabajo hemos realizado un análisis antes-después para evaluar los resultados reproductivos, así como el posible impacto de la EC sobre ellos.

Antes de la valoración de EC ninguna de las pacientes incluidas en el estudio había logrado una gestación evolutiva tras la transferencia de al menos dos blastocistos euploides o de tres blastocistos de buena calidad en pacientes menores de 40 años. Tras el diagnóstico y la curación de la EC alcanzaron una tasa de gestación evolutiva del 60%.

Con el objetivo de poder valorar la implicación de la EC sobre el FIR no se incluyeron pacientes que recibieron bajas dosis de AAS, heparina o tratamientos inmunomoduladores por primera vez en la transferencia posterior al estudio de EC. También se analizó el factor embrionario de las transferencias previas y posteriores al despistaje de EC, comprobando que no existían diferencias significativas en cuanto al PGT-A o la donación de ovocitos.

##### **Resultados reproductivos en pacientes con EC curada y pacientes sin EC**

Si comparamos los resultados de las transferencias posteriores al estudio de la EC entre las pacientes que no presentaron signos de EC con las que sí fueron diagnosticadas de EC y lograron la curación; observamos que no hubo diferencias significativas en las tasas de implantación, gestación clínica y gestación evolutiva.

##### **Resultados reproductivos en pacientes con EC según las diferentes técnicas diagnósticas**

En función de los resultados de las pruebas diagnósticas podríamos considerar 3 grupos: pacientes con histología positiva para EC, pacientes con histeroscopia positiva o pacientes cultivo endometrial positivo. Los tres grupos presentaron tasas de implantación, gestación clínica y gestación evolutiva superiores en las transferencias realizadas tras el estudio de la EC frente a las previas.

Aunque somos conscientes del pequeño tamaño muestral de cada grupo, parece que las tasas de gestación evolutiva son ligeramente mayores en las pacientes diagnosticadas mediante histeroscopia que en las que obtuvieron el diagnóstico mediante histología o cultivo.

Este hallazgo apoya también la utilidad de la realización de las tres técnicas diagnósticas, ya que en todos los casos se logra mejorar los resultados reproductivos.

Somos conscientes de que la ausencia de grupo control supone una limitación importante para la evaluación adecuada de la repercusión de la EC sobre los resultados reproductivos. Sin embargo, nuestros resultados coinciden con los publicados en el metaanálisis llevado a cabo por Vitagliano et al en 2018 (91), y recientemente

actualizado (104). En estas publicaciones concluyen que el tratamiento y curación de la EC mejora las tasas de implantación, gestación clínica y recién nacido vivo en pacientes con FIR y no encuentran diferencias entre las pacientes con EC curada y aquellas que no presentan EC al diagnóstico.

Otras publicaciones sí reportan mejores tasas de gestación y recién nacido vivo en pacientes con fallo reproductivo que habían sido diagnosticadas de EC y lograron la curación del cuadro, frente a aquellas que no presentaron EC al diagnóstico (56,90).

En los últimos años se ha incluido el concepto de EC severa y EC moderada. Se considera EC Severa la presencia de más de 5 células plasmáticas o mientras que la EC moderada está definida como la detección de entre 1-4 células plasmáticas. Parece que la evidencia apunta a que los casos de EC moderada no afectan al pronóstico reproductivo en los tratamientos de FIV, lo cual apoya la aplicación del punto de corte en 5 células plasmáticas para el diagnóstico de EC (79,104).

No encontramos en la literatura ningún ensayo prospectivo aleatorizado con grupo control que evalúe el impacto de la EC sobre la implantación. Pero sí disponemos de publicaciones retrospectivas en las que se realizan transferencias embrionarias a pacientes con resultados positivos para EC en el estudio histológico que no han recibido ningún tratamiento antibiótico. Estas series presentan una clara disminución de las tasas de gestación y un mayor número de abortos en las pacientes con signos de EC (38,58,60,61).

### **Tiempo hasta la transferencia embrionaria**

En nuestra cohorte el 70% de las transferencias embrionarias se realizaron en los primeros 3 meses tras lograr el resultado negativo en todas las pruebas diagnósticas de EC. No encontramos diferencias estadísticamente significativas en cuanto al tiempo transcurrido desde la obtención del resultado negativo para EC hasta la realización de la transferencia entre las pacientes que consiguieron la gestación y las que no lograron la implantación.

No está estudiado ni establecido qué intervalo de tiempo puede transcurrir desde el estudio de EC hasta la realización de la siguiente transferencia embrionaria. En relación con este aspecto Cicinelli et al en 2015 publica los resultados reproductivos en los 6 meses posteriores al tratamiento de EC, pero no analizan el tiempo desde el estudio de EC hasta la transferencia (36).

### **Abortos bioquímicos**

Aunque no estaba incluido entre los objetivos principales de este trabajo, un hallazgo interesante, que puede abrir nuevas líneas de investigación, ha sido la obtención de una menor proporción de abortos bioquímicos en las pacientes con EC curada.

Los abortos bioquímicos constituyen una entidad bastante desconocida hoy en día. A diferencia de los abortos clínicos, los bioquímicos parece que no se relacionan con la edad materna y, por tanto, tampoco lo hacen con la dotación cromosómica del embrión,

ya que la tasa de abortos bioquímicos permanece estable en torno al 10%, independientemente de la edad de la madre (105).

En nuestra cohorte, tras realizar la transferencia embrionaria posterior al estudio de EC, hemos obtenido menores tasas de aborto bioquímico (2,9%) en pacientes con EC curada que en pacientes que no presentaron EC al diagnóstico (8,3%).

Además, esta tasa del 2,9% de aborto bioquímico es claramente inferior al 10% descrito en la literatura dentro de la población general que realiza un tratamiento de FIV (105). Parece, por tanto, que la EC podría tener una implicación sobre los abortos bioquímicos, por ello, consideramos que son necesarios más estudios que profundicen en este aspecto.

Todas las pacientes incluidas en nuestro trabajo cumplen los criterios establecidos de FIR, es decir, todas ellas presentaron test de embarazo negativo tras dos transferencias consecutivas de blastocistos euploides o tres transferencias de blastocistos de buena calidad sin estudio genético.

No obstante, un 25% de las pacientes se había realizado un mayor número de transferencias sin lograr recién nacido vivo. Los resultados de estas transferencias previas al diagnóstico del fallo de implantación también fueron recogidos para el análisis de este trabajo. En algunos casos las pacientes habían logrado implantación o incluso gestación clínica y posteriormente presentaron betas negativas en las dos o tres transferencias subsiguientes. Es por este motivo por el que reportamos una tasa de implantación del 16%, con un 75% de aborto bioquímico y un 100% de abortos clínicos dentro de una cohorte de pacientes con FIR.

## 5. LIMITACIONES

Somos conscientes de las limitaciones del presente estudio, entre las que cabe destacar el componente subjetivo de la histeroscopia y del diagnóstico anatomopatológico (38,73,87). Si bien es cierto que, en el ámbito histeroscópico esta subjetividad ha ido perdiendo relevancia, gracias a la estandarización de los criterios diagnósticos. Se ha demostrado que existe un buen grado de acuerdo inter e intraobservador cuando las histeroscopias son llevadas a cabo por especialistas en esta materia, que conocen bien los signos histeroscópicos de EC, como es el caso de nuestro trabajo (85).

Con respecto a la subjetividad en el diagnóstico histológico, la generalización en el empleo de la tinción CD138 ha permitido reducir también reducir el factor operador dependiente (38,64,73). Sin embargo, la falta de consenso en cuanto a los criterios diagnósticos sí que constituye una importante limitación en nuestro trabajo y en todas las publicaciones que incluyen la histología como método diagnóstico de EC.

Otra limitación, ya comentada, es la ausencia de grupo control para evaluar eficacia del antibiótico para la resolución de la EC y el impacto de esta entidad sobre los resultados reproductivos. Idealmente, para poder analizar la influencia de la EC sobre los resultados reproductivos, sería necesario un grupo control de pacientes con diagnóstico de EC a quienes no se administre tratamiento antes de la transferencia. Hoy en día resultaría

extremadamente difícil el reclutamiento de pacientes que aceptaran participar en el grupo control, y más aún en una cohorte de pacientes con FIR. La evidencia científica de la que disponemos sugiere una marcada influencia negativa de la EC sobre la implantación embrionaria. Además, estas pacientes acarrean un bagaje de fracasos en las transferencias embrionarias, con el consiguiente componente emocional, que difícilmente aceptarían ser incluidas en el grupo que no recibe tratamiento.

## 6. FORTALEZAS

Una de las principales fortalezas de este trabajo es que se ha realizado de forma prospectiva y nos hemos esforzado por incluir únicamente pacientes con FIR, siguiendo una definición estricta de este concepto. La mayoría de las publicaciones que encontramos en la literatura sobre EC son estudios de carácter retrospectivo que incluyen grupos de pacientes muy heterogéneos. En muchos casos se unifican dos perfiles de pacientes con fracaso reproductivo, pacientes con abortos de repetición y pacientes con FIR, dos entidades que fisiopatológicamente no presentan ninguna relación. En otros trabajos no sólo incluyen pacientes con fracaso reproductivo, si no que agrupan también pacientes con otras patologías ginecológicas como sangrado uterino anormal o presencia de patología intracavitaria, lo que hace muy difícil poder analizar y establecer conclusiones con los resultados obtenidos.

Otra ventaja que aporta nuestro estudio es que disponemos de un porcentaje elevado de embriones a los que se les ha realizado PGT-A, lo cual permite reducir el sesgo que puede ocasionar el factor embrionario sobre las definiciones clásicas de FIR.

Además, en este trabajo realizamos a todas las pacientes las tres técnicas diagnósticas, lo que nos ha permitido analizar el grado de acuerdo entre ellas. También se han realizado cultivos vaginales a más de un tercio de las pacientes, pudiendo así, descartar la contaminación vaginal de la muestra endometrial.

Basándonos en nuestra experiencia parece recomendable realizar las tres pruebas diagnósticas para el despistaje de EC en pacientes con FIR. La principal ventaja de aplicar las tres técnicas es que abordamos el estudio de esta patología desde las tres perspectivas que conocemos (microscópica, macroscópica y microbiológica), reduciendo así la posibilidad de pasarla por alto. Además, son tres técnicas sencillas de llevar a cabo y que, por lo general, no presentan complicaciones.

Como hallazgo novedoso de este trabajo, parece que el diagnóstico y curación de EC podría disminuir la tasa de abortos bioquímicos en las pacientes con FIR. Por ello, abrimos una nueva línea de investigación sobre la posible influencia de la EC sobre los abortos bioquímicos.

# CONCLUSIONES



1. Parece conveniente aplicar las tres pruebas diagnósticas: histeroscopia, histología con CD138 y cultivo endometrial para realizar el diagnóstico de endometritis crónica, ya que:
  - a. La histeroscopia presenta un grado de acuerdo moderado ( $\kappa$  0,481) con el estudio histológico y una sensibilidad del 67,7%, una especificidad del 81,7%, un valor predictivo positivo del 61,8% y un valor predictivo negativo del 85,3%.
  - b. El cultivo endometrial presenta un grado de acuerdo bajo ( $\kappa$  0,257) con el estudio histológico y una sensibilidad 51,7%, una especificidad 75%, un valor predictivo positivo 45,5% y un valor predictivo negativo de 79,4%.
  - c. El grado de acuerdo entre la histeroscopia y el cultivo endometrial para el diagnóstico de endometritis crónica es bajo ( $\kappa$  0,294).
  - d. El grado de acuerdo entre el cultivo endometrial y la detección de bacterias en el endometrio mediante técnicas moleculares es bueno ( $\kappa$  0,61), por lo que sería suficiente realizar sólo una de ellas.
2. La extracción de la muestra endometrial con una cánula de Cornier, tras la colocación de un espéculo y desinfección del exocérvix, no presenta riesgo de contaminación vaginal.
3. La prevalencia de endometritis crónica en nuestra cohorte de pacientes con fallo de implantación recurrente diagnosticada mediante histeroscopia, histología y/o cultivo es del 56%.
4. El 69% de los casos de endometritis crónica se resolvieron tras un primer ciclo antibiótico. El 91,4% logró la curación después de una segunda pauta de antibiótico. Y, tras realizar un tercer y un cuarto ciclo de antibiótico el 96,6% y el 100%, respectivamente, alcanzaron la negativización de las 3 pruebas diagnósticas.
5. Es recomendable comprobar la curación de la endometritis crónica tras la administración del tratamiento antibiótico, dado que el 30% requirió más de un ciclo de tratamiento antibiótico para lograr la curación.
6. Las tasas de implantación, gestación clínica y gestación evolutiva mejoraron de forma significativa tras realizar el diagnóstico y tratamiento de endometritis crónica en las pacientes con fallo de implantación recurrente y se igualaron a las de las pacientes que no presentaron diagnóstico de endometritis crónica.
7. Nuestro estudio sugiere que el diagnóstico y la curación de la endometritis crónica disminuye la tasa de aborto bioquímico. No obstante, son necesarios más estudios que permitan evaluar el impacto de la endometritis crónica sobre el pronóstico reproductivo.



# BIBLIOGRAFÍA

1. Stern C, Chamley L, Hale L, Kloss M, Speirs A, Baker HW. Antibodies to beta2 glycoprotein I are associated with in vitro fertilization implantation failure as well as recurrent miscarriage: results of a prevalence study. *Fertil Steril*. 1998;70(5):938-44.
2. Rinehart J. Recurrent implantation failure: definition. *J Assist Reprod Genet*. 2007;24(7):284-7.
3. Munné S, Sandalinas M, Escudero T, Velilla E, Walmsley R, Sadowy S, et al. Improved implantation after preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Reprod Biomed Online*. 2003;7(1):91-7.
4. Osmanagaoglu K, Tournaye H, Camus M, Vandervorst M, Van Steirteghem A, Devroey P. Cumulative delivery rates after intracytoplasmic sperm injection: 5 year follow-up of 498 patients. *Hum Reprod*. 1999;14(10):2651-5.
5. Urman B, Yakin K, Balaban B. Recurrent implantation failure in assisted reproduction: how to counsel and manage. A. General considerations and treatment options that may benefit the couple. *Reprod Biomed Online*. 2005;11(3):371-81.
6. Informe estadístico de técnicas de reproducción asistida 2019. España: Sociedad Española de Fertilidad; 2021. (Registro Nacional de Actividad 2019-RegistroSEF).
7. Coughlan C, Ledger W, Wang Q, Liu F, Demirel A, Gurgan T, et al. Recurrent implantation failure: definition and management. *Reprod Biomed Online*. 2014;28(1):14-38.
8. Estudio y abordaje del fallo de implantación. Madrid: Sociedad Española de Fertilidad; 2022.
9. Pirtea P, De Ziegler D, Tao X, Sun L, Zhan Y, Ayoubi JM, et al. Rate of true recurrent implantation failure is low: results of three successive frozen euploid single embryo transfers. *Fertil Steril*. 2021;115(1):45-53.
10. Ata B, Kalafat E, Somigliana E. A new definition of recurrent implantation failure on the basis of anticipated blastocyst aneuploidy rates across female age. *Fertil Steril*. 2021;116(5):1320-7.
11. LaMarca A, Capuzzo M, Longo M, Imbrogno MG, Spedicato GA, Fiorentino F, et al. The number and rate of euploid blastocysts in women undergoing IVF/ICSI cycles are strongly dependent on ovarian reserve and female age. *Hum Reprod*. 2022;37(10):2392-401.
12. Demko ZP, Simon AL, McCoy RC, Petrov DA, Rabinowitz M. Effects of maternal age on euploidy rates in a large cohort of embryos analyzed with 24-chromosome single-nucleotide polymorphism–based preimplantation genetic screening. *Fertil Steril*. 2016;105(5):1307-13.
13. Vagnini LD, Petersen CG, Renzi A, Dieamant F, Oliveira JBA, Oliani AH, et al. Relationship between age and blastocyst chromosomal ploidy analyzed by noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidies (niPGT-A). *JBRA Assist Reprod*. 2020;24(4):395-9.

14. La Marca A, Capuzzo M, Imbrogno MG, Donno V, Spedicato GA, Sacchi S, et al. The complex relationship between female age and embryo euploidy. *Minerva Obstet Gynecol.* 2021;73(1):103-10.
15. The unexplained infertility guideline group, Romualdi D, Ata B, Bhattacharya S, Bosch E, Costello M, et al. Evidence based guideline: Unexplained infertility. [Internet]. 2023. Disponible en: <https://www.eshre.eu/guideline/UI>
16. Bruna Catalán I, Sánchez de Rivera Colino MD, Collado Ramos Ó. Estudio inicial de reproducción: Pareja con disfunción reproductiva. Madrid: Sociedad Española de Fertilidad; 2021.
17. ESHRE Working Group on Recurrent Implantation Failure, Cimadomo D, De Los Santos MJ, Griesinger G, Lainas G, Le Clef N, et al. ESHRE good practice recommendations on recurrent implantation failure. *Hum Reprod Open.* 1 de junio de 2023;2023(3):hoad023.
18. Simón C, Horcajadas JA, García-Velasco JA, Pellicer A. El Endometrio Humano: Desde la investigación a la clínica. 1.<sup>a</sup> ed. España: Editorial Médica Panamericana S.A.; 2009. 238 p.
19. Ashary N, Tiwari A, Modi D. Embryo Implantation: War in Times of Love. *Endocrinology.* 2018;159(2):1188-98.
20. Ticconi C, Di Simone N, Campagnolo L, Fazleabas A. Clinical consequences of defective decidualization. *Tissue Cell.* 2021;72:101586.
21. Cowling P, McCoy DR, Marshall RJ, Padfield CJH, Reeves DS. Bacterial colonization of the non-pregnant uterus: A study of pre-menopausal abdominal hysterectomy specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1992;11(2):204-5.
22. Møller BR, Kristiansen FV, Thorsen P, Frost L, Mogensen SC. Sterility of the uterine cavity. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1995;74:216-91.
23. Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez-Almazán J, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215(6):684-703.
24. Mitchell CM, Haick A, Nkwopara E, Garcia R, Rendi M, Agnew K, et al. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212(5):611.e1-611.e9.
25. Kyono K, Hashimoto T, Nagai Y, Sakuraba Y. Analysis of endometrial microbiota by 16S ribosomal RNA gene sequencing among infertile patients: a single-center pilot study. *Reprod Med Biol.* 2018;17(3):297-306.
26. Calman RM, Gibson J. The bacteriology of the puerperal uterus. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* 1954;61(5):623-7.
27. Ansbacher R, Boyson WA, Morris JA. Sterility of the uterine cavity. *Am J Obstet Gynecol.* 1967;99(3):394-6.
28. The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012;486(7402):207-14.

29. Franasiak JM, Werner MD, Juneau CR, Tao X, Landis J, Zhan Y, et al. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit. *J Assist Reprod Genet.* 2016;33(1):129-36.
30. Wang Q, Sun Y, Fan R, Wang M, Ren C, Jiang A, et al. Role of inflammatory factors in the etiology and treatment of recurrent implantation failure. *Reprod Biol.* 2022;22(4):100698.
31. Ojosnegros S, Seriola A, Godeau AL, Veiga A. Embryo implantation in the laboratory: an update on current techniques. *Hum Reprod Update.* 2021;27(3):501-30.
32. Paul ABM, Sadek ST, Mahesan AM. The role of microRNAs in human embryo implantation: a review. *J Assist Reprod Genet.* 2019;36(2):179-87.
33. Franasiak JM, Alecsandru D, Forman EJ, Gemmell LC, Goldberg JM, Llarena N, et al. A review of the pathophysiology of recurrent implantation failure. *Fertil Steril.* 2021;116(6):1436-48.
34. Mascarenhas M, Jeve Y, Polanski L, Sharpe A, Yasmin E, Bhandari HM. Management of recurrent implantation failure: British Fertility Society policy and practice guideline. *Hum Fertil Camb Engl.* 2022;25(5):813-37.
35. Shaulov T, Sierra S, Sylvestre C. Recurrent implantation failure in IVF: A Canadian Fertility and Andrology Society Clinical Practice Guideline. *Reprod Biomed Online.* 2020;41(5):819-33.
36. Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Lepera A, Alfonso R, Indraccolo U, et al. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum Reprod.* 2015;30(2):323-30.
37. Greenwood S, Moran J. Chronic endometritis: morphologic and clinical observations. *Obstet gynecol.* 1981;(58):176-84.
38. Chen Y qing, Fang R li, Luo Y na, Luo C qiao. Analysis of the diagnostic value of CD138 for chronic endometritis, the risk factors for the pathogenesis of chronic endometritis and the effect of chronic endometritis on pregnancy: a cohort study. *BMC Womens Health.* 2016;16(1):60.
39. Moreno I, Cicinelli E, Garcia-Grau I, Gonzalez-Monfort M, Bau D, Vilella F, 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.
40. Cicinelli E, De Ziegler D, Nicoletti R, Colafiglio G, Saliani N, Resta L, et al. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. *Fertil Steril.* marzo de 2008;89(3):677-84.
41. Cicinelli E, De Ziegler D, Nicoletti R, Tinelli R, Saliani N, Resta L, et al. Poor Reliability of Vaginal and Endocervical Cultures for Evaluating Microbiology of Endometrial Cavity in Women with Chronic Endometritis. *Gynecol Obstet Invest.* 2009;68(2):108-15.
42. 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):251-7.

43. Baker JM, Al-Nakkash L, Herbst-Kralovetz MM. Estrogen–gut microbiome axis: Physiological and clinical implications. *Maturitas*. 2017;103:45-53.
44. Kushnir VA, Solouki S, Sarig-Meth T, Vega MG, Albertini DF, Darmon SK, et al. Systemic Inflammation and Autoimmunity in Women with Chronic Endometritis. *Am J Reprod Immunol*. 2016;75(6):672-7.
45. Cicinelli E, Trojano G, Mastromauro M, Vimercati A, Marinaccio M, Mitola PC, et al. Higher prevalence of chronic endometritis in women with endometriosis: a possible etiopathogenetic link. *Fertil Steril*. 2017;108(2):289-295.e1.
46. Takebayashi A, Kimura F, Kishi Y, Ishida M, Takahashi A, Yamanaka A, et al. The Association between Endometriosis and Chronic Endometritis. Critchley HOD, editor. *PLoS ONE*. 2014;9(2):e88354.
47. Holzer I, Ott J, Kurz C, Hofstetter G, Hager M, Kuessel L, et al. Is Chronic Endometritis Associated with Tubal Infertility? A Prospective Cohort Study. *J Minim Invasive Gynecol*. 2021;28(11):1876-81.
48. Koninckx PR, Ussia A, Tahlak M, Adamyan L, Wattiez A, Martin DC, et al. Infection as a potential cofactor in the genetic-epigenetic pathophysiology of endometriosis: a systematic review. *Facts Views Vis ObGyn*. 2019;11(3):209-16.
49. Pinto V, Matteo M, Tinelli R, Mitola PC, De Ziegler D, Cicinelli E. Altered uterine contractility in women with chronic endometritis. *Fertil Steril*. 2015;103(4):1049-52.
50. Nobuta Y, Tsuji S, Kitazawa J, Hanada T, Nakamura A, Zen R, et al. Decreased Fertility in Women with Cesarean Scar Syndrome Is Associated with Chronic Inflammation in the Uterine Cavity. *Tohoku J Exp Med*. 2022;258(3):237-42.
51. Liu L, Yang H, Guo Y, Yang G, Chen Y. The impact of chronic endometritis on endometrial fibrosis and reproductive prognosis in patients with moderate and severe intrauterine adhesions: a prospective cohort study. *Fertil Steril*. 2019;111(5):1002-1010.e2.
52. Chen Y, Liu L, Luo Y, Chen M, Huan Y, Fang R. Prevalence and Impact of Chronic Endometritis in Patients With Intrauterine Adhesions: A Prospective Cohort Study. *J Minim Invasive Gynecol*. 2017;24(1):74-9.
53. Peng J, Guo F, Liu H, Gu Z, Zeng Z, Li M, et al. Correlation between hysteroscopy findings in patients with hydrosalpinx and chronic endometritis. *Int J Gynecol Obstet*. 2022;157(2):471-5.
54. Song D, Feng X, Zhang Q, Xia E, Xiao Y, Xie W, et al. Prevalence and confounders of chronic endometritis in premenopausal women with abnormal bleeding or reproductive failure. *Reprod Biomed Online*. 2018;36(1):78-83.
55. Park HJ, Kim YS, Yoon TK, Lee WS. Chronic endometritis and infertility. *Clin Exp Reprod Med*. 2016;43(4):185.
56. Cicinelli E, Matteo M, Trojano G, Mitola PC, Tinelli R, Vitagliano A, et al. Chronic endometritis in patients with unexplained infertility: Prevalence and effects of antibiotic treatment on spontaneous conception. *Am J Reprod Immunol*. 2018;79(1):e12782.

57. McQueen DB, Maniar KP, Hutchinson A, Confino R, Bernardi L, Pavone ME. Redefining chronic endometritis: the importance of endometrial stromal changes. *Fertil Steril.* 2021;116(3):855-61.
58. McQueen DB, Perfetto CO, Hazard FK, Lathi RB. Pregnancy outcomes in women with chronic endometritis and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2015;104(4):927-31.
59. Zargar M, Ghafourian M, Nikbakht R, Mir Hosseini V, Moradi Choghakabodi P. Evaluating Chronic Endometritis in Women with Recurrent Implantation Failure and Recurrent Pregnancy Loss by Hysteroscopy and Immunohistochemistry. *J Minim Invasive Gynecol.* 2020;27(1):116-21.
60. Qiao X, Wu L, Liu D, Pei T, Huang W. Existence of chronic endometritis and its influence on pregnancy outcomes in infertile women with minimal/mild endometriosis. *Int J Gynecol Obstet.* 2023;160(2):628-34.
61. Hirata K, Kimura F, Nakamura A, Kitazawa J, Morimune A, Hanada T, et al. Histological diagnostic criterion for chronic endometritis based on the clinical outcome. *BMC Womens Health.* 2021;21(1):94.
62. Chen P, Chen P, Guo Y, Fang C, Li T. Interaction Between Chronic Endometritis Caused Endometrial Microbiota Disorder and Endometrial Immune Environment Change in Recurrent Implantation Failure. *Front Immunol.* 2021;12:748447.
63. Buzzaccarini G, Vitagliano A, Andrisani A, Santarsiero CM, Cicinelli R, Nardelli C, et al. Chronic endometritis and altered embryo implantation: a unified pathophysiological theory from a literature systematic review. *J Assist Reprod Genet.* 2020;37(12):2897-911.
64. Bayer-Garner IB, Korourian S. Plasma Cells in Chronic Endometritis are Easily Identified When Stained with Syndecan-1. *Mod Pathol.* 2001;14(9):877-9.
65. Kitazawa J, Kimura F, Nakamura A, Morimune A, Hanada T, Amano T, et al. Alteration in endometrial helper T-cell subgroups in chronic endometritis. *Am J Reprod Immunol.* 2021;85(3):e13372.
66. Li Y, Xu S, Yu S, Huang C, Lin S, Chen W, et al. Diagnosis of chronic endometritis: How many CD138+cells/HPF in endometrial stroma affect pregnancy outcome of infertile women? *Am J Reprod Immunol.* 2021;85(5):e13369.
67. Puente E, Alonso L, Laganà AS, Ghezzi F, Casarin J, Carugno J. Chronic Endometritis: Old Problem, Novel Insights and Future Challenges. *Int J Fertil Steril.* 2020;13(4):250-6.
68. Akopians A, Pisarska M, Wang E. The Role of Inflammatory Pathways in Implantation Failure: Chronic Endometritis and Hydrosalpinges. *Semin Reprod Med.* 2015;33(04):298-304.
69. Cicinelli E, Vitagliano A, Loizzi V, De Ziegler D, Fanelli M, Bettocchi S, et al. Altered Gene Expression Encoding Cytokines, Growth Factors and Cell Cycle Regulators in the Endometrium of Women with Chronic Endometritis. *Diagnostics.* 2021;11(3):471.
70. Tortorella C, Piazzolla G, Matteo M, Pinto V, Tinelli R, Sabbà C, et al. Interleukin-6, interleukin-1 $\beta$ , and tumor necrosis factor  $\alpha$  in menstrual effluents as biomarkers of chronic endometritis. *Fertil Steril.* 2014;101(1):242-7.

71. Wu D, Kimura F, Zheng L, Ishida M, Niwa Y, Hirata K, et al. Chronic endometritis modifies decidualization in human endometrial stromal cells. *Reprod Biol Endocrinol*. 2017;15(1):16.
72. Cicinelli E, Bettocchi S, De Ziegler D, Loizzi V, Cormio G, Marinaccio M, et al. Chronic Endometritis, a Common Disease Hidden Behind Endometrial Polyps in Premenopausal Women: First Evidence From a Case-Control Study. *J Minim Invasive Gynecol*. 2019;26(7):1346-50.
73. Liu Y, Chen X, Huang J, Wang CC, Yu MY, Laird S, et al. Comparison of the prevalence of chronic endometritis as determined by means of different diagnostic methods in women with and without reproductive failure. *Fertil Steril*. 2018;109(5):832-9.
74. Xu Y, Mei J, Diao L, Li Y, Ding L. Chronic endometritis and reproductive failure: Role of syndecan-1. *Am J Reprod Immunol*. 2020;84(3):e13255.
75. Kasius JC, Broekmans FJM, Sie-Go DMDS, Bourgain C, Eijkemans MJC, Fauser BC, et al. The reliability of the histological diagnosis of endometritis in asymptomatic IVF cases: a multicenter observer study. *Hum Reprod*. 2012;27(1):153-8.
76. Parks RN, Kim CJ, Al-Safi ZA, Armstrong AA, Zore T, Moatamed NA. Multiple Myeloma 1 Transcription Factor Is Superior to CD138 as a Marker of Plasma Cells in Endometrium. *Int J Surg Pathol*. 2019;27(4):372-9.
77. Cicinelli E, Haimovich S, De Ziegler D, Raz N, Ben-Tzur D, Andrisani A, et al. MUM-1 immunohistochemistry has high accuracy and reliability in the diagnosis of chronic endometritis: a multi-centre comparative study with CD-138 immunostaining. *J Assist Reprod Genet*. 2022;39(1):219-26.
78. Rimmer MP, Fishwick K, Henderson I, Chinn D, Al Wattar BH, Quenby S. Quantifying CD138 + cells in the endometrium to assess chronic endometritis in women at risk of recurrent pregnancy loss: A prospective cohort study and rapid review. *J Obstet Gynaecol Res*. 2021;47(2):689-97.
79. Xiong Y, Chen Q, Chen C, Tan J, Wang Z, Gu F, et al. Impact of oral antibiotic treatment for chronic endometritis on pregnancy outcomes in the following frozen-thawed embryo transfer cycles of infertile women: a cohort study of 640 embryo transfer cycles. *Fertil Steril*. 2021;116(2):413-21.
80. Margulies SL, Dhingra I, Flores V, Hecht JL, Fadare O, Pal L, et al. The Diagnostic Criteria for Chronic Endometritis: A Survey of Pathologists. *Int J Gynecol Pathol*. 2021;40(6):556-62.
81. Ryan E, Tolani AT, Zhang J, Cruz GI, Folkins AK, Lathi RB. The menstrual cycle phase impacts the detection of plasma cells and the diagnosis of chronic endometritis in endometrial biopsy specimens. *Fertil Steril*. 2022;118(4):787-94.
82. Bouet PE, El Hachem H, Monceau E, Gariépy G, Kadoch IJ, Sylvestre C. Chronic endometritis in women with recurrent pregnancy loss and recurrent implantation failure: prevalence and role of office hysteroscopy and immunohistochemistry in diagnosis. *Fertil Steril*. 2016;105(1):106-10.
83. Tsonis O, Gkrozou F, Dimitriou E, Paschopoulos M. Hysteroscopic detection of chronic endometritis: Evaluating proposed hysteroscopic features suggestive of chronic endometritis. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2021;50(9):102182.

84. Cicinelli E, Resta L, Nicoletti R, Tartagni M, Marinaccio M, Bulletti C, et al. Detection of chronic endometritis at fluid hysteroscopy. *J Minim Invasive Gynecol*. 2005;12(6):514-8.
85. Cicinelli E, Vitagliano A, Kumar A, Lasmar RB, Bettocchi S, Haimovich S, et al. Unified diagnostic criteria for chronic endometritis at fluid hysteroscopy: proposal and reliability evaluation through an international randomized-controlled observer study. *Fertil Steril*. 2019;112(1):162-173.e2.
86. Cicinelli E, Tinelli R, Lepera A, Pinto V, Fucci M, Resta L. Correspondence between hysteroscopic and histologic findings in women with chronic endometritis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2010;89(8):1061-5.
87. Song D, Li TC, Zhang Y, Feng X, Xia E, Huang X, et al. Correlation between hysteroscopy findings and chronic endometritis. *Fertil Steril*. 2019;111(4):772-9.
88. Chen C, Song X, Wei W, Zhong H, Dai J, Lan Z, et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun*. 2017;8(1):875.
89. Cicinelli E, McQueen DB, Huepfel B, Vitagliano A, Moreno I, Simon C, et al. Should patients be screened for chronic endometritis before assisted reproductive technology? *Fertil Steril*. 2022;118(4):639-52.
90. Kitaya K, Matsubayashi H, Takaya Y, Nishiyama R, Yamaguchi K, Takeuchi T, et al. Live birth rate following oral antibiotic treatment for chronic endometritis in infertile women with repeated implantation failure. *Am J Reprod Immunol*. 2017;78(5):e12719.
91. Vitagliano A, Saccardi C, Noventa M, Di Spiezio Sardo A, Saccone G, Cicinelli E, et al. Effects of chronic endometritis therapy on in vitro fertilization outcome in women with repeated implantation failure: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2018;110(1):103-112.e1.
92. Song D, He Y, Wang Y, Liu Z, Xia E, Huang X, et al. Impact of antibiotic therapy on the rate of negative test results for chronic endometritis: a prospective randomized control trial. *Fertil Steril*. 2021;115(6):1549-56.
93. Cicinelli E, Resta L, Loizzi V, Pinto V, Santarsiero C, Cicinelli R, et al. Antibiotic therapy versus no treatment for chronic endometritis: a case-control study. *Fertil Steril*. 2021;115(6):1541-8.
94. M Victoria Hurtado de Mendoza y Acosta, Jorge Cuadros Fernández. Criterios ASEBIR de valoración morfológica de Oocitos, Embriones Tempranos y Bastocistos Humanos. 3°. 2015. 98 p. (Cuadernos de embriología clínica).
95. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33(1):159-74.
96. Liu H, Song J, Zhang F, Li J, Kong W, Lv S, et al. A New Hysteroscopic Scoring System for Diagnosing Chronic Endometritis. *J Minim Invasive Gynecol*. 2020;27(5):1127-32.
97. Demirdag E, Guler I, Cevher Akdulum MF, Sahin E, Erdem O, Erdem A, et al. Subsequent IVF outcomes following antibiotic therapy for chronic endometritis in patients with recurrent implantation failure. *J Obstet Gynaecol Res*. 2021;47(12):4350-6.

98. Liu W juan, Huang J, Sun L, Huang L, Zhang Q yu, Nong Y qi, et al. New biopsy after antibiotic treatment: effect on outcomes of assisted reproduction in patients with infertility and chronic endometritis. *Reprod Biomed Online*. 2022;45(6):1167-75.
99. Kitaya K, Tanaka SE, Sakuraba Y, Ishikawa T. Multi-drug-resistant chronic endometritis in infertile women with repeated implantation failure: trend over the decade and pilot study for third-line oral antibiotic treatment. *J Assist Reprod Genet*. 2022;39(8):1839-48.
100. Gkrozou F, Tsonis O, Dimitriou E, Paschopoulos M. In women with chronic or subclinical endometritis is hysteroscopy suitable for setting the diagnosis? A systematic review. *J Obstet Gynaecol Res*. 2020;46(9):1639-50.
101. Luncan M, Huniadi A, Bimbo-Szuhai E, Botea M, Zaha I, Stefan L, et al. The effectiveness of intrauterine antibiotic infusion versus oral antibiotic therapy in the treatment of chronic endometritis in patients during IVF (in vitro fertilization) procedures. *BMC Womens Health*. 2022;22(1):529.
102. Pantos K, Simopoulou M, Maziotis E, Rapani A, Grigoriadis S, Tsioulou P, et al. Introducing intrauterine antibiotic infusion as a novel approach in effectively treating chronic endometritis and restoring reproductive dynamics: a randomized pilot study. *Sci Rep*. 2021;11(1):15581.
103. Cheng X, Huang Z, Xiao Z, Bai Y. Does antibiotic therapy for chronic endometritis improve clinical outcomes of patients with recurrent implantation failure in subsequent IVF cycles? A systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2022;39(8):1797-813.
104. Vitagliano A, Laganà AS, De Ziegler D, Cicinelli R, Santarsiero CM, Buzzaccarini G, et al. Chronic Endometritis in Infertile Women: Impact of Untreated Disease, Plasma Cell Count and Antibiotic Therapy on IVF Outcome—A Systematic Review and Meta-Analysis. *Diagnostics*. 2022;12(9):2250.
105. Dahan MH, Zeadna A, Dahan D, Son WY, Steiner N. The biochemical pregnancy loss rate remains stable up irrespective of age and differs in pattern from clinical miscarriages. *Gynecol Endocrinol*. 2021;37(1):61-4.

# ANEXOS



ANEXO 1: DICTAMEN FAVORABLE CEIM HM HOSPITALES

## INFORME DEL CEIm de HM Hospitales

La Dra. Almudena Lage, Secretaria del Comité Ético de Investigación con medicamentos de HM Hospitales

### CERTIFICA

Que el Comité HM Hospitales, ha evaluado en su reunión del 9 de octubre de 2019, Acta nº 165, la propuesta de la Fundación de Investigación HM, para que se realice el proyecto titulado:

**Correlación de métodos diagnósticos y tasa de resolución del tratamiento antibiótico en pacientes con fallo de implantación diagnosticadas de endometritis crónica. Estudio prospectivo serie de casos.**

Código CEIm HM Hospitales: 19.04.1409-GHM

- Proyecto Tesis versión 1
- Hoja Informativa versión y Consentimiento Informado versión de 16 de octubre de 2016

Y habiendo valorado el proyecto desde un punto de vista ético y metodológico, y la respuesta a las aclaraciones, emite un **DICTAMEN FAVORABLE**, para que se realice el proyecto en el servicio de HM Fertility Center, de los Hospitales Universitarios HM, siendo el Investigador principal la Dra. Ana Vegas Carrillo de Albornoz.

Que el CEIm de HM Hospitales, tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento

Miembros que pertenecen al Comité:

- Dr. Alfonso Moreno González, especialista en Farmacología Clínica
- Dr. Santiago Ruiz de Aguiar, especialista en Farmacología Clínica
- Dra. Almudena Lage Moreda, Licenciada en Medicina y Cirugía
- Dña. Raquel Alcántara Partido, Licenciada en Farmacia
- Dra. María José Ferreiro, especialista en Neumología
- Dr. José Felipe Varona, especialista en Medicina Interna
- Dr. Eduardo García Rico, especialista en Oncología
- Dr. Miguel Ángel Reina, especialista en Anestesiología y Reanimación
- Dra. María Teresa Curiel García especialista en Oncología
- Don Juan Carpio, Diplomado en Enfermería
- Dra. Elena Sevillano, especialista en Oncología
- Dr. César G. Muñoz Sánchez-Miguel, especialista en Oncología
- Dr. Jordi Remón Masip, especialista en Oncología
- Dña. Carmen Rojo, especialista en Farmacia Hospitalaria
- Dña. María Ortiz, especialista en Farmacia Hospitalaria
- Dña. M<sup>a</sup>. Teresa Espina Castrillo, Licenciada en Derecho, Dpto. Jurídico de HM Hospitales y vicepresidenta del CEAS de HM Hospitales
- Don Ignacio García Gómez. Licenciado en Derecho
- Dña. Ofelia de Lorenzo, Licenciada en Derecho
- Dña. Gema Jiménez Jiménez. Licenciada en Derecho. HM Hospitales
- Dña. Noelia Pérez Domínguez, Farmacéutica de Atención Primaria

CEIm HM Hospitales

Que en dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum preceptivo legalmente.  
Que en caso de evaluar algún proyecto en el que un miembro es investigador/colaborador, éste se ausenta de la reunión durante la discusión del mismo.

Lo que firmo en Madrid, a 16 de octubre de 2019.



Fdo. Dra. Almudena Lage  
Secretaría CEIm HM Hospitales

LAGE MOREDA  
ALMUDENA -  
05402139Z

Firmado digitalmente por LAGE  
MOREDA ALMUDENA - 05402139Z  
Fecha: 2019.10.16 22:58:41 +02'00'

## INFORME DE LA COMISIÓN EJECUTIVA I+D+I. FUNDACIÓN DE INVESTIGACIÓN HM HOSPITALES

D. Fernando Gómez Hermoso, Secretario de la Comisión Ejecutiva de I+D+i:

### CERTIFICA

Que una vez reunido la Comisión Ejecutiva de I+D+i Fundación de Investigación HM Hospitales, ha evaluado, para que se realice el proyecto de investigación titulado:

*“Correlación de métodos diagnósticos y tasa de resolución del tratamiento antibiótico en pacientes con fallo de implantación diagnosticadas de endometritis crónica. Estudio prospectivo serie de casos”.*

Código interno del proyecto: 35\_19

Y habiendo valorado el proyecto desde un punto de vista científico y metodológico se emite un **DICTAMEN FAVORABLE** para que se realice el proyecto por la *Dra. Ana Vegas* perteneciente a Unidad de Obstetricia y Ginecología.

Miembros que pertenecen al Comité:

Dr. Jesús Peláez  
Dr. Fernando López-Ríos  
Dr. Ángel Ayuso  
Dr. José María Castellano  
Dra. Laura Rodríguez  
Dra. Ledia Fernández  
Dr. Jesús Rodríguez  
Dr. Javier Muñiz  
Dr. Juan Carpio  
D. Fernando Gómez

Que, en dicha reunión, la Comisión Ejecutiva de I+D+i Fundación de Investigación HM Hospitales cumplió el quórum preceptivo legalmente establecido.

Que en caso de evaluar algún proyecto en el que un miembro es investigador/colaborador, éste se ausenta de la reunión durante la discusión del mismo.

Lo que firmo en Madrid a 07/11/2019



Fernando Gómez Hermoso

Secretaría CEIDI-FiHM

ANEXO 2: DICTAMEN FAVORABLE CEIM HOSPITAL RUBER INTERNACIONAL

Comité de Ética en Investigación Clínica.

Hospital RUBER Internacional.

Sa-16032 / 19 - EC: 394

## DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Don José Domingo García Labajo.

Secretario del CEIC del Hospital RUBER Internacional.

### CERTIFICA

Que el Comité de Ética en Investigación Clínica del Hospital Ruber Internacional ha evaluado la propuesta de la **Dra. Elena Carrillo y del Prof. Dr. Isidoro Bruna Catalán**, para que se realice el proyecto de investigación:

Título: ***“Correlación de métodos diagnósticos y tasa de resolución del tratamiento antibiótico en pacientes con fallo de implantación diagnosticadas de endometritis crónica. Estudio prospectivo serie de casos.”***

En el que figuran como investigador principal la **Dra. Ana Vegas Carrillo de Albornoz** del Servicio de ***“Ginecología”***.

Y este Comité considera que:

El proyecto respeta los principios fundamentales expuestos en la declaración de Helsinki de 1964 de la Organización Médica Mundial y sus versiones posteriores y los del Convenio del Consejo de Europa de 1996 relativos a los Derechos Humanos y la Investigación Biomédica, cumpliendo los requisitos de la normativa legal que pudiera afectarle y su realización es pertinente.

La capacidad del investigador y sus colaboradores, y las instalaciones y medios disponibles, tal y como ha sido informado, son apropiados para llevar a cabo el estudio; habiendo demostrado los autores conocer suficientemente los antecedentes y el estado actual del tema que proponen investigar.

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio; la metodología propuesta es adecuada y están justificados los riesgos y molestias previsibles para los participantes, teniendo en cuenta los beneficios esperados.

Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.

El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Por lo que se hace constar la viabilidad y procedencia en todos sus términos del proyecto de investigación, estimando que los resultados alcanzados pueden ser de gran interés.

Este CEIC acepta que dicho estudio sea realizado en nuestro Hospital por la Dra . Ana Vegas y sus investigadores colaboradores.

---

Informe del EC: ***“Correlación de métodos diagnósticos y tasa de resolución del tratamiento antibiótico en pacientes con fallo de implantación diagnosticadas de endometritis crónica. Estudio prospectivo serie de casos.”***

CEIC –RUBER Internacional.

Comité de Ética en Investigación Clínica.

Hospital RUBER Internacional.

**HACE CONSTAR QUE:**

1. En la reunión celebrada el día 04/11/2019, acta 212, se decidió emitir el informe correspondiente al estudio de referencia.
2. En dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente - Real Decreto 223/2004 de 6 de febrero – para que la decisión del citado CEIC sea válida.
3. En esta evaluación se observaron además los requisitos establecidos por el Real Decreto 1591/2009, de 16 de octubre, por el que se regulan los productos sanitarios (BOE núm. 268, de 6 noviembre)
4. El CEIC, tanto en su composición, como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH 135/95).
5. La composición actual del CEIC es la siguiente:
  - Dra. Dña. Mercedes Cuesta Nuin (Directora Médico) Presidenta.
  - Dr. D. Javier Román García (Oncología Médica) Vicepresidente.
  - Dra. Dña. Celia García Menéndez (Adjunta a Dirección. Experta en Seguridad del Paciente)
  - Dra. Dña. Mª Mar García Arenillas (Farmacólogo Clínico) Ajeno a H.R.I.
  - Dra. Dña. Beatriz Casamayor Lázaro (Farmacia Hospitalaria).
  - Dña. Esther Rodríguez Muñiz (Enfermera Supervisora de Maternidad).
  - Dr. D. Jesús Esteban Pérez (Neurología)
  - D. Isidro Díaz de Bustamante y Terminel (Doctor en Derecho).
  - D. Carlos Padilla Méndez (Representante de los Pacientes) Ajeno a H.R.I.
  - Dr. D. Nicolás Llobregat Poyán (Cirujano Torácico)
  - Dra . Dña. Jimena Ramón García (Farmacéutica de Atención Primaria) Ajeno a H.R.I-
  - Dr. D. José Domingo García Labajo (Medicina Intensiva) Secretario.
6. Los documentos evaluados y aceptados son
  - **Protocolo (En- 16005 /2-394)** V 01 de 29Octubre2019
  - **Hoja Información (En- 16006 /3-394)** V 01 de 29Octubre2019

Para que conste donde proceda y a petición del promotor.

Madrid a 11 de Noviembre de 2019

Firmado: José Domingo García Labajo

**GARCIA LABAJO** Firmado digitalmente  
**JOSE DOMINGO** por GARCIA LABAJO JOSE  
**- 50405817Y** DOMINGO - 50405817Y  
Fecha: 2019.11.20  
19:53:27 +01'00'

Informe del EC: *"Correlación de métodos diagnósticos y tasa de resolución del tratamiento antibiótico en pacientes con fallo de implantación diagnosticadas de endometritis crónica. Estudio prospectivo serie de casos."*

CEIC –RUBER Internacional.



## HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** ENDOMETRITIS CRÓNICA EN PACIENTES CON FALLO DE IMPLANTACIÓN RECURRENTE: DIAGNÓSTICO, TRATAMIENTO Y PRONÓSTICO REPRODUCTIVO.

**INVESTIGADORES PRINCIPALES:** Isidoro Bruna Catalán y Ana Vegas Carrillo de Albornoz

**CENTROS:** HM Fertility Center Hospital Universitario HM Montepríncipe, HM Fertility Center Hospital Universitario HM Puerta del Sur, Hospital Ruber Internacional.

**CONTACTO:** anavegasca@gmail.com.

### INTRODUCCIÓN

Nos dirigimos a usted para solicitar su consentimiento para la utilización de muestras biológicas con fines de investigación médica. El objetivo de este documento es informarle sobre el estudio en el cual se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Investigación de HM Hospitales y del Hospital Ruber Internacional, de acuerdo a la legislación vigente, y se lleva a cabo con respeto a los principios enunciados en la declaración del Helsinki y a las normas de buena práctica clínica.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno. Si tiene alguna duda diríjase, por favor, a la Dra Ana Vegas Carrillo de Albornoz, cuyo correo electrónico figura más arriba.

### PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar, o cambiar su decisión y retirar el consentimiento para la utilización de la muestra en cualquier momento, así como solicitar la destrucción de la muestra sin que por ello se altere la relación con su médico. Si usted decide revocar su consentimiento, no se realizarán nuevos análisis de la muestra, pero esta revocación no afectará a las investigaciones realizadas hasta el momento.

## **DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:**

La endometritis crónica es una entidad de gran relevancia en mujeres con fallo reproductivo, que se ha relacionado especialmente con pacientes que presentan fallos repetidos de implantación o abortos de repetición, con una prevalencia entre el 14-20%.

La endometritis crónica consiste en una inflamación persistente de la capa interna del útero, el endometrio, que cursa en la mayoría de los casos de forma asintomática. Su causa más frecuente es la presencia de microorganismos en el endometrio.

Esta alteración no se puede diagnosticar mediante pruebas de imagen como la ecografía o la histerosonografía, ya que no produce alteraciones morfológicas en el útero. Para su diagnóstico es necesario el estudio de una muestra de endometrio. Esta muestra puede ser obtenida bien, mediante una cánula de biopsia, o bien, por histeroscopia con visión directa de la cavidad endometrial. La confirmación diagnóstica se establece mediante el análisis al microscopio de una muestra endometrial en la que se confirme la presencia de un tipo de células que aparecen en situaciones de inflamación llamadas células plasmáticas.

### **Histeroscopia diagnóstica**

La histeroscopia es un método muy usual de cirugía ambulatoria que consiste en la introducción a través del canal cervical hasta la cavidad uterina de un dispositivo llamado histeroscopio. Mediante una cámara y un haz de luz que lleva incorporados, permite la visión directa de la cavidad. Para poder tener una visión adecuada de la cavidad es necesaria su distensión, que se logra introduciendo suero salino fisiológico.

El análisis histeroscópico de la cavidad endometrial se lleva a cabo de forma rutinaria (siendo un protocolo internacionalmente aceptado), para el estudio de pacientes con fallo repetido de implantación, en orden a poder identificar posibles alteraciones como pólipos, miomas o malformaciones uterinas.

Se han descrito, además, una serie de imágenes histeroscópicas características que se asocian al diagnóstico de endometritis crónica.

Es un procedimiento seguro que se realiza habitualmente de manera ambulatoria, sin necesidad de utilizar anestesia. La histeroscopia, que como hemos señalado es un procedimiento de rutina en la práctica clínica habitual, como todos los procedimientos quirúrgicos, conlleva un riesgo mínimo e infrecuente de perforación uterina, sangrado o infección.

### **Muestra endometrial**

Como ya se ha comentado anteriormente, para determinar el diagnóstico de endometritis crónica es necesario analizar una muestra de endometrio. Para obtener esta muestra se emplea un catéter muy delgado, que se introduce a través del cuello del útero, mediante el cual, por succión, se extraerá una pequeña porción de tejido endometrial.

Las posibles complicaciones que pueden suceder secundariamente la toma de una muestra endometrial, más infrecuentes y escasas, serían también perforación uterina, sangrado o infección.

Esta muestra endometrial se analizará mediante tres diferentes técnicas:

1. **Estudio anatomopatológico:** consiste en el análisis de la muestra al microscopio para descartar la presencia de células anómalas. Permite la identificación de células plasmáticas.
2. **Cultivo endometrial:** técnica clásica que permite la identificación de microorganismos.
3. **Detección de microorganismos mediante técnicas moleculares,** que permite detectar microorganismos que no se pueden identificar mediante las técnicas de cultivo clásicas, algunos de los cuales se asocian con el diagnóstico de endometritis crónica.

De este modo, en dos pasos, la histeroscopia y la toma de muestra endometrial, tendremos 4 pruebas que nos podrán orientar hacia el diagnóstico de la endometritis crónica:

1. Histeroscopia.
2. Estudio anatomopatológico.
3. Cultivo endometrial.
4. Detección de microorganismos por técnicas moleculares.

### **Tratamiento de la endometritis crónica**

La principal causa de endometritis crónica es la presencia de microorganismos en el endometrio, por tanto, el tratamiento recomendado es antibiótico. Numerosos estudios demuestran que el tratamiento y resolución de la endometritis crónica en pacientes con fallo reproductivo diagnosticadas de endometritis mejora las tasas de gestación y de recién nacido vivo en casa.

En cuanto a la pauta antibiótica, en aquellas pacientes con cultivo positivo, se recomendará un antibiótico que se halla demostrado eficaz en el antibiograma contra el microorganismo en concreto.

## **OBJETIVO DEL ESTUDIO**

El objetivo de nuestro trabajo es analizar la correlación entre los hallazgos histeroscópicos, el cultivo tradicional y el diagnóstico molecular con el diagnóstico confirmado de endometritis crónica determinado por la presencia de células plasmáticas en muestras endometriales.

Se llevará a cabo en las Unidades de Reproducción de los Hospitales Universitarios HM Montepríncipe, HM Puerta del Sur y Ruber Internacional.

A la finalización del estudio las muestras serán destruidas.

## **CONFIDENCIALIDAD DE LOS DATOS**

Siempre se mantendrán los niveles más altos de conducta profesional y confidencialidad y se cumplirá la legislación de la Unión Europea vigente sobre protección de datos (Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD)). Sólo aquellos datos de la historia clínica que estén relacionados con el estudio serán objeto de comprobación. El derecho de los pacientes a la confidencialidad será respetado. Para ello se disociará la información de los sujetos de estudio usando códigos. El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio y sus colaboradores, autoridades sanitarias y Comité Ético de Investigación, quienes estarán sometidos al deber de secreto inherente a su profesión, cuando lo precisen, para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente. La identidad de los pacientes se codificará en los documentos utilizados para la recogida de datos del estudio mediante un número sobre el cual se trabajará (obviamente omitiendo el nombre y/u otros datos de filiación que lo pudiesen identificar al paciente) y sólo personal debidamente autorizado tendrá acceso a los datos personales identificables cuando los procedimientos de verificación de datos exijan la inspección de esa información. Los detalles personales que pudieran identificar al paciente serán siempre confidenciales.

En cumplimiento de las normas vigentes se procederá a obtener la aprobación por parte del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital, de forma que sus derechos y grado de atención estén siempre garantizados.

Además de los derechos que ya conoce (acceso, modificación, oposición y cancelación de datos), el paciente ahora también puede limitar el tratamiento de datos que sean incorrectos, solicitar una copia o que se trasladen a un tercero (portabilidad) los datos que ha facilitado para el estudio. Los datos no se pueden eliminar aunque deje de participar en el ensayo para garantizar la validez de la investigación y cumplir con los deberes legales y los requisitos de autorización de medicamentos. Así mismo el paciente tiene derecho a dirigirse a la Agencia de Protección de Datos si no quedara satisfecho.

Tanto el Centro como el Promotor son responsables respectivamente del tratamiento de los datos y se comprometen a cumplir con la normativa de protección de datos en vigor. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código, de manera que no se incluya información que

pueda identificar al paciente, y sólo el médico del estudio/colaboradores podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a ninguna otra persona salvo a las autoridades sanitarias, cuando así lo requieran o en casos de urgencia médica. Los Comités de Ética de la Investigación, los representantes de la Autoridad Sanitaria en materia de inspección y el personal autorizado por el Promotor, únicamente podrán acceder para comprobar los datos personales, los procedimientos del estudio clínico y el cumplimiento de las normas de buena práctica clínica (siempre manteniendo la confidencialidad de la información).

El Investigador y el Promotor están obligados a conservar los datos recogidos para el estudio al menos hasta 25 años tras su finalización. Posteriormente, la información personal solo se conservará por el centro para el cuidado de su salud y por el promotor para otros fines de investigación científica si usted hubiera otorgado su consentimiento para ello, y si así lo permite la ley y requisitos éticos aplicables.

Si se realizara transferencia de los datos codificados fuera de la UE a las entidades de nuestro grupo, a prestadores de servicios o a investigadores científicos que colaboren con nosotros, los datos del participante quedarán protegidos con salvaguardas tales como contratos u otros mecanismos por las autoridades de protección de datos. Si el participante quiere saber más al respecto, puede contactar al Delegado de Protección de Datos del promotor.

## **BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO**

El principal beneficio de la participación en el estudio es la realización de un estudio exhaustivo de la endometritis crónica mediante cuatro pruebas diagnósticas.

Los escasos riesgos de su participación en el estudio serían los derivados de los procedimientos de la histeroscopia y la obtención de la muestra endometrial ya detallados, con una frecuencia excepcional ya que desde hace años ambos forman parte de la práctica clínica habitual en las consultas de ginecología. Otro posible inconveniente sería la posibilidad que no se obtenga ningún beneficio para su salud por participar en el estudio.



## ANEXO 4: CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL ESTUDIO

### CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE

Yo,

Nombre y apellidos:

DNI/Pasaporte:

Accedo a participar en el estudio: **“Correlación de métodos diagnósticos y tasa de resolución del tratamiento antibiótico en pacientes con fallo de implantación diagnosticadas de endometritis crónica. Estudio prospectivo serie de casos”** habiendo sido informado de manera clara, precisa y suficiente, verbalmente y por escrito sobre el tipo de estudio, su desarrollo y sus objetivos.

Declaro que he tenido oportunidad de efectuar preguntas sobre el estudio y recibido respuestas satisfactorias.

Entiendo que la participación es voluntaria y que podría abandonar el estudio cuando lo desee, sin que tenga que dar explicaciones y sin que ello afecte a mis cuidados médicos.

También he sido informado que los datos personales del presente consentimiento o de la ficha o expediente que se abra para la investigación:

- Serán tratados y custodiados con respeto a mi intimidad y a la vigente normativa de protección de datos. (Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD).).
- Sobre estos datos, me asisten los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición que podré ejecutar solicitándolo al investigador responsable.
- Ninguno de los datos podrá ser cedido sin mi consentimiento expreso, ni utilizados con fines distintos a los que otorgo con mi rúbrica.

Declaro que he leído y conozco el contenido del presente documento, comprendo los compromisos que asumo y los acepto expresamente.

En Madrid, a día.....

Nombre del paciente

Nombre del investigador

DNI

Nº Colegiado

Firma

Firma

**REVOCACIÓN**

Revoco el consentimiento prestado en fecha.....de.....de .....y no deseo proseguir en el estudio.

En Madrid, a día.....

Nombre del paciente

Nombre del investigador

DNI

Nº Colegiado

Firma

Firma

## ANEXO 5: CONSENTIMIENTO INFORMADO HISTEROSCOPIA DIAGNÓSTICA

**SERVICIO DE OBSTETRICIA-GINECOLOGÍA  
Y REPRODUCCION ASISTIDA**

**DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO  
HISTEROSCOPIA DIAGNOSTICA**

**DATOS DE LA PACIENTE.**

Nombre:  
Edad: años. D.N.I:  
Domicilio:

**DATOS DEL REPRESENTANTE LEGAL, FAMILIAR O ALLEGADO.**

Nombre:  
Edad: años. D.N.I:  
Domicilio:

**EL PRESENTE REGISTRO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO TIENE POR FINALIDAD CUMPLIR CON EL CAPITULO IV DE LA LEY 41/2002, DE 14 DE NOVIEMBRE, BASICA REGULADORA DE LA AUTONOMIA DEL PACIOENTE Y DE DERECHO Y OBLIGACIONES EN MATERIA DE INFORMACION Y DOCUMENTACION CLINICA. SEGÚN EL CUAL LA PACIENTE TIENE DERECHO A RECIBIR LA INFORMACIÓN SUFICIENTE PARA PARTICIPAR ACTIVAMENTE EN LA TOMA DE DECISIONES RESPECTO AL DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO DE SU ENFERMEDAD. EL CONSENTIMIENTO INFORMADO NO EXIME AL FACULTATIVO DE UNA EVENTUAL RESPONSABILIDAD POR NEGLICENCIA O MALA PRACTICA.**

**DECLARO:**

Que el **Doctor/a.** con nº col /  
me ha explicado que es necesario / conveniente, en mi situación, realizar una **HISTEROSCOPIA**  
**DIAGNOSTICA** por presentar y que he recibido la siguiente  
información:

1. La **HISTEROSCOPIA DIAGNOSTICA** consiste en la introducción a través del cuello del útero de una óptica conectada a una cámara de televisión que permite visualizar la cavidad del mismo, y así diagnosticar los procesos patológicos que pueden producirse a este nivel.
2. Este proceso se realiza con un material específico previamente esterilizado, siendo necesaria la utilización de un medio de distensión líquido o gaseoso para poder visualizar el interior del útero.
3. Habitualmente no es necesaria la utilización de ningún tipo de anestesia y solo excepcionalmente en algunos casos podrá plantearse el uso de un anestésico local.
4. En ocasiones, si el caso lo requiere podrá realizarse en el mismo acto la toma de biopsia o extirpación de algún pequeño pólipo o mioma.
5. Toda exploración, tanto por la propia técnica como por la situación vital de la paciente (diabetes, cardiopatía, hipertensión, edad avanzada, anemia, obesidad...) lleva implícita una serie de complicaciones comunes y potencialmente serias que podrían requerir tratamientos complementarios, tanto médicos como quirúrgicos, así como un mínimo porcentaje de mortalidad.
6. Las complicaciones por orden de frecuencia son:
  - a) Síndrome vagal que puede producir un cuadro clínico con bajada de la tensión arterial y de la frecuencia cardíaca, normalmente pasajero pero que en ocasiones harán necesaria la utilización de medicación.
  - b) Infecciones con posible evolución febril que eventualmente requerirán tratamiento medico y/o quirúrgico.
  - c) Perforación del útero, sobre todo en úteros atróficos o con patología maligna.
  - d) Otras poco frecuentes como hemorragias, desgarros del cervix, sobrecarga de líquidos y reacción alérgica a anestésicos.
7. Después de la exploración pueden aparecer leves molestias abdominales que cederán espontáneamente o con la toma de algún analgésico y/o discretos sangrados, sobre todo en aquellos casos en los que se haya hecho una toma de biopsia.

He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo, y el facultativo que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y me ha aclarado todas las dudas que le he planteado.

También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de explicación, puedo revocar el consentimiento que ahora presto.

Por ello, manifiesto que estoy satisfecha con la información recibida y que comprendo el alcance y los riesgos de la exploración.

Y en tales condiciones **consiento** en que se me realice una **HISTEROSCOPIA DIAGNOSTICA**.

En Madrid a

**Fdo. La Paciente o Representante legal.**

**Fdo. El Médico.**

#### **REVOCACIÓN**

La paciente o su representante legal, **revocan** el consentimiento prestado en fecha , y no desea proseguir el tratamiento, que doy con esta fecha por finalizado.

En Madrid a

**Fdo. La Paciente o representante legal.**

**Fdo. El Médico.**



## ANEXO 6: CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA BIOPSIAS GINECOLÓGICAS

## Documento de consentimiento informado para biopsias ginecológicas

Nº Historia:.....

Doña:.....y DNI Nº.....  
(Nombre y dos apellidos)

Don/Doña:..... y DNI Nº.....  
(Nombre y dos apellidos)

En calidad de ..... de Doña:.....  
(Representante legal, familiar o allegado) (Nombre y dos apellidos de la paciente)

### DECLARO

Que el  
DOCTOR/A.....  
(NOMBRE Y DOS APELLIDOS DEL FACULTATIVO QUE PROPORCIONA LA INFORMACIÓN)

Me ha explicado que es necesario/ conveniente proceder, en mi situación, a realizar una biopsia de.....

1. Se trata de una intervención consistente en la extirpación de un fragmento de tejido, con fines diagnósticos y/o terapéuticos.

En mi caso concreto la biopsia se hará de .....

2. **Complicaciones y/o riesgos y fracasos:** Toda intervención quirúrgica, tanto por la propia técnica como por el estado de salud de cada paciente (diabetes, cardiopatías, hipertensión, anemia, obesidad, edad avanzada...etc.), lleva implícita una serie de posibles complicaciones comunes y otras potencialmente más importantes que podrían requerir tratamientos complementarios, tanto médicos como quirúrgicos, así como, excepcionalmente, un porcentaje mínimo de mortalidad.

Las complicaciones específicas de la biopsia más frecuentes son:

- a. Hemorragia (inmediata o tardía)
- b. Infección
- c. Quemaduras accidentales en caso de utilizar electrocirugía (tanto en el electrodo activo como quemaduras distales)
- d. Excepcionalmente reacción vagal con lipotimia
- e. Reacción alérgica al anestésico local

Si en el momento del acto quirúrgico surgiera algún imprevisto, el equipo médico podrá modificar la técnica quirúrgica habitual o programada.

3. **Por mi situación actual**, el médico me ha explicado que pueden aumentar o aparecer riesgos o complicaciones como.....

4. **Cuidados:** Me han sido explicados las precauciones, y tratamiento en su caso, que he de seguir tras la intervención y que me comprometo a observar.

5. **Anestesia:** Lo habitual será utilizar anestesia local. En ciertos casos no es preciso administrar anestesia. En el caso de que fuera necesario realizar la intervención bajo anestesia general o regional será valorado bajo la responsabilidad del servicio de anestesia.

6. **Anatomía Patológica:** La pieza o piezas extirpadas en la intervención se someterán a estudio anatomopatológico posterior para obtener el diagnóstico definitivo, siendo la paciente y/o sus familiares o representante legal, en su caso, informados de los resultados del estudio. Así mismo he comprendido que dependiendo de los resultados anatomopatológicos y, por tanto, del diagnóstico definitivo, **puede ser necesario completar esta intervención** con otra más amplia, de la que se me informará en su caso.

**He comprendido** las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo, y el facultativo que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y **me ha aclarado** todas las dudas que le he planteado.

También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, **puedo revocar** el consentimiento que ahora presto.

Por ello, manifiesto que estoy **satisfecha** con la información recibida y que **comprendo** el alcance y los riesgos del tratamiento.

Y en tales condiciones

**CONSENTO**

Que se me realice una intervención una BIOPSIA DE.....

En.....  
(Lugar y fecha)

Fdo.: EL/LA MÉDICO  
Nº Colegiado .....

Fdo.: LA PACIENTE

Fdo.: EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (si procede)

**REVOCACIÓN**

Doña:.....y DNI Nº.....  
(Nombre y dos apellidos)

Don/Doña:..... y DNI Nº.....  
(Nombre y dos apellidos)

En calidad de ..... de Doña:.....  
(Representante legal, familiar o allegado) (Nombre y dos apellidos de la paciente)

REVOCO el consentimiento prestado en fecha .....y no deseo proseguir el tratamiento propuesto, que doy con esta fecha por finalizado.

En.....  
(Lugar y fecha)

Fdo.: EL/LA MÉDICO  
Nº Colegiado .....

Fdo.: LA PACIENTE

Fdo.: EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (si procede)



## ANEXO 7: CONSENTIMIENTO INFORMADO TEST EMMA Y ALICE



USO INTERNO SOLO  
Fecha de recepción:

### Solicitud de Análisis de EndomeTRIO (ERA/EMMA/ALICE)

Los campos sombreados son de obligatoria cumplimentación.

Si alguno de los campos requeridos no se ha rellenado, la entrega de resultados se podría retrasar.

Antes de tomar la muestra lea el Manual que puede encontrar en la página web de Igenomix: Sección Salud Reproductiva/Especialistas.

ANÁLISIS SOLICITADO			
<input type="checkbox"/> ERA Endometrial Receptivity Analysis	<input type="checkbox"/> EMMA (incluye ALICE) Endometrial Microbiome Metagenomic Analysis	<input type="checkbox"/> ALICE Analysis of Infectious Chronic Endometritis	<input type="checkbox"/> EndomeTRIO ERA + EMMA + ALICE
INFORMACIÓN DE LA CLÍNICA SOLICITANTE DEL ESTUDIO			
NOMBRE DE LA CLÍNICA:			
DIRECCIÓN:		TELÉFONO:	
CIUDAD:	PROVINCIA:	C.P.:	
DOCTOR:			
DIRECCIÓN DE E-MAIL PARA ENVÍO DE RESULTADOS:			
INFORMACIÓN DE LA PACIENTE			
NOMBRE Y APELLIDOS / INICIALES / CÓDIGO DE IDENTIFICACIÓN:			
FECHA DE NACIMIENTO: DD / MM / AAAA		NÚMERO DE HISTORIA CLÍNICA:	ETNIA:
PESO (kg):	ALTURA (cm):	IDIOMA DEL INFORME: <input type="checkbox"/> ESPAÑOL <input type="checkbox"/> INGLÉS <input type="checkbox"/> ITALIANO <input type="checkbox"/> PORTUGUÉS	
INDICACIÓN DEL TEST			
<input type="checkbox"/> Análisis Endometrial	<input type="checkbox"/> Endometritis Crónica	<input type="checkbox"/> ETS previas	<input type="checkbox"/> Hidrosálpinx
<input type="checkbox"/> Aborto recurrente	<input type="checkbox"/> Fallo de implantación - Nº de fallos de implantación (transferencias sin implantación): _____		
Resumen de la historia clínica o datos médicos relevantes:			
FIRMAS			
AUTORIZACIÓN DEL MÉDICO		CONSENTIMIENTO DE LA PACIENTE	
Certifico que la información de la paciente y del médico prescriptor en esta solicitud es correcta según mi conocimiento y que he solicitado el test arriba indicado con base en mi criterio profesional de indicación clínica. He explicado las limitaciones de este test y he respondido cualquier pregunta con criterio médico. Entiendo que Igenomix (Part of Vitrolife Group) pueda necesitar información adicional y acepto proporcionar esta información si es necesario.		Con la firma de este formulario de solicitud, voluntariamente solicito a Igenomix (Part of Vitrolife Group) que realice el test arriba indicado. He leído y recibido una copia del consentimiento informado, incluido en las siguientes páginas. Así mismo me han explicado adecuadamente los riesgos, beneficios y limitaciones de este test.	
FIRMA DEL MÉDICO:		FIRMA DE LA PACIENTE:	
FECHA: DD / MM / AAAA		FECHA: DD / MM / AAAA	

NOMBRE Y APELLIDOS / INICIALES / CÓDIGO DE IDENTIFICACIÓN:	
<b>DATOS DE CICLO</b>	
Seleccionar y rellenar solo uno de los distintos tipos de ciclo propuestos Debe cumplimentar todos los campos sombreados del tipo de ciclo seleccionado. No está indicado realizar estos test en ciclos de estimulación ovárica.	
<b>TIPOS DE CICLO VÁLIDOS PARA ERA / EMMA&amp;ALICE / ENDOMETRIO</b>	
<b>1</b>	TERAPIA DE REEMPLAZO HORMONAL (HRT): (Ciclo sin ovulación) <input type="checkbox"/> HRT (estradiol + progesterona)
	FECHA Y HORA DE LA PRIMERA TOMA DE PROGESTERONA (Día P+0): Fecha: ____/____/____ Hora: ____:____ (de 00:01 a 23:59) DD MM AAAA hh min O
<b>2</b>	CICLO NATURAL: (Ciclo con ovulación) <input type="checkbox"/> Inyección hCG <input type="checkbox"/> Pico de LH
	FECHA Y HORA DE LA INYECCIÓN DE LA hCG O EL PICO DE LH (Día hCG+0 / Día LH+0): Fecha: ____/____/____ Hora: ____:____ (de 00:01 a 23:59) DD MM AAAA hh min O
<b>3</b>	CICLO NATURAL MODIFICADO: (Ciclo con ovulación y suplemento de P <sub>4</sub> ): <input type="checkbox"/> Inyección hCG + P <sub>4</sub> <input type="checkbox"/> Pico de LH + P <sub>4</sub> P <sub>4</sub> =Progesterona
	FECHA Y HORA DE hCG O PICO DE LH: Fecha: ____/____/____ Hora: ____:____ (de 00:01 a 23:59) DD MM AAAA hh min FECHA Y HORA DE LA PRIMERA TOMA DE P <sub>4</sub> : Date: ____/____/____ Hora: ____:____ (de 00:01 a 23:59) DD MM AAAA hh min
<b>MEDIDA DE PROGESTERONA ENDÓGENA EN LH+0/hCG+0 (ciclos naturales) O EN LAS 24H PREVIAS A LA 1ª TOMA DE P4 EXÓGENA (ciclos HRT)</b>	
VALOR DE PROGESTERONA ENDÓGENA (debe ser <1ng/ml en LH+0/hCG+0/P+0): ____ (ng/ml) Fecha medida: ____/____/____ DD MM AAAA	
DOSIS DIARIA DE PROGESTERONA EXÓGENA: ____ VÍA ADMINISTRACIÓN DE PROGESTERONA: <input type="checkbox"/> VAGINAL <input type="checkbox"/> INTRAMUSCULAR <input type="checkbox"/> ORAL	
GROSOR ENDOMETRIAL: ____ mm FECHA MEDIDA GROSOR: ____/____/____ DD MM AAAA	
MEDICACIÓN ADICIONAL: <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI - INDIQUE CUÁL: _____	
<b>TIPOS DE CICLO ÚNICAMENTE VÁLIDOS PARA TEST EMMA/ALICE (no para test ERA / Endometrio)</b>	
<input type="checkbox"/> CICLO NATURAL ENTRE DÍAS 15 Y 25 (solo pacientes con ciclos regulares entre 26-32 días). Día del ciclo: ____ FUR: ____/____/____ DD MM AAAA	
<input type="checkbox"/> ANTICONCEPTIVO ORAL COMBINADO (entre días 14-21 de píldoras activas -si se administran píldoras placebo- o a partir del día 14 de píldoras activas -si no se administran píldoras placebo) MARCA OCP: ____ Día de ciclo el día de la biopsia: ____ Tipo de píldora: <input type="checkbox"/> PÍLDORAS ACTIVAS CONTINUAS <input type="checkbox"/> CON PLACEBO/DESCANSO	
PACIENTE AMENORREICA: <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI	
<b>INFORMACIÓN DE LA BIOPSIA</b>	
MÉTODO TOMA DE BIOPSIA: <input type="checkbox"/> Pipelle <input type="checkbox"/> Histeroscopia <input type="checkbox"/> Otro método: _____	
FECHA Y HORA DE BIOPSIA Fecha: ____/____/____ Hora: ____:____ (00:01 a 23:59) DD MM AAAA hh mm	
La paciente tiene un ERA/EMMA/ALICE previo: <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> SI	
Biopsia ERA No.* _____ Biopsia EMMA No. _____ Biopsia ALICE No. _____ *Si repite la biopsia, ¿se ha replicado el protocolo del ciclo de ERA (mismos medicamentos, dosis, etc)? <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI	
<b>INFORMACIÓN SOBRE ANTIBIÓTICOS (Si se ha realizado Endometrio o EMMA/ALICE)</b>	
USO PREVIO DE ANTIBIÓTICOS: <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI - (Ppio. activo): _____	
Dosis: _____ Fecha inicio: ____/____/____ Fecha fin: ____/____/____ DD MM AAAA DD MM AAAA	
Primera biopsia: Indique antibióticos tomados en el mes previo a la muestra. Biopsia de seguimiento: Indique antibióticos administrados entre muestras.	
ALERGIAS A ANTIBIÓTICOS: <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI - Grupo: <input type="checkbox"/> β-lactámicos <input type="checkbox"/> Macrólidos <input type="checkbox"/> Tetraciclinas <input type="checkbox"/> Lincosamidas <input type="checkbox"/> Nitroimidazoles <input type="checkbox"/> Trimetoprim/Sulfonamidas	

Si necesita más espacio para cumplimentar cualquiera de las secciones puede usar la casilla de "Resumen de historia clínica" en la sección "Indicación del Test"

## Consentimiento informado para biopsia endometrial y evaluación de endometrio

### DESCRIPCIÓN, FINALIDAD Y BENEFICIOS DE LOS ANÁLISIS

El **Análisis de Receptividad Endometrial (ERA)** es un método de diagnóstico molecular que permite saber si el endometrio (la capa mucosa del interior de la matriz) presenta un perfil de receptividad tras cinco días completos de exposición a progesterona, momento en el que el endometrio está preparado para que se produzca la implantación embrionaria. El test se basa en medir simultáneamente el perfil de expresión de 248 genes por secuenciación (Next Generation Sequencing (NGS) de las células endometriales que previamente han sido identificados como la firma transcriptómica de la receptividad endometrial y una herramienta bioinformática (predictor) que permite realizar un diagnóstico con una probabilidad diagnóstica concreta.

En consecuencia, el test ERA permite determinar si el endometrio se encuentra en condiciones ideales para la implantación de los embriones, permitiendo que la transferencia embrionaria se realice en el momento en que así sea, incrementando con ello las posibilidades de éxito del tratamiento de fecundación in Vitro (FIV).

El **Análisis Metagenómico del Microbioma Endometrial (EMMA)** es un test molecular que proporciona información sobre la microbiota en el tejido endometrial mediante el análisis de un panel personalizado que incluye información sobre *Lactobacillus* y bacterias potencialmente patógenas del tracto reproductivo, algunas de ellas relacionadas con la Endometritis Crónica (EC). Este método se basa en la detección de ADN bacteriano mediante RT-PCR, que se traduce en diferentes perfiles que se han relacionado con el éxito del embarazo. El test EMMA puede realizarse sobre una biopsia endometrial tomada siguiendo el mismo protocolo que el test ERA o entre los días 15 y 25 del ciclo natural (sólo para pacientes con ciclos regulares entre 26-32 días). Si la paciente no tiene un ciclo regular, se recomienda realizar un ciclo de HRT y tomar la muestra durante los días de exposición a progesterona (preferiblemente en día P+5). La muestra también puede ser tomada bajo el uso de píldoras anticonceptivas orales (ACO) combinadas entre los días 14-21 de píldoras activas (si la paciente toma píldoras placebo) o desde el día 14 en adelante si toma píldoras activas de forma continuada (nota: no todos los ACO son válidos para el test EMMA, se recomienda consultar con Igenomix la validez del mismo antes de programar la biopsia). El test EMMA puede ser beneficioso para cualquier mujer que desee conseguir un embarazo, especialmente para aquellas con fallos de implantación recurrentes y/o abortos de repetición, ya que analiza el entorno microbiano de la cavidad uterina, incluidos los patógenos bacterianos identificados con mayor frecuencia como causantes de Endometritis Crónica (EC). El informe de resultados del test EMMA proporciona una interpretación de los datos obtenidos y una recomendación, con el fin de obtener un tracto reproductivo dominado por *Lactobacillus*, que, tal como se describe en la literatura científica, aumenta las posibilidades de lograr un embarazo. El test EMMA siempre incluye al test ALICE.

El **Análisis de Infección causante de Endometritis Crónica (ALICE)** es una prueba molecular realizada mediante RT-PCR. Detecta la presencia de ADN de bacterias potencialmente patógenas que con mayor frecuencia causan la inflamación crónica del endometrio conocida como Endometritis Crónica (EC). Esta enfermedad ha sido relacionada con infertilidad y complicaciones obstétricas. Al igual que el test EMMA, ALICE puede realizarse a partir de una biopsia endometrial tomada siguiendo el mismo protocolo que el test ERA o entre los días 15 y 25 del ciclo natural (sólo para pacientes con ciclos regulares de entre 26 y 32 días). Si la paciente no tiene un ciclo regular, se recomienda realizar un ciclo HRT y tomar la muestra durante los días de exposición a progesterona (preferiblemente en día P+5). La muestra también puede ser tomada bajo el uso de píldoras anticonceptivas orales (ACO) combinadas entre los días 14-21 de píldoras activas (si la paciente toma píldoras placebo) o desde el día 14 en adelante si toma píldoras activas de forma continuada (nota: no todos los ACO son válidos para el test EMMA, se recomienda consultar con Igenomix la validez del mismo antes de programar la biopsia). El test ALICE puede ser útil para determinar qué bacterias patógenas están presentes en el endometrio siendo éstas la posible causa de la inflamación crónica de la cavidad uterina. Estos resultados pueden ayudar a determinar qué antibióticos pueden ser los más adecuados para eliminar los patógenos causantes de la enfermedad.

### PROCEDIMIENTO, RIESGOS Y LIMITACIONES

Para estos análisis se necesita una biopsia del endometrio que consiste en introducir una cánula muy fina por su vagina hasta el interior del útero, de donde se absorbe un pequeño cilindro de tejido endometrial, esta pequeña biopsia endometrial es suficiente para llevar a cabo los tres procedimientos (ERA, EMMA y ALICE) simultáneamente. Ud. podría notar molestias derivadas del procedimiento, pudiendo sangrar un poco tras la biopsia, pero es un proceso habitual sin riesgo añadido.

Para poder procesar la muestra será necesario que el documento de solicitud del test esté correctamente cumplimentado. En caso contrario el análisis podría ser detenido hasta que la información requerida sea proporcionada al laboratorio.

Debido a la complejidad de las pruebas genéticas y las importantes implicaciones de los resultados de las pruebas, los resultados obtenidos han de ser interpretados junto con otros datos clínicos, dentro del contexto general de una consulta médica que ha de estar dirigida por profesionales sanitarios. Los informes de los resultados serán estrictamente confidenciales.

El resultado del test estará disponible en un plazo aproximado de 15 días laborables. Un pequeño porcentaje de muestras pueden sufrir un retraso variable debido a causas imprevisibles. En caso de que ocurriera este hecho, se informará del retraso al correspondiente responsable clínico.

**ERA:** La biopsia tendrá que ser tomada siete días tras el pico de LH (ciclo natural), tras siete días después de la administración de la hCG (ciclo natural hCG) o tras cinco días completos de exposición a progesterona en terapia de reemplazo hormonal (ciclo HRT). En caso de que el análisis ERA detecte una ventana de implantación desplazada, el resultado recomendará el día óptimo para la transferencia embrionaria. En algunos casos, puede ser necesaria una segunda biopsia endometrial que se tomará siguiendo el resultado del test. En aproximadamente <1% de los casos se obtiene un diagnóstico "no informativo". En estos casos se requerirá la toma de una nueva biopsia endometrial. Existe una pequeña posibilidad (<5%) de no obtener suficiente cantidad y/o calidad de muestra para emitir un diagnóstico. En este caso se requerirá la toma de una nueva biopsia endometrial.

**EMMA/ALICE:** Es conveniente que la toma de la biopsia sea lo más cercana al ciclo de la transferencia embrionaria, ya que la microbiota podría fluctuar en el tiempo y en respuesta a distintos factores (cambios hormonales, hábitos de higiene, fluctuaciones de la salud en general, relaciones sexuales, etc.). La paciente no debe haber tomado antibióticos durante los 7 días previos a la toma de la biopsia, ni durante ni después del procedimiento, ya que, de lo contrario, el resultado podría no ser confiable. Si la toma no pudiera evitarse, debe indicarse claramente en el formulario de solicitud del test. Es posible que no se pueda obtener un resultado en algunos casos. Esto podría ocurrir porque no haya suficiente material genético para analizar o porque la muestra se haya contaminado en algún punto del proceso. Si esto ocurriese, se valorará la petición de una nueva muestra.

El resultado del test EMMA/ALICE no excluye la presencia de ADN de otros patógenos diferentes a los presentes en el panel analizado. La detección de un microorganismo mediante este test no implica un diagnóstico. Del mismo modo, un resultado negativo no descarta la posibilidad de enfermedad.

Este test no está dirigido al diagnóstico de enfermedades de transmisión sexual. Si hubiera sospecha de este tipo de enfermedades, o la paciente pertenece a un grupo de riesgo de padecer estas enfermedades, le recomendamos que consulte a un especialista en enfermedades infecciosas para ofrecer a la paciente un diagnóstico y tratamiento adecuado.

El seguimiento de las recomendaciones indicadas en los informes para los test ERA, EMMA y ALICE no garantiza el éxito de embarazo. El fallo de implantación puede estar causado por otros factores diferentes a los analizados con estos test.

#### **PRIVACIDAD DE DATOS, ALMACENAMIENTO Y USO EN INVESTIGACIÓN DE LAS MUESTRAS**

Su privacidad es prioridad para Igenomix (Part of Vitrolife Group). Su identidad y todos los datos referentes a su información personal serán confidenciales, permitiéndose únicamente el acceso al personal de Igenomix (Part of Vitrolife Group) y a las autoridades correspondientes cuando las leyes de la jurisdicción aplicable así lo requieran. Ud. encontrará mayor detalle de la Política de Privacidad de Igenomix (Part of Vitrolife Group), así como todos sus derechos en [www.igenomix.com](http://www.igenomix.com), o le serán facilitados previa solicitud al correo [privacy@igenomix.com](mailto:privacy@igenomix.com).

Queremos informarle que sus datos personales serán únicamente tratados para: (1) Dar cumplimiento a las obligaciones derivadas de la prestación de los servicios contratados por usted; (2) Revisar y garantizar la calidad de los servicios prestados (auditorías internas, controles de calidad, estudios de validación en laboratorio); (3) Fines educativos, siempre y cuando permanezca en el anonimato durante las mismas y no se le identifique durante el análisis de los datos, que se eliminarán de cualquier publicación; (4) Fines de investigación, publicaciones científicas y presentaciones, siempre y cuando permanezca en el anonimato durante las mismas y no se le identifique durante el análisis de los datos, que se eliminarán de cualquier publicación; (5) Atender de forma personalizada las dudas o sugerencias planteadas por el paciente durante el proceso y efectuar seguimiento de la correcta ejecución y resolución del test, incluyendo la conservación indefinida de sus datos, salvo que las leyes locales de la jurisdicción aplicable establezcan lo contrario; y (6) Contactarle en el futuro para solicitar su valoración sobre los servicios recibidos, realizar comunicaciones comerciales (incluyendo 'cross-selling' y 'up-selling') de empresas asociadas, así como para la participación en estudios de mercado y desarrollo de nuevos productos.

Así mismo consiente que su ginecólogo nos transmita la información relativa a la transferencia embrionaria personalizada asociada al resultado de este test, con el fin de completar el seguimiento clínico de la evaluación endometrial.

Ud. declara igualmente entender y aceptar que no obtendrá ni ahora ni en el futuro ningún beneficio económico por ninguna investigación desarrollada, ni está previsto compensarle por los productos desarrollados a partir de ninguna investigación.

El análisis de la muestra será realizado por Igenomix (Part of Vitrolife Group) o grupo asociado seleccionado por Igenomix a nivel internacional. Igenomix (Part of Vitrolife Group) se reserva el derecho de realizar parte o la totalidad de los análisis que conforman el test a través de Laboratorios Terceros acreditados en normas internacionales de calidad reconocidas, o en su defecto serán periódicamente evaluados por Igenomix (Part of Vitrolife Group). Los resultados obtenidos de esta manera serán revisados por Igenomix (Part of Vitrolife Group) y tal circunstancia quedará indicada en el informe final que se emita.

Las muestras y la información vinculada a ellas se preservarán en el laboratorio según las normas de conservación de muestras de Igenomix (Part of Vitrolife Group), las cuales cumplen todos los requisitos legales.

Conforme a las leyes de Protección de Datos de Carácter Personal, el peticionario debe disponer del consentimiento del paciente para llevar a cabo las pruebas diagnósticas solicitadas y para el tratamiento de sus datos. Usted podrá ejercer en todo momento los derechos de acceso, rectificación, oposición, supresión, decisiones automatizadas, limitación, portabilidad, a través del e-mail [privacy@igenomix.com](mailto:privacy@igenomix.com), aportando documentación que acredite la identidad del solicitante.

#### **UNA VEZ LEÍDO Y COMPRENDIDO LO ANTERIOR, QUEDA INFORMADA DE:**

La indicación, procedimiento, probabilidades de éxito, riesgos y complicaciones del tratamiento propuesto, así como del coste económico de dicha(s) prueba(s).

La disposición del personal sanitario para ampliar cualquier aspecto de la información que no haya quedado suficientemente aclarado.

Comprende las explicaciones que se le han facilitado en un lenguaje claro y sencillo, y el facultativo que le ha atendido le ha permitido realizar todas las observaciones y le ha clarificado todas las dudas que ha planteado, manifestando igualmente que puede renunciar libremente a este consentimiento en cualquier momento.

Manifiesta que está satisfecha con la información recibida y que presta libremente su conformidad para que se le practique una biopsia de endometrio en el Centro/Clínica de reproducción asistida al que ha asistido, así como que la muestra del tejido endometrial sea remitida a las instalaciones de Igenomix (Part of Vitrolife Group) con el fin de que se realice dicho(s) diagnóstico(s).

Así mismo, acepta que los resultados del(os) diagnóstico(s) sean comunicados a su ginecólogo, con el fin de que éste pueda asesorarle de manera adecuada en su tratamiento FIV en función de los resultados del mismo.

Title: ERA+EMMA+ALICE TRF + consent (Open array 2) (ES) | Index: SPA\_L\_F\_ERA\_022\_ES | Version: 1.0 | Authorised By: diana valbuena | Authorised: 26-Apr-2023



## ANEXO 8: LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de euploidía por blastocisto estudiado.

Tabla 2. Resumen de recomendaciones para el estudio de FIR según las guías científicas: SEF 2021 (8), ESHRE 2023 (17), British Fertility Society (BFS) 2021 (34) y Canadian Fertility and Andrology Society (CFAS) 2020 (35). En Verde recomendado. En amarillo factores a considerar. En rojo no recomendado.

Tabla 3. Criterios histológicos diagnósticos de EC.

Tabla 4. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de la histeroscopia. \*350 pacientes con fallo reproductivo.

Tabla 5. Definición del grado de acuerdo entre dos técnicas diagnósticas según la escala de Landis y Koch. (95)

Tabla 6. Antecedentes personales

Tabla 7. Tasas de implantación, gestación clínica y gestación evolutiva en las transferencias previas al estudio y tratamiento de EC.

Tabla 8. Características de las transferencias previas al estudio y tratamiento de EC.

Tabla 9. Validez de la histeroscopia, el cultivo y el NGS para el diagnóstico de EC

Tabla 10. Fiabilidad de la histeroscopia (HSC), el cultivo, el CD138 y el NGS para el diagnóstico de EC.

Tabla 11. Tasas de implantación, gestación clínica, gestación evolutiva, aborto bioquímico y aborto antes y después del diagnóstico y tratamiento de EC en toda la muestra

Tabla 12. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en toda la muestra. \*Mc Nemar, \*\*T-Student.

Tabla 13. Tasas de implantación, gestación clínica, gestación evolutiva, aborto bioquímico y aborto clínico antes y después del diagnóstico y tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC con cualquiera de las pruebas diagnósticas

Tabla 14. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC con cualquiera de las pruebas diagnósticas. \*Mc Nemar, \*\*T-Student.

Tabla 15. Tasas de implantación, gestación clínica, gestación evolutiva, aborto bioquímico y aborto clínico antes y después del estudio de EC, en pacientes que obtuvieron un resultado negativo en todas las pruebas diagnósticas.

Tabla 16. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en pacientes que obtuvieron un resultado negativo en todas las pruebas diagnósticas. \*Mc Nemar, \*\*T-Student.

Tabla 17. Tasas de implantación, gestación clínica y evolutiva antes y después del tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas mediante detección de células plasmáticas con CD138.

Tabla 18. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC detección de células plasmáticas con CD138. \*Mc Nemar, \*\*T-Student.

Tabla 19. Tasas de implantación, gestación clínica y evolutiva antes y después del diagnóstico y tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC mediante histeroscopia

Tabla 20. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC mediante histeroscopia. \*Mc Nemar, \*\*T-Student.

Tabla 21. Tasas de implantación, gestación clínica y evolutiva antes y después del diagnóstico y tratamiento de EC en pacientes con cultivos endometriales positivos.

Tabla 22. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en pacientes con cultivos endometriales positivos. \*Mc Nemar, \*\*T-Student.

Tabla 23. Tasas de implantación, gestación clínica y evolutiva antes y después del diagnóstico y tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC mediante NGS.

Tabla 24. Características de las transferencias previas y posteriores al tratamiento de EC en pacientes diagnosticadas de EC mediante NGS. \*Mc Nemar, \*\*T-Student.

Tabla 25. Días hasta la transferencia embrionaria en toda la muestra.

Tabla 26. Tiempo transcurrido hasta la transferencia en función del resultado de dicha transferencia embrionaria en toda la muestra.

Tabla 27. Días hasta la transferencia embrionaria en pacientes con diagnóstico inicial de EC y curación.

Tabla 28. Tiempo transcurrido hasta la transferencia en función del resultado de dicha transferencia embrionaria en pacientes con diagnóstico inicial de EC y posterior curación.

Tabla 29. Días hasta la transferencia embrionaria en pacientes con resultado negativo para EC en todas las pruebas en el ciclo diagnóstico inicial.

Tabla 30. Tiempo transcurrido hasta la transferencia en función del resultado de dicha transferencia embrionaria en pacientes con resultado negativo para EC en todas las pruebas en el ciclo diagnóstico inicial.

Tabla 31. Días hasta la transferencia embrionaria en pacientes con signos histeroscópicos positivos para EC al diagnóstico

Tabla 32. Tiempo transcurrido hasta la transferencia en función del resultado de dicha transferencia embrionaria en pacientes con signos histeroscópicos positivos para EC al diagnóstico.

Tabla 33. Días hasta la transferencia embrionaria en pacientes con CD138 + al diagnóstico.

Tabla 34. Tiempo transcurrido hasta la transferencia en función del resultado de dicha transferencia embrionaria en pacientes con CD138 + al diagnóstico.

Tabla 35. Días hasta la transferencia embrionaria en pacientes con cultivo positivo al diagnóstico.

Tabla 36. Tiempo transcurrido hasta la transferencia en función del resultado de dicha transferencia embrionaria en pacientes con cultivo positivo al diagnóstico.

Tabla 37. Prevalencias de EC. HSC: histeroscopia, AR: abortos de repetición.

Tabla 38. Tasa de acuerdo global entre los diferentes métodos diagnósticos de EC.

Tabla 39. Validez histeroscopia.

Tabla 40. Tasa de resolución EC tras el tratamiento antibiótico.



## ANEXO 9: LISTADO DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Edad de las pacientes

Gráfica 2. Índice de masa corporal

Gráfica 3. Diagnóstico de EC positivo en al menos una de las pruebas diagnósticas.

Gráfica 4. Resultados de la identificación células plasmáticas en endometrio mediante IHQ CD138.

Gráfica 5. Resultados de las histeroscopias.

Gráfica 6. Hallazgos histeroscópicos.

Gráfica 7. Resultados del cultivo endometrial.

Gráfica 8. Diagnóstico de EC según cultivo endometrial.

Gráfica 9. Distribución de la frecuencia microorganismos en cultivos positivos

Gráfica 10. Resultados del cultivo vaginal.

Gráfica 11. Resultados del test ALICE.

Gráfica 12. Resultados del test EMMA.

Gráfica 13. Número de ciclos de antibiótico necesarios para curar EC.

Gráfica 14. Distribución de pacientes en función del tiempo hasta la transferencia en toda la muestra.

Gráfica 15. Distribución de pacientes en función del tiempo hasta la transferencia en pacientes con diagnóstico inicial de EC y curación.

Gráfica 16. Distribución de pacientes en función del tiempo hasta la transferencia en pacientes con resultado negativo para EC en todas las pruebas en el ciclo diagnóstico inicial.

Gráfica 17. Distribución de pacientes en función del tiempo hasta la transferencia en pacientes con signos histeroscópicos positivos para EC al diagnóstico.

Gráfica 18. Distribución de pacientes en función del tiempo hasta la transferencia en pacientes con CD138 + al diagnóstico.

Gráfica 19. Distribución de pacientes en función del tiempo hasta la transferencia en pacientes con cultivo positivo al diagnóstico.



## ANEXO 10: LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Tasa acumulada de implantación tras transferencias de blastocistos euploides según tasa de implantación por transferencia de blasto euploide. Tomado de Ata. Recurrent implantation failure. Fertil Steril 2021.(10)

Figura 2. Compartimentos endometriales

Figura 3. A. Endometrio proliferativo. H&E 4x. B. Tinción CD138. Tinción inespecífica en las glándulas endometriales, pero se reconocen abundantes células con tinción circunferencial e intensa para CD138. IHQ CD138 20x.

Figura 4. Tinción CD138. Tinción inespecífica en las glándulas endometriales (flecha azul) pero se reconocen abundantes células con tinción circunferencial e intensa para CD138 (flecha roja). IHQ CD138 10x

Figura 5. Imagen histeroscópica de endometrio con hiperemia difusa

Figura 6. Imagen histeroscópica de endometrio con áreas de hiperemia focal

Figura 7. Imagen histeroscópica de endometrio con áreas de maduración irregular.

Figura 8. Imagen histeroscopia de endometrio con edema estromal.

Figura 9. Imagen histeroscópica de endometrio con múltiples micropólipos



## ANEXO 11: LISTADO DE ALGORITMOS

Algoritmo 1. Protocolo de estudio.

Algoritmo 2. Pacientes que participaron en el estudio y pruebas diagnósticas realizadas.



# ABREVIATURAS



EC: endometritis crónica  
FIR: fallo de implantación recurrente  
CE: chronic endometritis  
RIF: recurrent implantation failure  
TRA: técnicas de reproducción asistida  
FIV: fecundación in vitro  
PGT-A: preimplantation genetic testing aneuploidy  
SEF: Sociedad Española de Fertilidad  
SET: Single embryo transference  
ESHRE: European Society of Human Reproduction and Embriology  
PMH: Proyecto microbioma humano  
NK: células natural killer  
IL2: interleuquina 2  
IFN $\gamma$ : interferón gamma  
TNF $\alpha$ : factor de necrosis tumoral alfa  
LIF: leukemia inhibitory factor  
BFS: British Fertility Society  
CFAS: Canadian Fertility and Andrology Society  
RT-PCR: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real  
IHQ: inmunohistoquímica  
NGS: Next generation sequencing  
ADN: ácido desoxirribonucleico  
DIU: dispositivo intrauterino  
IMC: índice de masa corporal  
AMH: hormona antimulleriana  
RFA: recuento de folículos antrales  
S: sensibilidad  
E: especificidad  
VPP: valor predictivo positivo

VPN: valor predictivo negativo

DS: desviación típica

AUB: abnormal uterine bleeding