

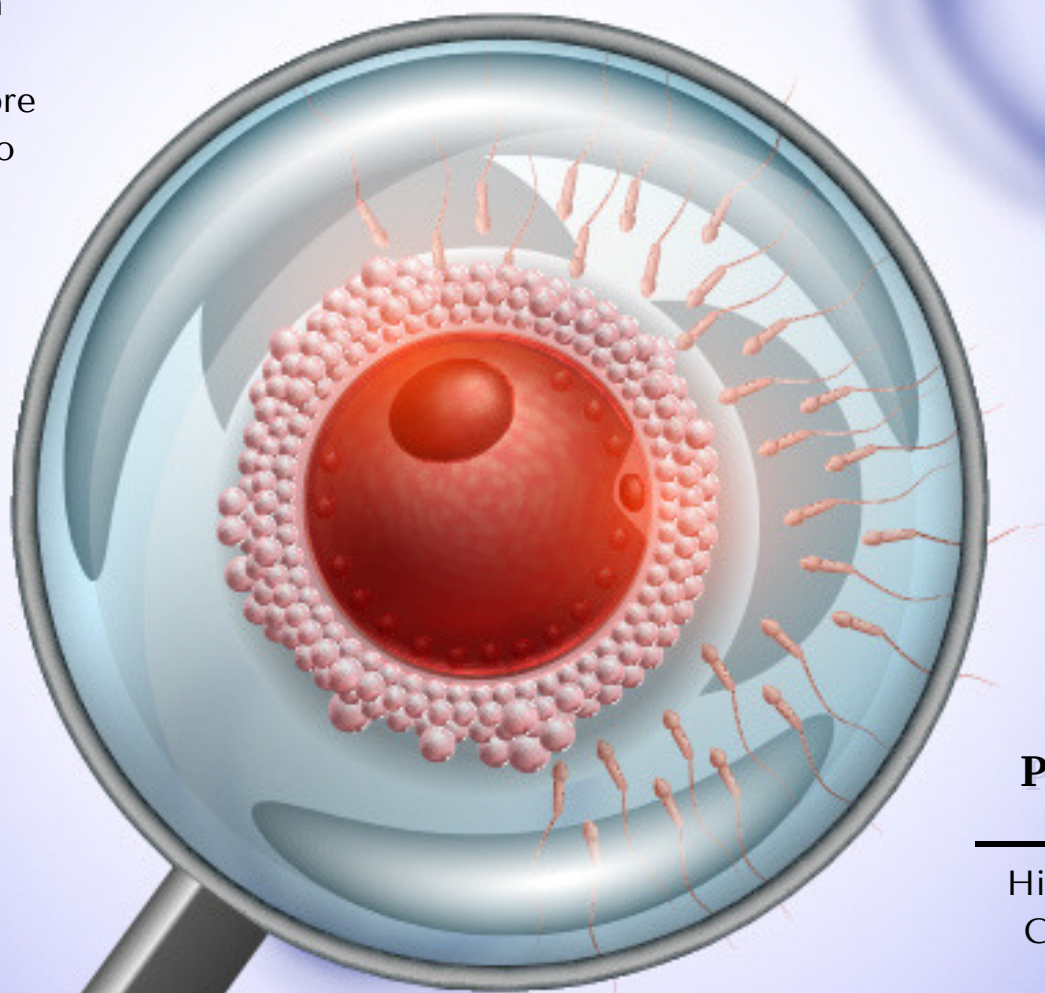
revista digital

PRONÚCLEO

20 ANOS

Assuntos regulatórios

- Formulário de Biovigilância
- Nova NT da ANVISA sobre COVID-19 - o que mudou?



Ponto em Pauta

Highlights do
CBRA 2020

Falando em...

- Presença do SARS-CoV-2 no sêmen e nos oócitos
- Valor preditivo do PGT-a

Nota da editora



Chegamos ao final desse ano de tantas surpresas, em que tivemos que nos reinventar de tantas formas!

Foi um ano de grandes desafios para todos e, para além da pandemia, a revista foi um dos meus. Parece uma tarefa simples quando vista depois de pronta, mas o trabalho é intenso nos bastidores. Obrigada Bernardo, Mauro e René, por acreditarem e confiarem em mim.

Gostaria de agradecer a todos que estiveram comigo ajudando a realizar esse projeto. A todos os autores, muitíssimo obrigada pela colaboração! Aos membros da comissão, obrigada pela paciência e cooperação! Agradeço também às meninas que me ajudam na edição e diagramação dos textos.

Um obrigada especial vai pra Diana, que além de sempre estar à disposição pra me ajudar em qualquer coisa (mesmo com os inúmeros projetos pessoais em andamento), também aguenta meus desabafos (nem tanto) ocasionais. Obrigada pelo companheirismo.

Pessoalmente, também gostaria de agradecer à amiga e parceira de laboratório, Vanessa, que me vê dando meu melhor diariamente nesse projeto, e ao amigo Vinícius, que me renova as energias quando tudo parece que não vai dar certo.

Foi um ano difícil, sim, mas saímos dele mais fortes, ainda que com mais certeza que nunca da fragilidade humana. Saímos mais fortes porque, apesar das perdas, entendemos o potencial e a força do amor. Que nunca nos esqueçamos!

De mais, desejo a todos uma boa leitura, lembrar que permaneço à disposição para quaisquer dúvidas e *feedbacks*, e espero continuarmos juntos em 2021, com novas esperanças no peito.

Muito obrigada a todos! Boas Festas!

Com muito carinho,

Ana Clara

Contato: anaclaracestes@gmail.com

CORPO EDITORIAL

EDITORA-CHEFE



Ana Clara Esteves

CONSELHO EDITORIAL



Bernardo Moura

EDITORAS ASSOCIADAS



Patrícia França



Ana Beatriz Zavan Marques

COMISSÃO CIENTÍFICA



Ana Paula de Souza Aguiar



Bia Mattos



Brummel Rodrigues Magalhães



Camila Pinho Pompeu



Darlete Matos



Mariana de Nadai



Patrícia França



Rita Figueira

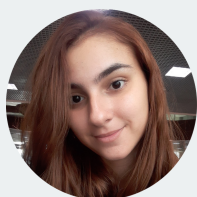


Thais Serzedello de Paula



Vinícius Bonato da Rosa

ASSESSORIA DE ARTE, EDIÇÃO E DIAGRAMAÇÃO



Diana Caroline Bastos



Juliana França



Ana Beatriz Zavan Marques

APOIO

Handle



20 ANOS
PRONÚCLEO
Associação Brasileira
de Embriologistas em
Medicina Reprodutiva

Nesta edição

Palavra da Presidência	8
Assuntos Regulatórios	9
Ponto em Pauta	19
Falando em Andrologia	48
Falando em Embriologia	52
Falando em Genética	54

COLABORADORES

ADELINO AMARAL SILVA

- *Fellowship* no Serviço de Medicina da Reprodução do Instituto Dexeus - Barcelona;
- Diretor Brasil - Rede Latino Americana de Reprodução Assistida;
- Membro da Câmara Técnica de Reprodução Assistida do CFM;
- Titulação na área de atuação de Reprodução Assistida - FEBRASGO;
- Diretor e fundador da Genesis - Brasília - DF.

BERNARDO LAMOUNIER MOURA

- Biomédico e Médico Veterinário;
- Embriologista Especialista em Biópsia Embrionária e Gestão Laboratorial;
- Sócio-Fundador e Diretor da Embriológica Consultoria;
- Diretor da Associação Brasileira dos Embriologistas - PRONÚCLEO (Gestão 2019 a 2021).

BRUNA BARROS

- Biomédica, com habilitação em Reprodução Humana pela Santa Casa de Misericórdia de São Paulo;
- Especialização em Técnicas de Reprodução Assistida pela Cleveland Clinic, Ohio - USA;
- Certificação em Diagnóstico Genético Pré-Implantacional pelo University College London;
- Membro da diretoria Pronúcleo 2019/2021;
- Coordenadora de Embriologia na Clínica Huntington.

HITOMI MIURA NAKAGAWA

- Presidente da Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida - Gestão 2016/2021;
- Diretora científica e responsável técnica da Genesis - Centro de Assistência em Reprodução Humana;
- Membro da Câmara Técnica de GO/Núcleo de Reprodução Assistida do Conselho Federal de Medicina (CFM);
- Servidora aposentada do Setor de Reprodução Humana do Hospital Materno-Infantil de Brasília/ SES-GDF;
- Formação em Fertilização Assistida e Endoscopia Ginecológica pela Tohoku University School of Medicine, Sendai - Japão;
- Certificada para atuação na área de Reprodução Assistida pela Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO);
- Habilitada em videolaparoscopia e vídeo histeroscopia pela Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia.

IRIS DE OLIVEIRA CABRAL

- Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Goiás;
- Especialista em embriologia pelo Instituto Dexeus (Barcelona - Espanha) e pela Universidade Livre de Bruxelas (ULB);
- Embriologista Sênior e Diretora do laboratório de Reprodução Assistida - Genesis Centro de Assistência em Reprodução Humana - Brasília / DF desde 1997;
- Especialista em microbiologia atuando no Laboratório Central de Saúde Pública - LACEN-DF.

COLABORADORES

JOYCE FIORAVANTI

- Coordenadora do Laboratório de Embriologia do Centro de Reprodução Humana Santa Joana-Huntington/Eugin;
- Especialista em criopreservação de óvulos pela Universidade de Bologna, Itália;
- Especialista em vitrificação de óvulos e embriões pela Universidade de Michigan, EUA;
- Responsável pelo Banco de Tecido Ovariano do grupo Huntington, especializada pela Universidade Católica de Louvain, Bélgica e IVI Foundation Valência, Espanha;
- MBA em Gestão de Saúde pelo Einstein-INSPER.

MARCELO AUGUSTO NUNES MEDEIROS

- Especialista em Regulação e Vigilância Sanitária da Gerência de Hemo e Biovigilância e Vigilância Pós-Use de Alimentos, Cosméticos e Produtos Saneantes - GHBIO
- Gerência Geral de Monitoramento de Produtos Sujeitos à Vigilância Sanitária - GGMON
- 5ª Diretoria - DIRE5 Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa

MARIA DO CARMO BORGES DE SOUZA

- Presidente da REDLARA (quadriênio 2019-2022);
- Diretora de Fertipraxis Centro de Reprodução Humana (RJ);
- Editora do JBRA Assisted Reproduction;
- Professora Adjunta da UFRJ (RJ).

LUIZ MAURO GOMES

- Presidente da Pronúcleo no biênio 2019-2021;
- Mestre em saúde materno-infantil,
- Especialista em Reprodução Assistida pela Redlara e Hospital Pérola Byington;
- Diretor do laboratório de Reprodução Humana da clínica Reproferty, São José dos Campos - SP.

PATRÍCIA PINHO DE FRANÇA

- Bióloga, mestre e doutora em Genética pela UFPR;
- Delegada regional da PRONUCLEO (MG);
- Embriologista no Centro de Medicina Reprodutiva - Clínica Origen, Cegonha Medicina Reprodutiva e Clínica Santa Fértil (Belo Horizonte, MG).

PAULO FRANCO TAITSON

- Vice-Presidente da Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida;
- Editor adjunto do JBRA Assisted Reproduction;
- Professor da PUC MG;
- Presidente da Fundação Hospitalar São Francisco de Assis.

COLABORADORES

RENATO K. D. HUSEK

- Engenheiro Mecânico formado pela Universidade Mackenzie;
- Pós graduado em Administração de Marketing pela FAAP;
- MBA em Gestão Estratégica e Econômica de Negócios pela FGV;
- Key Account Management na Cranfield School of Management UK.

RENÉ EDUARDO BUSSO

- Vice-presidente da Pronúcleo no biênio 2019-2021;
- Biomédico, especialista em Reprodução Assistida pela Universitat de Valencia (IVI);
- Embriologista chefe da Clínica Reproduce.

SARAH NACHEF

- Biomédica, Especialista em Reprodução Humana Assistida;
- Embriologista Sênior, Responsável pelo Laboratório de FIV da Clínica Art Fértil de Recife, PE;
- Membro do Conselho Fiscal da Associação Brasileira dos Embriologistas- Pronúcleo (2019-2021).

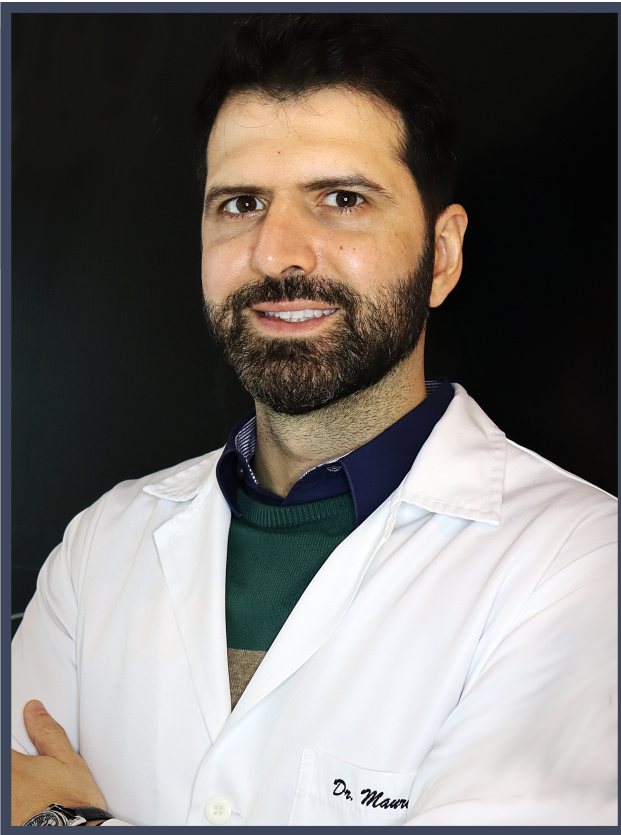
THAIS SERZEDELLO DE PAULA

- Graduação em Ciências Biológicas – MACKENZIE (SP);
- Graduação em Biomedicina – UNINOVE (SP);
- Especialista em Laboratório de Análises Clínicas e Pesquisa Médica – USJT (SP);
- Especialista em Gestão de Saúde – SENAC (SP);
- Mestra em Reprodução Humana – UNIFESP (SP);
- Andrologista Sênior da CrioBrasil/Fairfax Cryobank Brasil.

VANESSA NAYANE PEREZ

- Biomédica especialista em Reprodução Humana pelo Centro de Referência da Saúde da Mulher (CRSM) Hospital Pérola Byington;
- Embriologista sênior e responsável pelo laboratório de reprodução da CLINIFERT e FERTCENTER – Florianópolis/SC.

PALAVRA DA PRESIDÊNCIA



Na última edição de 2020 da nossa revista digital, trazemos os *highlights* do Congresso Brasileiro de Reprodução Assistida, realizado pela SBRA em outubro. Para isso, contamos com os coordenadores das principais mesas comentando os pontos mais importantes discutidos pelos palestrantes. Aproveitamos o espaço para agradecer à SBRA pela parceria, apoio e espaço cedido em eventos – juntos vamos mais longe!

Além dos *highlights* do Congresso, contamos com a participação dos profissionais Thais Sezerdello, Renato Husek, Vanessa Nayane Perez e Sarah Nacheff comentando artigos relacionados às áreas de andrologia, embriologia e genética. Também tivemos a colaboração de um dos membros da nossa comissão – Patrícia França – comentando e comparando a nova NT da ANVISA com as anteriores, bem como o profissional

Marcelo Medeiros reforçando a importância dos formulários de biovigilância que começarão a ser aplicados em breve nos BCTGs.

Gostaríamos de transmitir nossa imensa gratidão a todos aqueles que vêm nos apoiando, ajudando, orientando e dando forças – amigos e associados. Esse ano foi de muitas realizações para nossa Associação – mudança de identidade visual, lançamento da revista, muitos livros vendidos, número alto de novos associados, criação do Manual de Biossegurança em tempo recorde, diversos *webinars* e *lives* com palestrantes de alto nível, primeiro passo dado em direção à padronização da classificação embrionária na América Latina, realização do nosso Encontro de Embriologistas com palestras excelentes, início de um projeto de certificação de embriologistas, entre outros – e nada disso teria sido possível sem vocês. Esperamos poder continuar contando com essa parceria no próximo ano e que seus frutos continuem sendo colhidos!

Aproveitando a última edição da nossa revista esse ano, gostaria de encerrar agradecendo à Ana Clara, nossa editora-chefe, pela maneira como conduziu toda a equipe e as edições da nossa revista ao longo do ano, com muita competência e dedicação ao nosso projeto. Esperamos que todos façam uma boa leitura e que continuem nos acompanhando no próximo ano.

Boas festas!

ASSUNTOS REGULATÓRIOS



Patrícia P. França

SEGUNDA ATUALIZAÇÃO DAS DIRETRIZES PARA A REALIZAÇÃO DOS TRATAMENTOS DE REPRODUÇÃO HUMANA ASSISTIDA DURANTE A PANDEMIA DO CORONAVÍRUS

Quase um ano após o relato do primeiro caso de COVID-19, diversos países seguem com o aumento no número de casos e óbitos relacionados à doença, incluindo o Brasil (Quadro 01), que é o terceiro país com mais casos confirmados da enfermidade (1).

Local	Casos confirmados de COVID-19	Óbitos reportados
Mundo	71.581.532	1.618.374
Brasil	6.901.952	181.402

Quadro 01 – Situação global e no Brasil de casos e óbitos causados pelo vírus SARS-CoV-2 segundo a OMS. *Fonte: OMS, 2020 (1). Dados consultados em 15/12/2020.*

Em diversos países no mundo, os serviços de fertilidade foram significativamente reduzidos ou suspensos como uma resposta inicial à pandemia do SARS-CoV-2 no início deste ano, seguindo as orientações das várias sociedades de Reprodução Humana Assistida (RHA), como a Sociedade Europeia - European Society for Human

Reproduction and Embryology (ESHRE), a Sociedade Americana - American Society for Reproductive Medicine (ASRM), assim como a Direção Geral (GD0014) emitida pela Autoridade Inglesa - Human Fertilisation and Embryo Authority (HFEA) (2).

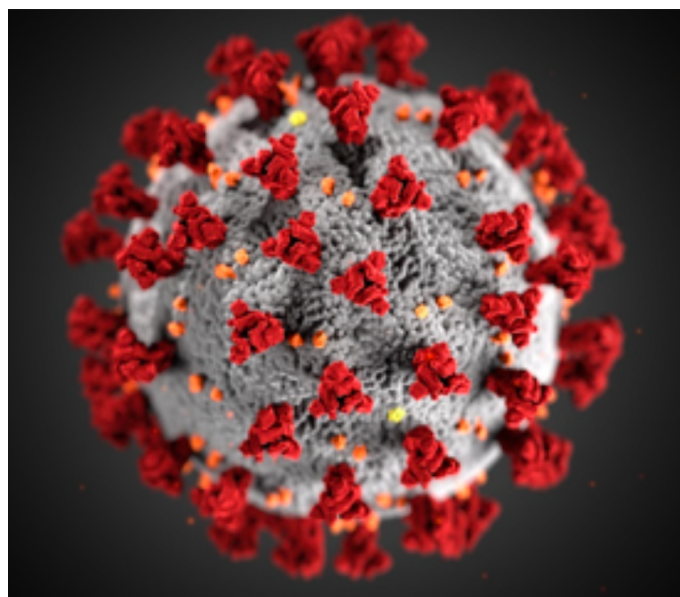
Os centros de fertilidade no Brasil também seguiram as recomendações das sociedades que nortearam a elaboração, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), das diretrizes para a realização dos procedimentos de RHA, em face da pandemia do novo coronavírus, após um melhor entendimento da situação em nosso país. A ANVISA, juntamente da Associação Brasileira de Embriologistas em Medicina Reprodutiva (Pronúcleo), Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida (SBRA) e Sociedade Brasileira de Reprodução Humana (SBRH), instituiu um grupo de trabalho que auxiliou na elaboração das diretrizes que foram atualizadas na Nota Técnica (NT) N° 72/2020/SEI/GSTCO/DIRE1/ANVISA (3).

Essa é a segunda atualização das diretrizes publicadas na NT 12/2020 em abril de 2020 (4), para a triagem de pacientes e doadores que irão realizar um tratamento de RHA. As NTs vêm sendo atualizadas de acordo com as necessidades que surgem e da realidade que vivemos frente à pandemia, e, portanto, não foi estabelecido um protocolo rigoroso dentro de uma regulamentação específica, permitindo uma flexibilidade de mudanças a partir das alterações que vêm acontecendo a cada dia.

"As NTs vêm sendo atualizadas de acordo com as necessidades que surgem e da realidade que vivemos"

Embora a interrupção dos tratamentos de fertilidade tenha acontecido muito rapidamente, a retomada dos serviços de RHA tem sido mais complexa e cautelosa, devido à necessidade de testar novas formas de trabalhar, minimizando o risco de infecção (2), e resguardando a saúde dos pacientes que buscam esse tratamento, considerando-se que há poucos indícios do risco da transmissão sexual do coronavírus e se assumindo que mulheres grávidas constituem um grupo mais vulnerável devido às mudanças imunológicas (5, 6, 7).

As atualizações foram feitas considerando-se a necessidade de os pacientes e doadores entenderem, desde o início do tratamento, os riscos de infecção pelo vírus e a existência da possibilidade de o médico cancelar o tratamento frente a qualquer sintoma ou sinal da doença, resguardando-se assim, médicos, pacientes e doadores (8). Para isso, os pacientes e doadores devem ter ciência, lendo e assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) específico para a realização dos tratamentos de RHA em tempos de COVID-19 (3).



O responsável técnico e o responsável médico pelo Banco de Células e Tecidos Germinativos (BCTG) devem ser responsáveis pela elaboração de um protocolo específico e da sua atualização, se necessária. Portanto, a NT 72/20 não define nenhum protocolo específico, pois

isso varia de acordo com a situação epidemiológica de cada município, estado ou unidade federativa, a avaliação de riscos, as autoridades de saúde locais, a infraestrutura, tamanho, complexidade, logística e pessoal do BCTG (3, 8).

Uma mudança importante da NT 72/2020 em relação à última atualização, publicada na NT 23/2020 (9), é a obrigatoriedade de o paciente ou o doador preencher, a cada visita ao BCTG, um questionário de triagem clínica, o qual deve contemplar informações sobre sinais e sintomas da COVID-19. Essa é uma etapa que deve anteceder todos os procedimentos de RHA e, durante o todo o tratamento, esse questionário deverá ser novamente preenchido, até a realização da captação do oócito, coleta do sêmen ou transferência embrionária (3).

As atualizações consideram dois cenários em relação ao risco de infecção por SARS-CoV-2: a doação de gametas e o uso próprio de gametas. Os requisitos para a doação são mais rigorosos e estritos, a fim de se resguardar a doação e a saúde dos doadores e dos pacientes, minimizando os riscos de transmissão da doença e garantindo uma maior segurança em relação à utilização dos gametas. Portanto, as exigências são maiores, devendo ser feita uma seleção criteriosa e antecipada dos doadores. Para os pacientes, os riscos são flexibilizados, lembrando que atualmente já é possível a realização dos procedimentos de RHA em casais sorodiscordantes (8).

"O preenchimento do questionário de triagem clínica deve anteceder todos os procedimentos de RHA."

A triagem de doadores de gametas, sejam eles nacionais ou provenientes de bancos internacionais, deve proteger a saúde da nossa população e, portanto, é obrigatória, apenas para doadores, a realização da RT-PCR (*Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*) para detecção do vírus.

Idealmente a realização do teste deveria ocorrer no dia do procedimento; no entanto, devido às limitações dos laboratórios específicos para a realização do teste, a ANVISA exige que a RT-PCR seja feita no máximo cinco dias antes da coleta seminal ou da captação do oócito. Deve-se lembrar que essa obrigatoriedade também se aplica à doação compartilhada de oócitos.

Os doadores de sêmen com coletas seriadas devem realizar a testagem para o vírus até cinco dias antes da primeira coleta e apenas repetir o exame se a próxima coleta exceder quinze dias em relação à última coleta seminal. Em caso de resultado positivo da RT-PCR, a doação deve ser interrompida. Doadores com resultados prévios de testagem sorológica IgG positivo, IgM e IgA negativos devem ser avaliados individualmente pelo responsável médico do BCTG quanto à

necessidade da realização de um teste adicional RT-PCR (3), considerando-se a incerteza científica sobre a imunoproteção adquirida, imprecisão de testes sorológicos utilizados (desenvolvidos em três meses por laboratórios que normalmente levariam três anos para desenvolver os ensaios), e o histórico de exposição a situações de risco de infecção pelo SARS-CoV-2 (8, 10, 11).

Em relação aos pacientes submetidos ao tratamento de RHA, os mesmos devem preencher o questionário de triagem clínica e atualizá-lo a cada ida ao BCTG e, se em algum momento apresentar qualquer sinal ou sintoma sugestivo da doença o centro de RHA pode optar por realizar a triagem laboratorial por RT-PCR e continuar o tratamento - caso o resultado seja negativo para SARS-CoV-2 - ou aguardar vinte e oito dias até a melhora dos sintomas para retomar o tratamento (3).

Se, durante o período do tratamento que precede a transferência embrionária e sucede a coleta oocitária e seminal, o paciente tiver uma testagem positiva para SARS-CoV-2, a transferência de embriões deve ser cancelada e os embriões devem ser congelados em um container específico para amostras contaminadas. Tal recomendação parte de uma prerrogativa de precaução, pois pouco se sabe sobre o risco de contaminação cruzada em bancos de nitrogênio líquido para gametas e embriões (3, 8, 12).

Caso o centro disponha de sistemas fechados de vitrificação ou armazenamento por meio de vapor de nitrogênio, essa recomendação é dispensada (3, 8).

Um grupo de pacientes que deve ser levado em consideração separadamente, são os pacientes incluídos no grupo de risco acrescido da forma severa da doença de acordo com as diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS). Para esses pacientes deve ser feita uma avaliação do médico responsável pelo BCTG dos riscos e benefícios do tratamento, e os pacientes deverão assinar um TCLE específico para esses casos. Além disso, esse grupo de pacientes deverá cumprir com as mesmas diretrizes aplicadas a doadores (3).

Os casos pontuais e atípicos deverão ser avaliados pelos responsáveis médico e técnico do BCTG, aos quais caberá a tomada de decisão através da adoção de medidas específicas, de forma bem documentada. A ANVISA orienta que os mesmos se cerquem de ferramentas que os permitam fazer o gerenciamento dos riscos para cada tomada de decisão, e o paciente deverá ser bem esclarecido dessas decisões (3, 8).

"Pacientes do grupo de risco deverão cumprir com as mesmas diretrizes aplicadas a doadores."

Dada a gravidade da pandemia COVID-19, os aspectos físicos, financeiros e o impacto emocional resultantes da mesma não podem ser subestimados nos pacientes de fertilidade. O campo da RHA enfrenta um maior desafio de equilibrar a saúde dos pacientes, doadores, dos profissionais da saúde e demais funcionários envolvidos, e as considerações éticas nesse período caracterizado por ameaças contínuas da COVID-19. As diretrizes apresentadas tentam mitigar os riscos de infecção pelo

vírus SARS-CoV-2, preservando o cuidado com a saúde reprodutiva dos pacientes, embora as clínicas possam, a qualquer momento, precisar novamente reduzir a atividade em resposta a picos ou ondas pandêmicas da COVID-19.

Os quadros 02, 03 e 04 apresentam, de forma simplificada e comparativa, as diretrizes para a realização dos procedimentos da RHA em tempos de pandemia por COVID-19 e suas duas atualizações, para doadores e pacientes.

Diretrizes	NT N° 12/2020	NT N° 23/20	NT N° 72/20
	01/04/2020	12/05/2020	08/10/2020
Recomendação para adiamento do tratamento de RHA	Adiamento de qualquer tratamento (exceto casos oncológicos e outros que possam trazer danos aos pacientes)	Adiamento de qualquer tratamento (exceto casos oncológicos que possam trazer danos aos pacientes)	--
Possível reabertura do BCTG	Não	Retorno de forma programada, gradual e cautelosa (item 2.a)	Retorno das atividades (2.a)
Situações/casos especiais	Discutidos com o médico assistente do paciente	Discutidos com o médico assistente do paciente com a supervisão e aprovação do Responsável Médico do BCTG	Avaliação e decisão do Responsável Médico do BCTG ^a
Assinatura de TCLE específico	--	Sim (item 2.c)	Sim (item 2.b)
Implementação pelos BCTGs de mecanismos e rotinas para prevenção e controle durante a assistência aos pacientes	Sim, seguindo as orientações do Ministério da Saúde	Sim, seguindo as orientações do Ministério da Saúde	Sim, seguindo as orientações do Ministério da Saúde
Preenchimento pelo BCTG de formulário eletrônico para monitoramento da ANVISA	--	Sim	--

Quadro 02 – Diretrizes e atualizações da ANVISA para a realização dos procedimentos de RHA durante a pandemia por COVID-19 – Conclusões gerais. Fonte: BRASIL, 2020 (3, 4, 9).

Nota 1: As especificações “item, número e letra” entre parênteses se referem à localização do tópico sobre o assunto na NT específica.

Nota 2: a) Essa recomendação não consta na NT 72/20, mas foi ressaltada pela Primeira Diretoria da ANVISA no Webinar sobre a NT, Renata Miranda Parca (8).

Diretrizes	NT Nº 12/2020 01/04/2020	NT Nº 23/20 12/05/2020	NT Nº 72/20 08/10/2020
Candidatos (sem sinais ou sintomas) que retornaram de qualquer país	Inaptos por 30 dias após o retorno (item 2.1)	Inaptos por 14 dias após o retorno (item 2.d)	Inaptos por 14 dias após o retorno (item 2.c.2)
Infectados pelos vírus SARS, MERS e SARS-CoV-2 após diagnóstico clínico e/ou laboratorial	Inaptos por 90 dias após a completa recuperação (item 2.2)	Apenas pelo vírus SARS-CoV-2: inaptos por 28 dias após a completa recuperação (item 2.e)	Apenas pelo vírus SARS-CoV-2: inaptos por 28 dias após a completa recuperação
Candidatos que tiveram contato nos últimos 30 dias com pessoas com diagnóstico clínico e/ou laboratorial de infecções pelos vírus SARS, MERS ou SARS-CoV-2 ou contato com casos suspeitos em avaliação	Inaptos por 30 dias após o último contato com essas pessoas (item 2.3)	Apenas pelo vírus SARS-CoV-2: inaptos por 14 dias após o último contato com essas pessoas (item 2.f)	Apenas pelo vírus SARS-CoV-2: inaptos por 14 dias após o último contato com essas pessoas (item 2.c.4)
Importação de gametas colhidos após 30/01/2020	Não autorizado (item 2.4)	Avaliação individual e triagem clínica e laboratorial específicas (item 2.g)	Autorizados, desde que sem sintomas e negativos nos testes de triagem laboratorial RT-PCR (item 2.c.5)
Prazo de validade do ofício de autorização de importação	--	60 dias após assinatura do documento pela GSTCO/ANVISA (item 2.h)	--
Questionário de triagem contemplando os sinais e sintomas da COVID-19	--	Obrigatório (item 2.b)	Obrigatório a cada ida ao BCTG (item 2.c.1)
Candidatos que se enquadrem no grupo de risco acrescido para a forma severa da doença	--	Excluídos (item 2.b)	Não informado*
Candidatos devem realizar testes de triagem laboratorial RT-PCR para detecção do vírus SARS-CoV-2	--	Não foi especificado	Obrigatório (item 2.c.5)
Prazo para a realização da RT-PCR	--	--	Até 05 dias antes da coleta seminal/oocitária (item 2.c.7)
Candidatos devem fazer isolamento social do início da estimulação ovariana até a captação oocitária	--	--	Sim
Candidatos com resultados prévios de testagem sorológica IgG positivo, IgM e IgA positivos	--	--	Avaliados pelo médico responsável técnico pelo BCTG, quanto à realização de RT-PCR

Quadro 03 – Diretrizes e atualizações da ANVISA para a realização dos procedimentos de RHA durante a pandemia por COVID-19 – Candidatos a doação de gametas e embriões, nacionais e internacionais.

Nota 1: As especificações “item, número e letra” entre parênteses se referem à localização do tópico sobre o assunto na NT específica.

Nota 2: *Entende-se que, cumprindo todos os requisitos para doação, devem estar aptos.

Diretrizes	NT N° 12/2020 01/04/2020	NT N° 23/20 12/05/2020	NT N° 72/20 08/10/2020
Pacientes prioritários no retorno aos tratamentos	Inaptos (item 2)	Pacientes com reserva ovariana reduzida ou idade materna avançada	--
Pacientes que apresentam qualquer sinal ou sintoma da doença	Inaptos (item 2)	Inaptos para realização do procedimento (incluindo coleta e armazenamento de gametas e embriões) (item 2.b)	- Realizar RT-PCR para detecção DE SARS-CoV-2. Resultado negativo: aptos para o tratamento; OU - Aguardar 28 dias para a melhora dos sintomas para retomar o tratamento (item 2.d.2)
Pacientes que testarem positivo para SARS-CoV-2 pelo teste laboratorial durante o tratamento	Inaptos (item 2)	Inaptos (item 2.b)	Ciclo deve ser cancelado (item 2.b)
Pacientes que testarem positivo para SARS-CoV-2 pelo teste laboratorial entre a coleta oocitária e a transferência embrionária	--	Inaptos (item 2.b)	A transferência deve ser cancelada; embriões devem ser armazenados em <i>containers</i> de N ₂ líquido específico para SARS-CoV-2 ou em sistemas fechados de vitrificação ou em <i>container</i> abastecidos por vapor de N ₂ (item 2.d.3)
Pacientes com resultados de triagem laboratorial IgG positivo, IgA e IgM negativos	Inaptos	--	Aptos. Não é necessária a testagem por RT-PCR para detecção de SARS-CoV-2 (item 2.d.5)
Realização de testes rápidos ou testes de triagem laboratorial não registrados pela ANVISA	--	Não especificado	Não permitido (item 2.d.6)

Quadro 04 – Diretrizes e atualizações da ANVISA para a realização dos procedimentos de RHA durante a pandemia por COVID-19 – Pacientes.

Nota 1: As especificações “item, número e letra” entre parênteses se referem à localização do tópico sobre o assunto na NT específica. ■

ASSUNTOS REGULATÓRIOS



Marcelo Medeiros

EVENTOS ADVERSOS EM REPRODUÇÃO HUMANA ASSISTIDA E AS NOTIFICAÇÕES EM BIOVIGILÂNCIA

Biovigilância é o conjunto de ações de monitoramento e controle que abrange vários procedimentos terapêuticos que utilizam células, tecidos e órgãos (CTO) humanos, incluindo os relacionados à Reprodução Humana Assistida (RHA), desde a doação até a evolução clínica do receptor, do doador vivo ou prole, com o objetivo de obter e disponibilizar informações sobre riscos e eventos adversos, a fim de prevenir a sua ocorrência ou recorrência.

Nos últimos anos, Sistemas de Biovigilância têm se desenvolvido em alguns países no mundo, inclusive no Brasil, com base nos princípios de voluntariedade e caráter educativo e não punitivo das notificações dos eventos adversos. O Sistema Nacional de Biovigilância (SNB) brasileiro foi oficialmente instituído, recentemente, pela RDC/Anvisa nº 339, em fevereiro de 2020, tornando obrigatórios o registro e a notificação de eventos adversos sob escopo da Biovigilância no país. Além da

definição legal de prazos, fica determinado que todo profissional da saúde deve estar apto a comunicar eventos adversos ao SNB. Assim, devem ser notificados ao SNB qualquer evento adverso ou resposta indesejada observada em uma pessoa, levando a dano(s), denominadas como Reações Adversas, que pode(m) estar associada(s) a situações de deficiência ou condições de incapacitação temporária ou permanente, transmissão de doença, necessidade de intervenção médica, hospitalização ou prolongamento do período de internação, risco à vida ou óbito. No caso dos eventos adversos sem ocorrência de dano direto ou indireto ao indivíduo, estes deverão ser registrados em formulário próprio no serviço de saúde e mantidos à disposição da vigilância sanitária competente.

Atualmente, o SNB conta com uma Ficha única nacional de notificação de Reações Adversas para os procedimentos em geral envolvendo o uso terapêutico de CTO, inclusive aqueles relacionados à RHA.

Trata-se de um formulário online de notificação individual utilizado para a coleta padronizada de dados, tratamento e análise das informações, disponível no endereço eletrônico:

http://formsus.datasus.gov.br/site/unidade.php?id_aplicacao=15682

Não é necessário cadastro prévio para que o profissional de saúde possa acessar a Ficha e realizar a notificação, que deve ser feita conforme os prazos preconizados, na simples suspeita, mesmo que nem todas as informações estejam disponíveis no momento, podendo ser acessada, posteriormente, para inserção ou alteração de informações.

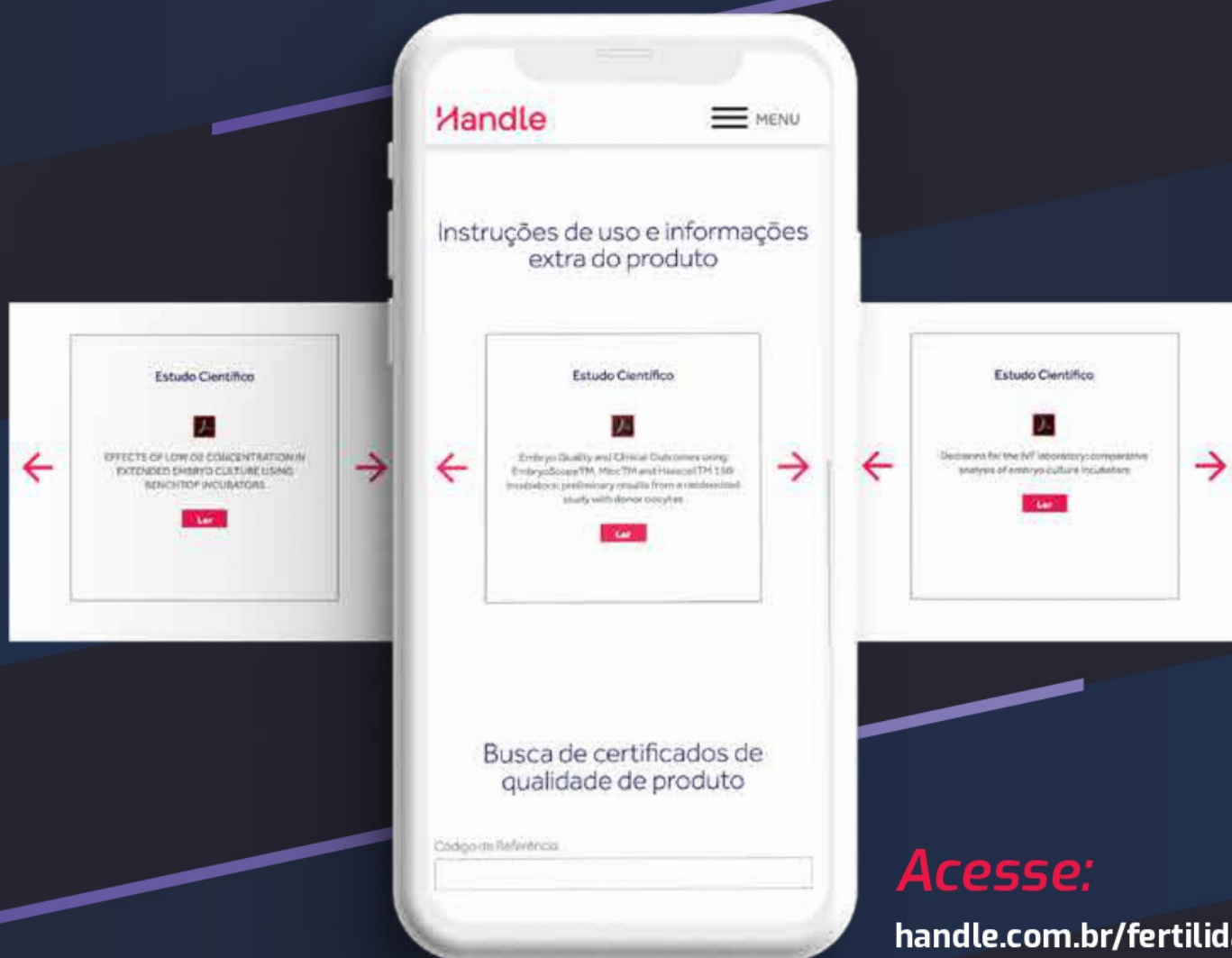
A realização da comunicação nacional de Reações Adversas associadas à Biovigilância de forma oportuna pode facilitar ações urgentes, como um recall de produtos ou materiais críticos, ou a quarentena de tecidos ou células, permitindo, por exemplo: romper uma cadeia de contaminação, bloqueando imediatamente outras CTO do mesmo doador. Dessa forma e através da retroalimentação com identificação da(s) falha(s) da cadeia e estabelecimento de medidas corretivas, a Biovigilância cumpre um papel fundamental no processo de redução e prevenção de riscos decorrentes dos procedimentos de RHA, com o objetivo final de alcançar uma maior segurança para o paciente e o aumento da qualidade dos produtos e serviços.

Como perspectivas para o ano de 2021, está em fase de elaboração um estudo piloto, coordenado pela Anvisa, que contará com a participação de 43 serviços da área de RHA. O objetivo deste estudo será a validação de uma ficha de notificação específica de Reações Adversas de Biovigilância para a área de RHA e, desta forma, facilitar o preenchimento e o compartilhamento de informações deste processo de trabalho. Até que haja a definição desta nova ficha específica como instrumento oficial de notificação, os serviços de RHA devem continuar notificando as Reações Adversas na ficha atual disponível, que engloba as Reações Adversas de todos os processos de trabalho envolvidos no escopo em Biovigilância.

**"A Biovigilância
cumpre um papel
fundamental no
processo de redução
e prevenção de
riscos decorrentes
dos procedimentos
de RHA"**

Para orientações detalhadas sobre o preenchimento e melhor compreensão do processo de notificação, acesse o Manual de Biovigilância em CTO e as Orientações para preenchimento de ficha de notificação, disponibilizados [neste link](#) pela Anvisa. ■

Confira todo o conteúdo científico disponível em nosso site!



35
ANOS

Handle

FERTILIDADE

Ponto em Pauta

Highlights CBRA 2020

Sala Clínica:

- Debate da Fertilidade: PGT-A vs não PGT-A *por Maria do Carmo Borges de Souza*
- Mesa 1: Protocolos de Estimulação Ovariana *por Hitomi Miura Nakagawa*
- Debate de Fertilidade: Janela de Implantação- sua avaliação é fundamental? *por Adelino Amaral Silva*
- Mesa 3: Andrologia e RA *por Paulo Taitson*

Sala Embriologia:

- Mesa 1: Laboratório em Foco *por Bernardo Lamounier*
- Debate da Fertilidade: Single ET x Multiple ET *por Luiz Mauro Gomes*
- Mesa 2: Cultivo Embrionário *por Bruna Barros*
- Mesa 3: Novas Tecnologias em RA *por Joyce Fioravanti*
- Debate de Fertilidade: Interação clínica X laboratório *por René Busso*
- Mesa 4: Sessão Interativa *por Iris Cabral*

Nota: ao serem convidados, um dos coordenadores de mesa preferiu não colaborar, e não obtivemos resposta do outro (Mesas 2 e 4 da Sala Clínica, respectivamente).

Debate da Fertilidade: PGT-A x não PGT-A

Maria do Carmo Borges de Souza

Este Debate da Fertilidade foi a primeira apresentação no Congresso Brasileiro de Reprodução Assistida, em 2 de outubro, um ponto alto numa programação extremamente interessante, cujos aspectos controversos foram defendidos por grandes debatedores. Em uma ocasião de ponto X contraponto, de um lado tivemos Antonio Capalbo (diretor científico da Igenomix) defendendo a realização de PGT-A (*Preimplantation Genetic Testing for aneuploidies*), e do outro, Richard Paulson (Southern California University) apresentando os argumentos contrários.

Havia uma certa preocupação dos organizadores quanto a esta mesa, pois ambos os palestrantes são bastante conhecidos e reconhecidos por seus trabalhos e posições, além de o tema ser palpitante. Entretanto, as apresentações foram perfeitas, claras e elegantes, cada um defendendo sua posição num debate cordial e até chegando a trocar considerações de comum acordo.

PGT-A: SIM

Antonio Capalbo

De acordo com o exposto pelo palestrante, as aneuploidias são conhecidamente erros meióticos constitucionais, mais frequentes com a idade avançada da mulher e facilmente

diagnosticadas pela técnica do PGT-A em blastocistos. Ainda, citou dados da SART (Society for Assisted Reproductive Technology), de 2016, que mostram que a taxa cumulativa de nascidos vivos (LBR) por oócito coletado diminui de 54,3% em pacientes com menos de 35 anos para 13,4% em mulheres de 41-42 anos. A técnica do PGT-A seria, então, eficaz e capaz de reduzir o tempo até a gravidez, com implantação similar, sem aumentar, no entanto, a taxa de nascidos vivos, como vem sendo publicado em trabalhos de Scott, Rubio e dele mesmo, por exemplo. Ressalta que é necessário sempre avaliar a relação custo/efetividade do método.

Por outro lado, ressaltou a diferença entre erros de segregação pós-fertilização, portanto mitóticos, que podem causar os mosaicismos, definidos pela presença de 2 ou mais cariótipos distintos no embrião. Eis aqui o grande ponto de controvérsias. Os mosaicismos não aumentam com a idade, e, além disso, a infertilidade e as técnicas de Reprodução Assistida não aumentam a sua frequência.

O ponto-chave sustentado por Capalbo e demais defensores do método é que, embora o diagnóstico de aneuploidia sustente a não-transferência de um blastocisto, o diagnóstico dos mosaicos deve ser bem esclarecido. A acurácia é extremamente alta nos testes realizados, desde que os critérios adequados para o

Maria do Carmo Borges de Souza

diagnóstico, como laboratórios com alto padrão de qualidade e profissionais devidamente capacitados, sejam atendidos.

Segundo Capalbo, a grande questão é a não uniformização dos procedimentos e a caracterização fracamente validada dos mosaicos entre laboratórios. Ele citou bem o exemplo da não-uniformidade evidente dos centros, mesmo os americanos, e também definiu que, na presença de mosaicos, deve haver uma escolha prioritária de transferência desde os euploides, seguido pelos supostos mosaicos (*putative mosaics*), com prioridade então pelos mosaicos de baixo grau, ainda que, comprovadamente, com menor expectativa em relação aos euploides.

"A grande questão é a não uniformização dos procedimentos e a caracterização fracamente validada dos mosaicos entre laboratórios"

Admitiu que recentemente há um excesso de propagandas da técnica, pela sua empresa, mas contestou Gleicher transferindo aneuploides, que na sua opinião são derivados meramente de falhas de diagnósticos pré-implantacionais. Questionou os trabalhos

"matemáticos" de Paulson, mostrando que, se as devidas correções forem executadas, as diferenças caem.

PGT-A: NÃO

Richard Paulson

O palestrante apresentou a evolução do PGT, que considera teoricamente um método de ideia brilhante, mas que potencialmente está levando ao descarte de embriões que teriam potencial de nascer, basicamente pela presença de falsos diagnósticos positivos e por danos que podem estar sendo causados nos embriões pela realização das biópsias embrionárias.

"O PGT, potencialmente, está levando ao descarte de embriões que teriam potencial de nascer"

Questionou o fato de que se 50% das euploidias fossem corretas, matematicamente esperaria-se que estes embriões, uma vez transferidos, tivessem 100% de implantação, que também pode ter sua diminuição imputada a uma biópsia falha em qualidade. Mostrou dados do estudo STAR, onde o resultado de pacientes com menos de 35 anos foram iguais ou pouco menores que daquelas sem o PGT-A,

PGT-A x não PGT-A

Maria do Carmo Borges de Souza

ressaltando a eficácia nas pacientes de até 40 anos e defendendo, então, que todos os embriões sejam transferidos, para não perder oportunidades de quem já pode ter tão pouca resposta. Questionou uma posição de *marketing* predominando sobre uma técnica em evolução, defendendo um lado de arte científica, segundo ele com uma necessidade de maior clareza nas informações aos pacientes.

Nas perguntas que se seguiram, ambos concordaram que a situação, mediante o PGT-A, de afastar aneuploidias que poderiam evitar a implantação e desenvolvimento do embrião aneuploide, como a trissomia do cromossomo 21, num país como o nosso onde o aborto não é permitido, estaria plenamente justificado. Igualmente, ambos estiveram de acordo na indicação para as perdas gestacionais

de repetição (RPF), com uma interessante discussão de que um estudo randomizado seria bem desejável e bem-vindo. Capalbo observou, no entanto, que discutiu este tópico no Kings College, mas o número de casos necessários para se ter uma afirmação robusta seria extremamente difícil de se conseguir. ■



Mesa 1: Protocolos de Estimulação Ovariana

Hitomi Miura Nakagawa

No XXIV Congresso Brasileiro de Reprodução Assistida, pudemos contar com três grandes ícones mundiais nas apresentações: Nikolaos Polyzos, Filippo Ubaldi e Sesh Sunkara. O campo da Reprodução Assistida permanece em constante evolução em busca de eficiência, melhores resultados, maior segurança e ações para simplificar os procedimentos.

PICO DE LH

Com o objetivo de se obter mais oócitos maduros coletados para a atuação do embriologista, há anos foi preconizado o controle do pico de LH durante a estimulação ovariana. Mais recentemente, baseado no mecanismo da progesterona de bloquear o eixo hipotálamo-hipofisário, existe a proposta dela substituir os medicamentos injetáveis em uso para tal fim: o *prime de progesterona* - com a vantagem de ser mais acessível e amigável, por possibilitar o uso oral. Os resultados obtidos em termos de taxa de fertilização e de gestação clínica relatados nos trabalhos de literatura levam a crer que seriam semelhantes aos obtidos com os agonistas do GnRH (utilizados atualmente). Vale lembrar que, devido à alteração endometrial que o bloqueio com progesterona provoca, os embriões obtidos deverão ser todos criopreservados (*freeze all*) para transferência futura ao útero.

Vários serviços brasileiros já têm se engajado em oferecer esse novo protocolo para ciclos de doadoras de oócitos, devido à redução significativa do custo final com medicamentos do ciclo.

"O *prime* de progesterona teria a vantagem de ser mais acessível e amigável, por possibilitar o uso oral"

DUOSTIM

O segundo tópico abordado foi o *DuoStim*, nome amigável dado para o protocolo em que após uma coleta oocitária e descanso de alguns dias, emenda-se um novo período de estimulação para que, num mesmo ciclo menstrual, aconteçam duas induções da ovulação e se consiga aumentar o número de oócitos maduros para o trabalho no laboratório de reprodução assistida. A técnica é possível devido ao conhecimento de que cerca de 70% das mulheres apresentam duas ondas de maturação folicular e 30%, três ou mais, durante um ciclo menstrual. Esse acontecimento também permite que outros novos regimes de estimulação ovariana possam ser propostos, como o *"random start"*, isto é, início da medicação

Protocolos de estimulação ovariana

Hitomi Miura Nakagawa

indutora de ovulação em qualquer fase do ciclo, como exigem os casos de preservação urgente dos gametas (em câncer, por exemplo). O protocolo é preconizado para pacientes com baixa resposta ou reserva ovariana, idade avançada, ou que necessitem acumular mais oócitos em curto espaço de tempo.

"O conhecimento de que as mulheres apresentam duas ou mais ondas de maturação folicular permite que outros novos regimes de estimulação ovariana possam ser propostos"

Sabe-se que o aumento do número de oócitos pode levar a maior número de blastocistos euploides, incrementando as estatísticas de nascidos vivos por ciclo, já que não haveria diferença de competência em relação aos oócitos obtidos na primeira ou segunda coletas. A proposta é defendida também por reduzir os riscos de descontinuação do tratamento após um ciclo frustrado; porém, aspectos como eficácia, eficiência ou custo-efetividade em relação a dois ciclos de estimulação ovariana convencional estão para ser avaliados.

BAIXA RESPOSTA

Um dos maiores desafios que existe em relação aos protocolos de estimulação ovariana diz respeito à **baixa resposta**, cujas portadoras também são chamadas de "pobres respondedoras" - termo com sugestão para ser abandonado, devido à estigmatização e trauma que podem desencadear. A começar pela definição do quadro em relação a uma estimulação ovariana convencional: menor ou igual a três folículos no dia do *trigger* de LH e/ou menor ou igual a três oócitos coletados, é caso de difícil abordagem para aumentar o número de oócitos maduros obtidos. As estratégias envolvem tipo de supressão do pico de LH, que não parece ter resultados divergentes em relação ao agonista do GnRH utilizado. Afora a dosagem de gonadotrofinas a ser utilizada nos protocolos convencionais para a obtenção dos oócitos, a abordagem deve ser personalizada.

"A baixa resposta à estimulação da ovulação segue como desafio e longe de se ter uma recomendação robusta de abordagem"

Vários adjuvantes para ajudar no aumento da resposta ovariana têm sido

Protocolos de estimulação ovariana

Hitomi Miura Nakagawa

propostos (hormônio de crescimento, deidroepiandrosterona, testosterona), porém não há evidências científicas para a recomendação de se adicionar qualquer deles aos protocolos na prática clínica, uma vez que os estudos são pequenos, com populações heterogêneas, resultados inconsistentes, de baixa qualidade e insuficiência de dados quanto à segurança no uso. Apesar do entusiasmo inicial pelo rejuvenescimento ovariano, os trabalhos subsequentes não têm se mostrado tão animadores. Portanto, a baixa resposta à estimulação da ovulação segue como desafio e longe de se ter uma recomendação robusta de abordagem. ■



Debate de Fertilidade: Janela de Implantação - sua avaliação é fundamental?

Adelino Amaral Silva

Uma das situações que mais nos afligem nos tratamentos de fertilização *in vitro* é a falha de implantação embrionária -- tema muito estudado, porém, sem avanços expressivos nos últimos anos.

Sabemos que, na implantação embrionária, existe uma interação entre um embrião competente e um endométrio receptivo. Alguns estudos mostram que um terço dos embriões euploides falham em implantar por alteração endometrial. Desde a década de 50 com o clássico e elegante trabalho de Noyes-Hertig-Rock, estuda-se o conceito de janela de implantação, momento no qual o endométrio fica apto para receber o embrião.

Durante o Congresso Online da Sociedade Brasileira de Reprodução Assistida - 2020, a comissão científica colocou este polêmico tema em um debate intitulado “Janela de implantação - Sua avaliação é fundamental?”. Foram convidados os professores Carlos Simón e Pedro Monteleone para discutirem o tema.

Dr. Carlos Simón deu início à sua apresentação e, de maneira honesta e elegante, informou ter conflitos de interesse sobre o tema, pois faz parte da empresa que desenvolveu um teste para estudo da receptividade endometrial – *Endometrial Receptivity Array* (ERA).

Demonstrou que a janela de implantação é iniciada pela ação da progesterona que, além das transformações morfológicas, induz diversas alterações moleculares no endométrio que são controladas por genes expressos neste momento. Esta janela varia do sexto ao nono dia pós pico de LH em ciclos naturais e do quarto ao sétimo dia de progesterona em ciclos de preparação hormonal do endométrio para transferência de embriões congelados. A transição da avaliação histopatológica convencional para a análise molecular do endométrio possibilita individualizar os tratamentos através do estudo de 238 genes que se expressam na janela de implantação, criando uma assinatura transcriptômica. Com o uso de uma plataforma de inteligência artificial e algoritmos, é possível a individualização da janela de implantação da paciente, criando o conceito de transferência personalizada (PET - *personalized embryo transfer*).

O ERA classifica o endométrio em receptivo, pré-receptivo e pós-receptivo. Dr. Simón informou que 20-40% dos endométrios, analisados em vários estudos, não são receptivos, predominando entre estes o pré-receptivo.

A evidência científica do ERA, segundo Dr. Simón, foi demonstrada pelo seu grupo

em estudo prospectivo randomizado multicêntrico publicado na RB Online em 2020. Foram comparadas mulheres na sua primeira transferência de blastocisto único, separadas de acordo com o tipo de preparo endometrial. Inicialmente o estudo foi iniciado com 454 pacientes, porém teve elevada taxa de *drop out*, restando 266 pacientes ao final. Três grupos foram definidos: transferência de embrião congelado com preparo de endométrio personalizado com o ERA (n = 80), transferência de embrião congelado com preparo convencional (n = 92) e transferência a fresco (n = 94).

"A taxa cumulativa de nascidos vivos mostrou-se maior no grupo que realizou preparo endometrial conforme o ERA."

Os resultados apresentados não mostraram diferenças estatísticas entre os grupos nos desfechos de nascidos vivos por intenção de tratamento, ou mesmo quando comparado à primeira transferência embrionária. A taxa cumulativa de nascidos vivos mostrou-se significativamente maior no grupo que realizou preparo endometrial conforme o ERA.

Como contraponto, Dr. Pedro Monteleone apontou, com muita ênfase, que ainda temos muito o que aprender com o estudo da receptividade endometrial, e que o próprio conceito de falha recorrente de implantação é algo indefinido. Ressaltou que o corpo de evidência no tema é de baixa qualidade e citou um trabalho publicado em outubro de 2020 no JARG por Cozzolino *et al.*, que demonstrou a ineficiência do ERA em mulheres com falha de implantação. Vale ressaltar que alguns autores deste trabalho são participantes dos trabalhos iniciais de validação do ERA.

Durante a discussão foram feitos questionamentos e observações pelo coordenador da sessão e pela audiência. O único estudo prospectivo randomizado não mostrou diferenças entre os grupos estudados com relação ao desfecho primário que foi registrado no Clinical Trials (taxa de nascidos vivos). A taxa cumulativa de nascidos vivos foi maior no grupo ERA (desfecho secundário).

Outro questionamento foi relacionado ao estudo retrospectivo em falha de implantação de Patel *et al.*, que repetiu o ERA após ajuste da progesterona em 21 casos. Este estudo mostrou que a janela continuava deslocada em 10 casos (47,6%). Dr. Simón argumentou que com a nova geração do ERA a repetição do exame não é mais necessária.

Janela de implantação

Adelino Amaral Silva

Dr. Simón foi questionado se seria ético oferecer um exame invasivo e caro a todas as pacientes de FIV, à luz das evidências científicas. Ele respondeu que sim pois, de acordo com seu estudo recentemente publicado, aumentaria em 15% a chance de sucesso em termos de nascidos vivos. Como contraponto, Dr. Pedro voltou a ressaltar as falhas metodológicas do estudo, e que acredita não termos ainda base científica para indicar ERA para todas as pacientes.

Fica posto a discussão que foi de excelente nível, sobre um tema em constante atualização.

Cabe-nos na prática diária individualizar os tratamentos, de acordo com o julgamento clínico e a interpretação da evidência científica disponível. ■



Mesa 3: Andrologia e RA

Paulo Franco Taitson

Outra mesa geradora de enorme impacto pelos congressistas foi a de andrologia, área dedicada ao estudo e cuidado diagnóstico, terapêutico e prognóstico da saúde reprodutiva masculina. Os participantes acompanharam palestras com ícones da atividade, que debateram sobre manejo do paciente azoospérmico, fragmentação do DNA espermático e uso de espermatozoides testiculares, e tratamento clínico da infertilidade masculina. Os palestrantes convidados foram Rupin Shan, pioneiro na infertilidade masculina na Índia, e o diretor do Centro de Andrologia e de pesquisa do Centro Americano de Medicina Reprodutiva da Cleveland, nos Estados Unidos, Ashok Agarwal, além de Edson Borges Jr, diretor do Fertility Medical Group e ex-presidente da SBRA.

Temas diversos que se convergiram a todo momento foi uma característica peculiar das apresentações. A abordagem da azoospermia esteve presente: é caracterizada como a ausência de espermatozoide no sêmen, geralmente por causa a investigar. O achado acomete apenas 1% dos homens, mas cerca de 20% dos inférteis são azoospérmicos. As principais causas são falência dos testículos e ausência ou bloqueio dos vasos encarregados de levar os gametas masculinos ao meio externo.

Enfatizou-se, oportunamente, a importância de um diagnóstico correto de análise seminal para os casais - toda amostra que não apresentar espermatozoides no exame a fresco deve seguir em avaliação laboratorial. Com isso, valoriza-se os resultados de centrifugação de alíquota ou volume total do sêmen ejaculado de pacientes com diagnóstico de azoospermia, para determinar qual o melhor método a ser empregado na análise seminal para esse grupo de pacientes.

"Enfatizou-se a importância de um diagnóstico correto de análise seminal para os casais"

Para casais com o diagnóstico de azoospermia pela análise seminal, algumas opções para o tratamento podem ser ofertadas. Atualmente, os métodos de recuperação de espermatozoides testiculares, em conjunto com a técnica de ICSI (injeção intracitoplasmática de espermatozoides), oferecem ao casal uma possível chance de gravidez. Existe ainda a opção de uso de sêmen de doador, usada por aqueles homens que não apresentam espermatozoides no ejaculado ou mesmo

no epidídimo, ou que não desejam ser submetidos ao procedimento cirúrgico. Entretanto, muitos casais desistem de engravidar pela complexidade do tratamento e muitas vezes encontram na adoção de uma criança uma maneira de adquirir a paternidade.

“Evidências recentes sugerem que a integridade da cromatina do DNA seja muito importante para a fertilidade masculina”, apontou o Dr. Ashok Agarwal. A estrutura da cromatina do espermatozoide pode ser mensurada por vários métodos, incluindo os ensaios Tunnel e Cometa, assim como citometria de fluxo após tratamento com ácido e coloração dos espermatozoides com laranja de acridina. Estes testes avaliam o grau de fragmentação de DNA que ocorre após tratamento químico do complexo DNA-cromatina dos espermatozoides, e que podem refletir indiretamente má integridade do DNA dos mesmos.

O DNA fragmentado em excesso tende a não ocorrer em homens férteis, mas pode ser encontrado em 5% dos homens inférteis com qualidade seminal normal e 25% dos homens inférteis com análise seminal alterada. Este teste pode detectar infertilidade que, porventura, não tenha sido diagnosticada em uma análise seminal.

Muitas vezes reversível, as causas de fragmentação do DNA incluem o uso de cigarros, algumas patologias, hipertermia, poluição atmosférica, infecção e varicocele. Uma indicação atual para a pesquisa de fragmentação do DNA espermático é a presença de infertilidade sem causa aparente. Apesar de ser um exame menos conhecido e menos frequentemente indicado que o espermograma, o ensaio de fragmentação de DNA é um teste fundamental e complementar para a avaliação seminal.

Entende-se por DNA fragmentado aquele que apresenta “quebras” em sua cadeia. Quando essas quebras estão presentes a um nível baixo, podem ser reparadas no oócito após fertilização. Para além de um certo nível de quebras, o processo de reparação não pode ser realizado de forma satisfatória a permitir o desenvolvimento embrionário normal.

"O ensaio de fragmentação de DNA é um teste fundamental e complementar para a avaliação seminal"

Quando se avalia a melhor forma de tratamento clínico para os pacientes com azoospermia obstrutiva, foi observado, em tese, que os procedimentos microcirúrgicos são melhores na relação custo-benefício ao comparar com as técnicas de reprodução assistida. Vale ressaltar a necessidade de estabelecer parâmetros quanto à idade da mulher.

Entretanto, a disparidade entre as taxas de permeabilidade da anastomose microcirúrgica e as taxas de gravidez resulta em alguns questionamentos. Muito embora as técnicas de reprodução assistida sejam necessárias nestes casos, a reconstrução microcirúrgica não deve ser considerada um procedimento desnecessário. Em primeiro lugar, com a conversão do estado de azoospermia para oligozoospermia, o paciente que possui espermatozoides no ejaculado poderá utilizar as técnicas de reprodução assistida sem a necessidade de um procedimento cirúrgico adicional. Desta forma, a reconstrução microcirúrgica bem

sucedida (permeabilidade da anastomose do trato reprodutivo) melhora o estado de fertilidade desse grupo de pacientes, tornando-os candidatos à ICSI com espermatozoides do ejaculado, inseminação intrauterina e até mesmo torna o paciente capaz de estabelecer gravidez naturalmente.

A discussão foi concluída com a assertiva de se avaliar o casal na essência do cuidado devido ao fator masculino. ■



Mesa 1: Laboratório em Foco

Bernardo Lamounier

A primeira mesa realizada na sala da Pronúcleo foi composta por grandes nomes e temas de extrema relevância para a rotina do embriologista.

Como ter excelência no controle de qualidade do laboratório

Lidia Cantu

A primeira palestra foi proferida pela Dra. Lidia Cantu, que abordou a importância da excelência no controle de qualidade do laboratório. Interessantemente, fez uma associação do controle de qualidade laboratorial com um vitral mosaico, no qual pequenos fragmentos se encaixam e juntos concretizam a obra artística em sua excelência. Assim deve ser a gestão da qualidade: buscando a associação dos múltiplos fatores e variáveis que podem impactar no laboratório, por meio da utilização de processos e protocolos bem estabelecidos, equipe bem treinada e instrumentos de medição.

Avanços nas técnicas de vitrificação de oócitos e embriões

Joe Conaghan

O segundo tema foi apresentado pelo Dr. Joe Conaghan, que falou sobre os avanços nas técnicas de vitrificação de oócitos e embriões. Particularmente, esperava encontrar ali um “acalento” em algo novo e desconhecido porém esse “acalento” veio de outra forma.

Joe expôs brilhantemente que, melhor que os “avanços” na vitrificação, o melhor é fazer o “arroz com feijão” bem feito, preocupando-se com os volumes e tempos nas soluções de acordo com os protocolos.

Diferentemente do que vemos muito por aí, afirmou que muitas vezes há perda sim de material e que há particularidades ainda desconhecidas em relação à qualidade oocitária em pacientes nos quais a sobrevivência é mais baixa. Entretanto, a excelência na execução da técnica permite a obtenção de >90% de sobrevivência, em média.

"Muitas vezes há perda sim de material e há particularidades ainda desconhecidas em relação à qualidade oocitária em pacientes nos quais a sobrevivência é mais baixa"

PGT-a Não invasivo, futuro ou realidade?

Carlos Simón

O terceiro e último tema foi apresentado pelo Dr. Carlos Simón, que falou sobre PGT-a não invasivo. Seguindo os padrões de conteúdo já apresentados em

Laboratório em foco

Bernardo Lamounier

webinars oferecidos pela companhia a qual representa, demonstrou com clareza o processo evolutivo e aprendizado que tiveram no desenvolvimento da técnica até o estabelecimento do padrões alcançados, e os resultados publicados no artigo científico deste ano.

Como destaque desta aula, enfatizo as indicações de uso para o teste, o qual não substitui a biópsia embrionária em si mas poderia ser utilizado para pacientes nas quais não teriam indicação de biópsia - por exemplo, pacientes mais jovens. Outro destaque foi uma pergunta realizada na discussão sobre a confiabilidade do teste

e se já estaria pronto para o uso e indicação clínica, à qual Dr. Carlos Simón foi enfático ao responder que sim.■



Debate da Fertilidade: *Single ET x Multiple ET*

Luiz Mauro Gomes

Neste debate, vimos o Dr Javier Crosby defendendo a transferência de embrião único (SET - *single embryo transfer*) e o Dr Javier Garcia defendendo a transferência de múltiplos embriões (MET - *multiple embryo transfer*).

Transferência múltipla (MET)

Javier Garcia

Dr Javier Garcia, apesar de estar defendendo a MET, começou sua apresentação mostrando os riscos da gravidez múltipla: o risco de prematuridade aumenta em 12 vezes, o de baixo peso aumenta em 16 vezes, os problemas respiratórios aparecem em uma frequência 5 vezes maior que em uma gravidez única, e existe um risco aumentado de aborto, mortalidade materna e fetal. Sendo assim, a decisão de transferência de múltiplos embriões deve ser tomada após discussão ponderada entre médico, embriologista e paciente.

Do ponto de vista médico, a transferência de múltiplos embriões evitaria o fracasso do ciclo, uma vez que aumentaria a probabilidade do êxito. No quesito laboratorial, para transferência de apenas um embrião, seria necessário absoluta excelência em cultivo estendido, programa de vitrificação (uma vez que as taxas cumulativas acabam se comparando às de MET) e controle de qualidade.

Já os pacientes consideram sua decisão mais importante, pois querem diminuir o custo e o tempo do tratamento, buscando a gravidez no menor tempo possível - assim, tendem a minimizar as complicações de uma gravidez múltipla.

"Para transferência de apenas um embrião, seria necessário absoluta excelência em cultivo estendido, programa de vitrificação e controle de qualidade."

No último reporte da REDLARA (2017), foi apontado que 26,8% dos centros cadastrados transferem apenas um embrião e 73,1% transferem dois ou mais embriões (2% transferem quatro ou cinco), com uma média de 1,89 embriões transferidos - ou seja, existe uma tendência para transferência de dois embriões. Os vários estudos apresentados pelo palestrante apontam uma taxa significativamente maior de gravidez e nascidos vivos quando dois embriões são transferidos, independente de serem frescos ou descongelados, em estágio de clivagem ou blastocisto.

Transferência única (SET)

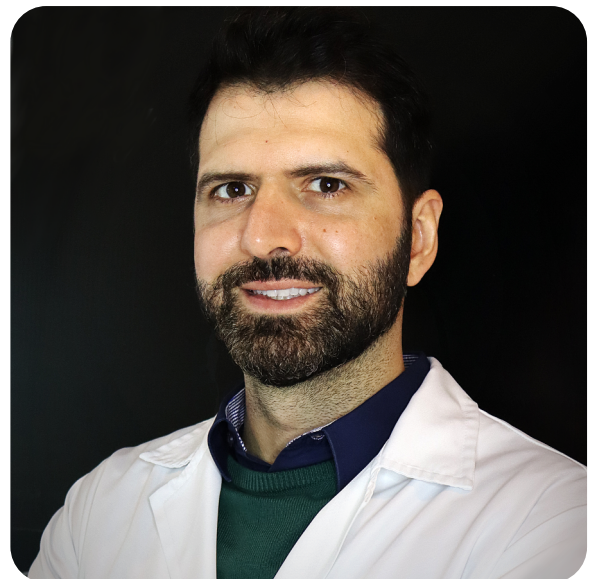
Javier Crosby

Dr Javier Crosby iniciou sua apresentação mostrando os dados da REDLARA de 2018, com 17.863 partos, dos quais 17,3% foram gemelares e 0,4% trigemelares. Dos partos gemelares, 15% foram de pacientes com idade acima de 39 anos e 21% de pacientes acima de 35 anos. A proposta defendida pelo palestrante é que a redução do número de embriões transferidos para mulheres com menos de 35 anos reduziria a incidência de gestação múltipla, sem diminuir a taxa de transferência por parto. Após transferência de embrião único em mulheres com menos de 35 anos, 98,3% tiveram gestação única, 1,7% tiveram gestação gemelar e não houve gestação trigemelar; quando dois embriões foram transferidos e geraram gravidez, 72,4% delas foi única, 27,2% foi gemelar e 0,4% trigemelar; das gestações resultantes de transferências triplas, 68,4% foram únicas, 27,9% foram gemelares e 3,7% trigemelares.

Assim, a transferência de mais de um embrião em mulheres mais jovens gera um aumento considerável na incidência de gestação múltipla. Como apontado anteriormente, foi reforçado que os partos múltiplos apresentam riscos aumentados: maior taxa de prematuridade, maior incidência de baixo peso ao nascer, e a mortalidade perinatal que normalmente gira em torno de 9,1% sobe para 21,5% em gêmeos e para 79,5% em trigêmeos.

Sendo assim, concluiu mostrando que é possível transferir um único embrião sem afetar as taxas de nascidos vivos, e que a transferência de três embriões não melhoraria em absoluto as chances de gravidez dentro do tratamento.

O palestrante termina reforçando o exposto pelo colega, que nem todos os laboratórios possuem o necessário para praticar a transferência única de embrião efetivamente em sua rotina (boas taxas de vitrificação, bom controle de qualidade, bom cultivo estendido). Entretanto, mostra que em um laboratório de boa qualidade, um número maior de transferências de embrião único pode ser melhor que a transferência de múltiplos embriões: transferir um blastocisto por vez - ao invés de dois na mesma transferência, por exemplo - geraria maiores taxas de gravidez. ■



Mesa 2: Cultivo Embrionário

Bruna Barros

Durante o XXIV Congresso Brasileiro de Reprodução Assistida contamos com a ilustre participação de David K. Gardner que, ao longo de sua carreira, se concentrou intensamente no metabolismo e fisiologia do embrião de mamíferos pré-implantação. Seus trabalhos foram a base para a geração das primeiras células-tronco embrionárias humanas, e assim Gardner se destaca sendo um dos maiores nomes em sistemas de cultivo embrionário do mundo.

Otimizando o cultivo embrionário

In vivo, o embrião em desenvolvimento pré-implantação é exposto a gradientes de nutrientes, hormônios, citocinas e fatores de crescimento, à medida que progride pela tuba uterina até sua chegada ao útero (Gardner, 2016).

A fertilização e o desenvolvimento do embrião *in vitro* têm o potencial de gerar, muitas vezes inadvertidamente, estresses que podem prejudicar o desenvolvimento do embrião em laboratório, e também ter efeitos após a transferência. As fontes de estresse no embrião incluem fatores químicos e físicos, identificados como mudanças de pH, temperatura e exposição ao oxigênio atmosférico (20%). Esta última é responsável por causar múltiplos efeitos negativos na expressão

gênica, epigenética, proteoma, metabolismo, taxa de clivagem, desenvolvimento a blastocisto e viabilidade embrionária, além do acúmulo de toxinas no meio devido à cultura estática.

No entanto, existem outras fontes de estresse, como o ato de pipetar ou a liberação de compostos orgânicos do próprio ambiente de cultura em que o embrião se desenvolve. Podemos citar como outras fontes de estresse oxidativo o preparo seminal e a criopreservação, que são capazes de gerar as Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), responsáveis por causar inúmeros impactos no ambiente de cultivo embrionário. Algumas delas seriam danos na membrana celular e DNA espermático, que atrasam o desenvolvimento embrionário, prejudicam a capacidade reprodutiva do oócito, reduzem a motilidade espermática e conseqüentemente a fusão oócito-espermatozóide, e podem gerar baixa qualidade e viabilidade dos embriões.

"As Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) causam inúmeros impactos no ambiente de cultivo embrionário"

A fim de minimizar o impacto do estresse e ROS no desenvolvimento embrionário, estudos em camundongos sugerem que o uso de antioxidantes podem ser uma forma de prevenção para gametas e embriões, além de melhorar o desenvolvimento embrionário.

Preconiza-se que a adição de antioxidantes nas soluções de criopreservação pode representar uma estratégia para aprimorar o desenvolvimento e a viabilidade do embrião. Segundo David, esses dados são promissores para a melhoria na transferência de embriões congelados e resultados na fertilização *in vitro*, porém estudos ainda estão em andamento para melhor avaliação.

À primeira vista, o cultivo embrionário parece um tanto simples; na realidade, está longe disso. Com o intuito de manter o potencial de desenvolvimento dos embriões, é preciso ter uma abordagem completa do laboratório, pois o cultivo embrionário é muito mais do que só o meio de cultivo. É essencial que sejam feitos planejamentos constantes de controle e garantia da qualidade, aliados a embriologistas capacitados.

Em conclusão, em sua apresentação David Gardner expõe: a cultura de embriões não foi otimizada, estamos trabalhando duro para melhorá-la constantemente.

"A cultura de embriões não foi otimizada, estamos trabalhando duro para melhorá-la"

Portanto, para um sistema de cultivo eficaz, é imprescindível identificar as fontes de estresse no cultivo embrionário durante a rotina do laboratório, para minimizá-los na prática da fertilização *in vitro*. ■



Mesa 3: Novas Tecnologias em RA

Joyce Fioravanti

A mesa se resumiu a uma discussão rica, que envolveu assuntos como inteligência artificial, morfocinética embrionária e avaliação oocitária. Foi liderada pelo Dr. Luis Arenaz, Dra. Mariabeatrice Dal Canto e Dra. Roberta Maggiulli.

Dra. Roberta Maggiulli discutiu vastamente sobre o início de tudo - o oócito: sua fisiopatologia, sua fundamentação molecular e o árduo trabalho que ele carrega até que finalmente fertilizado por um espermatozoide, possa passar o comando genético de si próprio para o genoma embrionário. Em ciclos estimulados, uma pequena fração dos oócitos coletados irá gerar o “*take-home baby*” (estima-se que menos de 10%). Sendo assim, quais as ferramentas que um embriologista pode lançar mão para identificar tão precioso gameta?

A principal ferramenta continua sendo a avaliação morfológica do oócito, além da identificação de parâmetros inadequados que podem indicar atividade citoplasmática sub-ótima. Entretanto, somente duas alterações são efetivamente preocupantes, segundo as evidências: o importante aumento do oócito (oócito “gigante”) ou a presença de “*clusters*” de retículo endoplasmático rugoso (SER).

Por provavelmente conter anormalidades genéticas, o oócito gigante deve ser desconsiderado do *pool* para fertilização, fato comprovado por microscopia polarizada. Por outro lado, oócitos que contêm SER, apesar de demonstrarem desfechos menos favoráveis, não são descartados na prática diária e são transferidos quando não há melhores opções. Por esse motivo, são encontrados bebês nascidos de embriões formados com estes oócitos.

A Dra. Maggiulli aponta ainda haver a falta de um preditor confiável da capacidade oocitária; no entanto, reflete que a associação do cultivo estendido, microscopia polarizada e biomarcadores moleculares possivelmente irão compor a solução para esta questão.

Trazendo então uma associação com o cultivo até blastocisto, a Dra. Mariabeatrice Dal Canto compartilhou sua vivência de mais de 6 anos de uso da tecnologia *time-lapse*. Dentre seus principais achados para seleção embrionária, reforçou que, além de procurar características morfocinéticas que remetam ao embrião com maiores chances de gestação, é de igual importância aprendermos a identificar os sinais morfocinéticos negativos (em outras palavras, aqueles que nos apontem para a redução das chances de implantação).

Dal Canto discutiu largamente como as clivagens diretas e clivagens reversas são negativas quando ocorrem em estágios precoces do desenvolvimento embrionário. Esses achados tornam-se fundamentalmente importantes para a diminuição do *time-to-pregnancy*, uma vez que podem evitar a escolha de embriões de menor potencial de gestação, tornando razoavelmente mais oneroso o caminho deste casal que deseja engravidar, tanto sob o ponto de vista físico, como também financeiro e emocional. De maneira quase contraintuitiva, a palestrante apontou que, como outras ferramentas de seleção embrionária, não é realista cobrar da tecnologia *time-lapse* um aumento significativo das taxas de gestação e de nascidos vivos, uma vez que recursos desta natureza observam somente uma parte do tratamento.

Uma outra face, representada pelo “útero receptor”, tem influências pouquíssimo compreendidas, além de quase imensuráveis, como qualidade de vida, envelhecimento, exposição a fatores extrínsecos, influência genética, obesidade... todos fatores que podem conduzir a alterações metabólicas nos oócitos (como nos mostrou a Dra. Maggiulli) e ainda gerar um cenário de baixa receptividade ao embrião transferido.

Lembrou que a grande quantidade de dados extraídos da análise morfocinética são ainda pobremente compreendidos, e que sua associação com os resultados de análise genética e inteligência artificial são fundamentais para a evolução desta ferramenta de seleção embrionária.

**"Não é realista
cobrar da tecnologia
time-lapse um
aumento
significativo das
taxas de gestação e
de nascidos vivos"**

Uma vez que mencionamos a inteligência artificial, vale partirmos para a palestra do Dr. Luis Arenaz. Trata-se de uma excelente oportunidade para termos contato com o olhar de um engenheiro de algoritmos envolvido com tecnologias de Reprodução Assistida, discorrendo sobre como a inteligência artificial já vem sendo utilizada de maneira robusta em uma outra ferramenta de seleção: a de doadoras de oócitos! Dr. Arenaz trouxe sua experiência na Europa em selecionar doadoras através de uma plataforma eletrônica que compara fotos de doadoras e receptoras, sem a intervenção dos olhos humanos, para traçar o melhor perfil de compatibilidade com base em atributos físicos.

Essa ferramenta é moderna e futurista, sem dúvida, mas aparentemente com utilidade mais concentrada em alguns nichos específicos: países em que há abundância de doadoras para seleção; ou ainda localidades em que a legislação não permite o acesso das receptoras a fotos das doadoras. O preço da frieza da seleção de uma doadora por um computador vem trazer uma recompensa valiosa às pacientes receptoras de óvulos: um *matching* mais seguro e com todas as informações criptografadas e respeitando as leis de proteção de identidade entre as partes envolvidas, sempre com atenção à regulamentação da região em questão.

Esse debate nos mostra que, indubitavelmente, nossas rotinas dentro das clínicas e laboratórios de reprodução assistida estão mais e mais envoltas em

novas tecnologias, que devem ser incentivadas e usadas de forma responsável. O futuro está à nossa porta, é promissor e depende de nosso empenho para ser bem desenvolvido e trazer resultados cada vez melhores a nossos pacientes. ■



Debate da Fertilidade: interação clínica X laboratório

René Busso

No referido debate, os convidados expuseram suas opiniões sobre os pontos de maior relevância clínica e laboratorial que poderiam influenciar nos resultados de um tratamento de reprodução assistida.

Dra. Natalia Basile, primeira palestrante, abordou as estratégias que podemos usar para otimizar os resultados das pacientes, e estratificou as abordagens de acordo com o tipo de paciente: baixas respondedoras, normorrespondedoras e hiper respondera.

Em baixas respondedoras, uma das estratégias seria o acúmulo de óvulos para posterior descongelamento e fertilização do total de óvulos acumulados e seleção do(s) melhor(es) embrião(ões) resultante(s). Para normorrespondedoras, com as quais obtemos resultados mais lineares, poderíamos selecionar o melhor embrião com o cultivo estendido a blastocisto - evitando transferência em D3 -, fazendo uso da tecnologia *time-lapse* quando disponível, e optando por transferência a fresco. No caso de hiper respondedoras, a abordagem de escolha seria a transferência em ciclo posterior para evitar um hiperestímulo, podendo, para isso, ser feita a criopreservação de óvulos e embriões - ambos com seus prós e contras.

Dr. Marcos Horton, por sua vez, reforçou a importância do controle de qualidade e expôs seu ponto de vista sobre a organização laboratorial. Discorrendo sobre a proficiência dos embriologistas, levantou pontos como acompanhamento dos dados de desempenho de cada profissional para incentivar um treinamento linear e resultados homogêneos dentro do laboratório.

Quanto à organização dos procedimentos, seria importante uma otimização do tempo dos embriologistas no sentido de planejamento de procedimentos eletivos - uma transferência de embriões descongelados, por exemplo, poderia ser programada para um dia em que não houvesse tantos procedimentos com punções e biópsias embrionárias.

Além disso, levantou a relevância da interdisciplinaridade e troca de visões entre médicos e embriologistas e da dedicação e individualização que devem ser dispensadas em cada caso. Ainda, defendeu que os embriologistas - e não os médicos, como é o caso de alguns serviços - devem ser os profissionais a eger o(s) embrião(ões) a ser(em) transferido(s), por terem acompanhado sua evolução.

Como indicado, pudemos ver que os palestrantes apresentaram pontos extremamente válidos ao debate, e que devemos considerar em nossa rotina.

"Os embriologistas -
e não os médicos -
devem ser os
profissionais a
eleger o embrião a
ser transferido"

■



Mesa 4: Sessão Interativa

Iris Cabral

Encerrando de forma brilhante o XXIV CBRA, a Pronúcleo mais uma vez inovou e reuniu grandes nomes da Embriologia no Brasil em uma sessão interativa para discutir temas e problemáticas importantes do dia a dia do embriologista. Foi uma sessão dinâmica e enriquecedora, com ampla participação dos congressistas, o que contribuiu ainda mais para o aprimoramento científico do debate.

São muitos os desafios que os embriologistas se deparam diariamente dentro do laboratório, situações inesperadas que nos exigem um profundo conhecimento das inúmeras variáveis que podem influenciar negativamente os gametas e o desenvolvimento embrionário.

Basicamente, todas as questões e discussões orbitaram em torno de processos que, de alguma maneira, são controlados diariamente e fazem parte do escopo de controle de qualidade do laboratório. Entretanto, mesmo com este controle realizado rigorosamente, não estamos isentos de situações inesperadas e estressantes que, se não manejadas rapidamente e de maneira adequada, podem trazer riscos e resultados extremamente negativos.

Uma das primeiras questões que gerou intensa discussão foi relativa a uma possível contaminação do meio de cultivo. Como proceder? É indiscutível que esta situação é grave e exige uma rápida solução; no entanto, a questão é abrangente e deve ser levado em conta em que momento este evento foi detectado.

"Os embriologistas se deparam diariamente com situações inesperadas que exigem profundo conhecimento de inúmeras variáveis"

Várias sugestões foram apresentadas. Para o caso de uma contaminação pré-punção folicular sugeriu-se o preparo de uma nova placa de cultivo com meio limpo e manutenção dos oócitos em meio folicular por até 3 horas para que o novo meio de cultivo atinja o pH e temperatura ideais.

Para os casos nos quais a contaminação acontece durante o cultivo embrionário, é indiscutível que os embriões sejam

retirados para um cultivo limpo o mais rapidamente possível ou que sejam vitrificados até que as condições de cultivo se restabeleçam após aplicados os protocolos de descontaminação preconizados.

A grande questão é que cada laboratório terá uma estrutura e condições diferenciadas para manejar tal situação, tais como incubadoras reservas, meios de cultivo alternativos e facilidade de vitrificação. No entanto, de acordo com uma excelente colocação da Dra. Raquel Alvarenga, devemos estar bastante atentos não somente à qualidade de nossos insumos e aos processos de manipulação no laboratório de FIV, mas também ao preparo seminal no Laboratório de Andrologia, visto o grande potencial de contaminação que o sêmen representa neste cenário.

"Devemos estar atentos não somente à qualidade de nossos insumos e aos processos de manipulação no laboratório de FIV, mas também ao preparo seminal"

Outro aspecto também bastante abordado foi como calibrar as platinas aquecidas para que a cultura se mantenha em 37° C durante os períodos de manipulação.

Sabemos que a temperatura é um parâmetro extremamente importante quando consideramos um cultivo *in vitro* de excelência. Manipulação em temperatura inadequada ou variações de temperatura são reconhecidamente fatores de estresse, e podem comprometer negativamente o fuso meiótico oocitário e a correta segregação cromossômica durante as divisões mitóticas, provocando aumento de aneuploidias e mosaicismos.

Considerando a importância deste parâmetro, discutimos amplamente como checar e validar a temperatura ideal das superfícies aquecidas para que os gametas e embriões sejam manipulados e mantidos em uma temperatura ideal. O primeiro ponto abordado foi a necessidade de se ter um termômetro digital calibrado acoplado a um termopar adequado para verificar temperaturas em microgotas. A temperatura da platina aquecida deve ser calibrada de acordo àquela obtida pelo termopar mergulhado em uma microgota de meio de cultivo sob óleo mineral.

Importante ressaltar que esta calibração deve ser realizada para cada tipo de placa (marca e modelo) e volumes de meio de cultivo utilizados nos protocolos definidos. Outro ponto de destaque é que variações de temperatura ambiente podem requerer novas calibrações das platinas aquecidas, tornando essencial que essa checagem de temperatura seja feita rotineiramente como parte do controle de qualidade do laboratório.

Ainda falando de qualidade e de fatores que podem estressar o cultivo embrionário, abordamos a importância da técnica de preparo de placas de cultivo. Técnicas inadequadas - como tempo excessivo no preparo de placas, volume da microgota, quantidade e tipo de óleo utilizado e temperatura ambiente inadequada - podem favorecer a evaporação, alterando a osmolaridade e, conseqüentemente, o pH (Swain et al., 2012). Estas alterações, mesmo sutis e não aparentes, são importantes e se somadas a outros pequenos fatores de estresses podem - por um efeito cumulativo - comprometer a fidelidade da segregação cromossômica e o desenvolvimento embrionário. Em consenso, foi recomendado que os protocolos de preparo de placas de cultivo estejam definidos e validados e sejam rigorosamente seguidos por toda a equipe do laboratório.

Outros pontos abordados foram as diferenças entre incubadoras: convencionais X *benchtops* e secas X úmidas. Em consenso, todos recomendaram incubadoras *benchtops* pela sua melhor estabilidade de cultivo sob baixa tensão de O₂, visto o efeito detrimental da alta tensão de O₂ para o desenvolvimento embrionário. Houve também uma tendência a favor das incubadoras úmidas.

"Em consenso, todos recomendaram incubadoras *benchtops* pela sua melhor estabilidade de cultivo sob baixa tensão de O₂, visto o efeito detrimental da alta tensão de O₂ para o desenvolvimento embrionário"

Finalmente, discutimos a introdução da tecnologia de *screening* genético embrionário não invasivo (niPGT-A) versus o invasivo (PGT-A). A grande questão colocada foi a confiabilidade da técnica não invasiva, levando-se em consideração os resultados divergentes da literatura quando comparadas as duas técnicas.

Estas controvérsias são aceitáveis em tecnologias emergentes devido a variações de protocolos entre os diferentes centros. Entretanto, publicações recentes (*Vagnini et al., ESHRE 2020*) apresentaram resultados promissores a favor do niPGT-A, ao demonstrar valor preditivo positivo maior e taxa de falso positivos mais baixa quando comparadas aos apresentados pelo PGT-A invasivo.

Acreditamos que o niPGT-A com sua característica não invasiva, seu baixo custo de execução e os resultados promissores que têm sido apresentados recentemente, o coloca em uma posição

de destaque no *ranking* das novas tecnologias e talvez venha a substituir o PGT-A em um futuro bem próximo.■



Os melhores resultados para seu laboratório: Sistema de Cultivo Embrionário COOK Medical

Incubadora de
Bancada MINC™



Meios de
Cultura
Sydney IVF



Óleo de
Cultura
Sydney IVF



*Escolher a Handle é priorizar
qualidade, segurança e
transparência na relação!*

35
ANOS

Handle

FERTILIDADE

Falando em Andrologia...



Levantamento bibliográfico sobre a incidência de SARS-CoV-2 no sêmen

Por



RENATO HUSEK

THAIS SERZEDELLO

O coronavírus (SARS-CoV-2) é um vírus de RNA causador da pandemia de COVID-19. Na literatura há apenas um único relato de caso envolvendo doação oocitária e o coronavírus (*Barragan et al., 2020*). Já os relatos de portadores do vírus SARS-CoV-2 entre homens doadores de sêmen são mais abundantes, especialmente em Wuhan, onde se deu início à pandemia pelo SARS-CoV-2. Song (*Song et al., 2020*), de Wuhan, China, avaliou o sêmen de 13 homens previamente positivos no PCR para SARS-CoV-2 entre 31 de janeiro e 14 de março de 2020. Um desses pacientes (o mais velho, de 67 anos), faleceu da COVID-19, dia 10 de março de 2020.

Dos 12 pacientes em fase de recuperação pós diagnóstico por PCR de COVID-19, 09 foram positivos no imunoenensaio para a imunoglobulina IgG, mas negativos para IgM.

O paciente falecido testou positivo tanto no PCR quanto no IgG e IgM no soro, condizente com a fase aguda da infecção. A maioria das coletas foi realizada ao menos uma semana após o PCR positivo ter convertido para negativo. Independente do resultado do diagnóstico para SARS-CoV-2 por PCR, IgG ou IgM sérico no momento da coleta seminal, todas as amostras seminais foram negativas para SARS-CoV-2 pelo PCR.

Em outro estudo em Wuhan, foi avaliado o sêmen de 74 homens diagnosticados positivos para SARS-CoV-2 pelo PCR. Destes, 11 (14,9%) foram assintomáticos ou apresentaram sintomas leves, 31 (41,9%) apresentaram sintomas moderados e 32 deles (43,2%) apresentaram pneumonia grave. A média de tempo entre o último PCR positivo e a coleta seminal foi de 80 dias.

Não foi encontrado RNA do SARS-CoV-2 em nenhuma amostra seminal avaliada, independente da sintomatologia clínica para COVID-19 (*Ruan et al., 2020*).

Em mais um estudo de coorte em Wuhan, 12 homens positivos para SARS-CoV-2 por PCR ou teste de anticorpos séricos realizaram análise seminal para identificação viral. Destes 12 pacientes, 01 foi classificado com sintomas leves de COVID-19, mas ainda com PCR viral positivo, enquanto os demais 11 homens apresentaram sintomas moderados de COVID-19 e PCR negativo no dia da coleta seminal. O intervalo de tempo entre o início dos sintomas e a coleta seminal variou de 56 a 109 dias, com média de 78,5 dias. Em nenhuma das 12 amostras seminais foi identificado o RNA do vírus SARS-CoV-2 no sêmen (*Ma et al., 2020*).

Ning e colaboradores (*Ning et al., 2020*) também realizaram uma pesquisa em Wuhan, avaliando o sêmen e orofaringe de 17 homens com COVID-19 diagnosticada por PCR. Destes 17, 09 (52,9%) apresentaram RNA viral na orofaringe, e 08 (47,1%) estavam negativos. Na análise seminal, nenhum dos 17 casos foi positivo para o vírus SARS-CoV-2.

Em outro local na China, foi avaliado o sêmen de 34 homens com sintomas leves, mas diagnosticados para SARS-CoV-2 por PCR.

A avaliação seminal para identificação de SARS-CoV-2 no sêmen por PCR ocorreu cerca de 01 mês (29 a 36 dias) após o diagnóstico de COVID-19. Não foi detectada presença no vírus SARS-CoV-2 no sêmen de nenhum dos 34 homens analisados nesse estudo (*Pan et al., 2020*).

Em mais um estudo chinês, foi analisado o sêmen de 23 homens na fase aguda e na fase pós COVID-19, com uma média de intervalo entre o diagnóstico positivo COVID-19 e a análise do vírus no sêmen de 32 dias. Destes 23 homens, 11 já estavam com o PCR negativo no momento da análise seminal. Todavia, os outros 12 avaliados ainda apresentavam PCR viral positivo. Independente do grupo, não foi encontrado RNA do vírus SARS-CoV-2 em nenhuma amostra seminal (*Guo et al., 2020*).

Contudo, há um único relato na literatura diferente dos resultados acima. Este estudo também foi realizado na China, com 38 pacientes positivos para COVID-19 pelo PCR. Destes, 23 pacientes já estavam em período de recuperação da COVID-19 e 15 pacientes estavam no estágio agudo de infecção. Dos 38 pacientes, em apenas 06 casos (15,8%) houve detecção do RNA do vírus SARS-CoV-2 no sêmen. Destes 06 casos positivos para SARS-CoV-2 no sêmen, 04 referem-se a pacientes no estágio agudo e apenas 02 casos em período de recuperação.

Nesses pacientes com presença viral no sêmen, o momento da coleta seminal ocorreu de 02 a 16 dias após o início dos sintomas. Não foi feito acompanhamento desses pacientes para avaliar a manutenção da positividade viral no sêmen (*Li et al., 2020*).

Algumas pesquisas para identificação do vírus SARS-CoV-2 foram publicadas com pacientes fora da China. Na Turquia, foram avaliadas amostras seminais de um grupo de 16 homens positivos para o vírus SARS-CoV-2, hospitalizados. A ampla maioria (68,7%) dos pacientes, apesar de hospitalizados, apresentavam sintomas leves e apenas 01 paciente necessitou de atendimento em UTI. Todas as amostras seminais forma obtidas no período agudo da infecção, em média 01 dia após a confirmação do vírus pelo PCR. Todas as amostras seminais foram negativas para SARS-CoV-2 pelo PCR (*Kayaaslan et al., 2020*).

Em um relato de caso de um homem italiano com sintomas leves de COVID-19 e confirmado positivo para SARS-CoV-2 pelo PCR, com análise do sêmen apenas oito dias após o resultado positivo para COVID-19, não foi encontrado RNA do vírus na amostra seminal, tampouco na urina (*Paoli et al., 2020*).

Em uma outra análise seminal de uma coorte italiana, foram avaliados 09 pacientes confirmados com SARS-CoV-2

pelo PCR, com pouca ou nenhuma sintomatologia e, portanto, sem hospitalização. Destes 09 pacientes, 07 apresentaram ao menos 02 exames de *swab* nasofaríngeo PCR positivo para SARS-CoV-2 em um intervalo médio de 36 dias. As análises seminais foram realizadas em até 13 dias após o teste de PCR positivo (média 7 dias). Em nenhuma das 9 análises seminais foi detectada a presença do RNA do vírus SARS-CoV-2 no sêmen (*Pavone et al., 2020*).

Em um estudo alemão avaliando 18 homens com SARS-CoV-2 confirmado por PCR (14 homens com sintomatologia leve e 4 com sintomas moderados), não foi detectado RNA viral em nenhuma amostra seminal. O tempo de coleta seminal após o fim dos sintomas variou de 8 a 54 dias, sendo que 02 pacientes ainda estavam com infecção ativa. Independente da condição clínica (já recuperado ou em infecção aguda pelo SARS-CoV-2), não foi encontrado RNA viral em nenhuma das 18 amostras avaliadas (*Holtmann et al., 2020*).

Um grupo americano de pesquisadores avaliou a presença do vírus SARS-CoV-2 no sêmen e na saliva de 6 homens positivos para SARS-CoV-2 pelo PCR, de 6 a 17 dias após o início dos sintomas. Todas as 6 amostras foram negativas para o vírus SARS-CoV-2 no sêmen, contudo, o RNA viral foi detectado na saliva de todos os pacientes pelo PCR (*Rawlings et al., 2020*).

Assim, de 261 amostras seminais de pacientes com COVID-19, portadores de SARS-CoV-2, publicadas em 12 estudos até o dia 10 de novembro de 2020, em apenas 06 casos, de um único estudo, foi detectada a presença do vírus SARS-CoV-2 no sêmen, o que representa 2,29% de positividade. Destes 06 casos com presença de SARS-CoV-2 no sêmen, todos precisaram de hospitalização e 04 pacientes ainda estavam em estágio agudo da infecção (análise seminal realizada entre 2 e 8 dias após hospitalização).

Em uma anamnese convencional para doação de sêmen, devido à hospitalização e sintomatologia, tais pacientes seriam excluídos como potenciais doadores. Em apenas 02 casos (o que representa 0,76% dos casos descritos na literatura), os pacientes estavam em um estágio de recuperação após os sintomas clínicos. E, mesmo nesses casos, a coleta seminal foi realizada com o término dos sintomas clínicos entre 2 e 3 dias antes, e, respectivamente, 10 a 13 dias após a hospitalização, com 12 a 16 dias após o início dos sintomas.

Assim, os casos positivos para SARS-CoV-2 no sêmen encontrados na literatura (2,29% das amostras analisadas) estão em um critério clínico não incluído para a doação de sêmen. ■

Falando em Embriologia...



Undetectable viral RNA in oocytes from SARS-CoV-2 positive women

RNA viral indetectável em oócitos de mulheres positivas para SARS-CoV-2

[DOI: 10.1093/humrep/deaa284](https://doi.org/10.1093/humrep/deaa284)

Por



VANESSA NAYANE PEREZ

Desde a aparição da COVID-19, verificou-se que o vírus causador da doença pode afetar diferentes tecidos e órgãos. Apesar da grande quantidade de literatura reunida até agora, os efeitos da infecção por SARS-CoV-2 na função reprodutiva ainda são desconhecidos. Especificamente, não está claro se o vírus pode infectar gametas humanos e se o uso de oócitos de mulheres que abrigam o vírus pode resultar em uma infecção do embrião em desenvolvimento. Uma das principais preocupações acerca dos tratamentos de reprodução assistida durante a pandemia é a possível transmissão vertical do SARS-CoV-2 através de gametas e embriões (Anifandis et al., 2020).

A capacidade do SARS-CoV-2 de afetar um tecido é determinada por sua capacidade de infectar células e se replicar, o que requer a expressão dos receptores para SARS-CoV-2, da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), glicoproteínas e proteases transmembranares (Hoffmann et al., 2020; Wang et al., 2020). Os mRNAs desses genes são expressos na maior parte do trato reprodutivo feminino humano: ovário inteiro (Hikmet et al., 2020) - incluindo células do cumulus (Stanley et al., 2020) -, endométrio (Henarejos-Castillo et al., 2020) e durante os estágios iniciais de desenvolvimento do embrião humano (Weatherbee, Glover & Zernicka-Goetz, 2020).

Com o aumento do número de casos de pessoas assintomáticas na Espanha, o grupo EUGIN realizou sistematicamente um PCR diagnóstico nas doadoras (24 mulheres), que estavam assintomáticas no dia da coleta oocitária. Todos os oócitos MII coletados foram vitrificados para aguardar o resultado do PCR para posterior procedimento clínico. Após dois dias, os resultados deram positivos para o novo coronavírus em 02 doadoras (A e B).

Após obterem o resultado, para saber se ocorreu a infecção das células reprodutoras foi realizado o descongelamento dos oócitos (06 oócitos da doadora A e 10 oócitos da doadora B) e processamento individual para amplificação do transcriptoma total.

Independentemente da detecção de RNA viral em oócitos, questionou-se a possibilidade de o vírus infectá-los, talvez quando presente em maior concentração nos órgãos reprodutivos. Sendo assim, analisaram a expressão de dois pares de genes funcionalmente relacionados: ACE2 e TMPRSS2 por um lado, e CTSL e BSG no outro. ACE2 atua como receptor para vírus SARS interagindo com o domínio S1 de sua proteína S, enquanto TMPRSS2 facilita a entrada do vírus clivando e ativando glicoproteínas do envelope viral. Encontraram expressão variável (em menos de 30% dos oócitos) de ACE2, e expressão indetectável para TMPRSS2 nos oócitos estudados. Esses resultados certificaram que não havia RNA do vírus dentro dos oócitos.

O estudo em questão sugere, de forma positiva, que o vírus não consegue penetrar nos oócitos, o que eliminaria a chance de transmissão vertical por essa via e, ao mesmo tempo, tornaria a fertilização *in vitro* (FIV) um procedimento seguro, mesmo em casos de mulheres com COVID-19.

Mesmo sendo um estudo pequeno, podemos celebrar a importância do achado, que sugere que a transmissão vertical pode não ocorrer por meio dos oócitos e que o manuseio desse material no laboratório provavelmente não constitui um perigo aos profissionais de saúde. Entretanto, os resultados ainda não devem ser considerados um alívio definitivo, uma vez que estudos com populações maiores são necessários para essa afirmação. ■

Falando em Genética...



A multicenter, prospective, blinded, nonselection study evaluating the predictive value of an aneuploid diagnosis using a targeted next-generation sequencing–based preimplantation genetic testing for aneuploidy assay and impact of biopsy

Estudo multicêntrico, prospectivo, cego e não seletivo avaliando o valor preditivo de um diagnóstico de aneuploidia usando PGS baseado em NGS direcionado para análise de aneuploidia e impacto da biópsia

[DOI: 10.1016/j.fertnstert.2020.07.052](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.07.052)

Por



SARAH NACHEFF

Uma das maiores aspirações da medicina reprodutiva é desenvolver uma tecnologia que permita a identificação dos embriões com verdadeiro potencial reprodutivo. Entretanto, as abordagens tradicionais de seleção embrionária, como avaliação morfológica do embrião e cultivo prolongado até o estágio de blastocisto, têm nos mostrado até agora um benefício limitado (*Forman et al., 2013; Capalbo et al., 2014*).

O teste genético pré-implantacional de embriões para aneuploidia (PGT-A) é uma ferramenta de uso crescente que visa reduzir o risco de selecionar um embrião aneuploide para transferência, permitindo também a transferência de um único embrião sem comprometer as taxas de gravidez (*Forman et al., 2013*), evitando as complicações associadas a gestações múltiplas.

O estudo em questão foi multicêntrico, prospectivo, cego, não seletivo, e recrutou casais com infertilidade em quatro locais de estudo diferentes. Todas as biópsias do trofoectoderma (TE) de embriões foram enviadas para o mesmo laboratório certificado para PGT-A e considerando o primeiro ciclo de FIV das pacientes. Os critérios e o momento da biópsia foram os mesmos de qualquer ciclo de rotina usando PGT-A via biópsia de trofoectoderma.

Os procedimentos laboratoriais de rotina incluíram injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI), abertura da zona pelúcida por *laser*, substituição de meios de cultura sequencial, cultura de embriões até o estágio de blastocisto expandido, vitrificação e protocolo para a transferência de blastocistos aquecidos de melhor morfologia em ciclo posterior. No dia da biópsia TE e vitrificação, a morfologia do embrião foi registrada e blastocistos apresentando massas celulares internas (MCIs) e TEs densamente celulares foram considerados de melhor qualidade morfológica.

Todos os blastocistos de uma coorte foram biopsiados e vitrificados. Um único embrião foi selecionado para transferência (com base na morfologia). Apenas transferências de embriões congelados foram realizadas.

Uma vez que o resultado clínico da transferência foi determinado (teste de gravidez negativo, perda espontânea de gravidez ou falha de progresso, ou gestação em curso além de 13 semanas), a biópsia TE foi analisada usando PGT-A por NGS. A análise das biópsias foi cega para os resultados clínicos.

Na gestação em curso, os resultados do PGT-A foram revelados na 13ª semana de gestação. No caso de um resultado

anormal, os pacientes e equipe clínica seriam notificados para que testes pudessem ser realizados no diagnóstico pré-natal no início do segundo trimestre, se desejado. Pacientes com uma primeira transferência mal sucedida (perda gestacional no primeiro trimestre ou teste de gravidez negativo) foram submetidas a uma segunda transferência de embrião único, se um embrião adicional estivesse disponível. Em todos os casos, os resultados do PGT-A foram revelados após o resultado clínico da segunda transferência. Os resultados do PGT-A de quaisquer embriões excedentes também foram divulgados após o resultado clínico de qualquer segunda transferência ou após uma primeira transferência bem-sucedida com 13 semanas de gestação.

O grupo controle foi pareado o mais próximo possível ao grupo de estudo (idade, contagem basal de folículos antrais, número total de blastocistos obtidos e morfologia do blastocisto transferido). A morfologia foi usada para selecionar um embrião para transferência em ambos os grupos - a única diferença entre os grupos foi a presença da biópsia no grupo de estudo. Portanto, a comparação das taxas de implantação que deram origem a gravidez clínica e taxas de nascidos vivos entre grupos permitiu uma avaliação direta do impacto da biópsia TE em resultados clínicos.

Resultados

Foram avaliados 402 pacientes, com 484 transferências de blastocistos únicos congelados. A idade da parceira foi menor que 35 anos em 45,5% dos casais; 30,4% tinham entre 35 e 37 anos de idade; 12,8% tinham de 38 a 40 anos de idade; e 11,4% tinham mais de 40 anos.

Um total de 2.110 blastocistos foram biopsiados e analisados para aneuploidias por NGS. Destes, 60,2% (1.271 / 2.110) eram euploides, 24,6% (520 / 2.110) eram aneuploides e 2,8% (59 / 2.110) tiveram resultados inconclusivos. Resultados secundários de significância incerta também foram relatados, com 3,5% (74 / 2.110) dos embriões classificados como mosaico no cromossomo inteiro e 8,8% (186 / 2.110) dos embriões considerados com uma anormalidade segmentar.

Como previsto, a proporção de embriões euploides transferidos diminuiu e a proporção de embriões aneuploides de cromossomos inteiros transferidos aumentou com o avanço da idade materna. Embriões com achados secundários (mosaico de cromossomos inteiros ou diagnósticos de PGT-A segmentar) ou sem resultado representaram 14,4% de todos os embriões transferidos.

Para determinar se embriões reprodutivamente competentes estariam sendo descartados, os resultados clínicos das transferências de embriões foram

comparados aos resultados revelados do PGT-A, e foram calculados os valores preditivos. Foi observada uma diferença significativa nos resultados: 64,7% de embriões euploides progrediram para gestação ou nascidos vivos, enquanto 0% dos embriões aneuploides progrediram para implantação sustentada ou nascimento. Depois que os resultados do PGT-A foram revelados, 40,2% dos pacientes com transferência de um embrião rotulado como aneuploide tiveram um teste de gravidez positivo. Gravidez clínica foi diagnosticada em 23,5% de todos os pacientes submetidos a transferência de embrião aneuploide, mas todos esses pacientes tiveram perda gestacional.

"A proporção de embriões euploides diminuiu e a de embriões aneuploides aumentou com o avanço da idade materna"

Apesar de não ter sido uma questão primária do estudo, alguns achados se fazem importantes:

- 16 (3,3% do total de transferências) embriões mosaico do cromossomo inteiro foram transferidos, resultando em: 01 (6,3%) teste de gravidez negativo, 02 (12,5%) perdas bioquímicas, 02 (12,5%) abortos espontâneos clínicos e 11 (68,8%) implantações sustentadas/nascidos vivos.

■ FALANDO EM GENÉTICA ■

- 39 (8,1% do total transferências) embriões com anormalidades segmentares foram transferidos, resultando em: 20 (51,3%) testes de gravidez negativos, 05 (12,8%) perdas bioquímicas, 02 (5,1%) abortos clínicos e 12 (30,8%) implantações sustentadas/nascidos vivos.

- 12 embriões com resultado inconclusivo de PGT-A (2,5% do total de transferências) foram transferidos, resultando em: 03 (25%) testes de gravidez negativos, 01 (8,3%) perda bioquímica, 02 (16,7%) abortos clínicos e 06 (50%) implantações sustentadas/nascidos vivos.

- 03 embriões com amplificação insuficiente de DNA da biópsia TE foram transferidos (0,6% do total das transferências), resultando em: 01 (33,3%) teste de gravidez negativo, 01 (33,3%) perda clínica e 01 (33,3%) gestação em curso.

Todos os pacientes com gestações em curso com diagnóstico de PGT-A indeterminado foram orientados a realizar teste diagnóstico pré-natal no tempo em que o resultado PGT-A foi obtido (13 semanas de gestação). Todos os testes de diagnóstico revelaram um número normal de cópias cromossômicas. Todos os embriões diagnosticados como aneuploides por análise de biópsia TE foram corroborados aneuploides para os mesmos

cromossomos após a análise dos POCs, e todos os embriões diagnosticados como euploides por biópsia TE foram confirmados como euploides na análise de POCs disponíveis.

Durante a discussão do artigo, foi sugerido que muitos embriões marcados como aneuploides podem possuir potencial reprodutivo significativo (*Paulson, 2017*) e, portanto, o uso de PGT-A poderia prejudicar os pacientes por meio do descarte de embriões reprodutivamente competentes. No entanto, usando a plataforma testada neste estudo, nenhum dos embriões marcados como aneuploides progrediu para implantação ou nascimento. Embora a taxa de erro clínico aneuploide tenha sido de 0% neste estudo, é improvável que a verdadeira taxa de erro seja 0. Essas fontes potenciais de erro incluem erro de amostragem (ou seja, a triagem de células de trofotoderma, em vez de MCI ou embrião inteiro), de novos erros mitóticos pós-zigóticos e mosaicismos embrionário, falha de amplificação de DNA, contaminação, concepção espontânea e mistura inadvertida de amostras de DNA (*Harper et al., 2012; Wilton et al., 2009; Frumkin et al., 2008*).

Portanto, embora seja improvável que seja realmente zero em uma amostra maior, a taxa de erro clínico de aneuploidia para este ensaio PGT-A está entre 0% e 2,43% - extremamente baixa.

Os resultados indicam que a biópsia TE não apresentou impacto negativo na implantação. Alguns trabalhos compararam descendentes de transferências de embriões usando FIV / ICSI com PGT-A versus sem PGT-A. Desmyttere (2012) e He (2019), com seus respectivos colaboradores, não encontraram diferença nos resultados neonatais adversos após a avaliação de 995 e 1.721 neonatos, respectivamente. Forman e colaboradores identificaram redução de resultados neonatais adversos após PGT-A (*Forman et al., 2014*); no entanto, nascimentos de um único bebê foram comparados a gestações múltiplas, confundindo tais resultados. Assim, embora seja reconhecido que a pesquisa é necessária além do período neonatal para estabelecer segurança a longo prazo, estes dados, concomitantes com as investigações anteriores citadas, são altamente tranquilizadores no que diz respeito à segurança da biópsia de trofocodermia para obtenção de nascidos vivos.

Vale ressaltar que quando a incidência de aneuploidia é baixa, como em casais com idade feminina menor de 35 anos, a taxa de falsos positivos de um diagnóstico aneuploide é relativamente alta em comparação aos casais com mulheres mais velhas. Na verdade, o valor preditivo positivo de um teste PGT-A depende da

prevalência de aneuploidia na população e, portanto, espera-se que a precisão de um diagnóstico aneuploide seja maior em uma população de pacientes mais velhas. Assim, a baixa incidência esperada de aneuploidia nesta população de pacientes jovens apenas desafia ainda mais a precisão deste ensaio PGT-A.

No geral, esses dados apoiam a segurança e o benefício deste ensaio de PGT-A baseado em NGS direcionado, após devido aconselhamento de pacientes. Considerando os resultados apresentados no estudo em questão, fica demonstrado uma vez mais que a análise genética, por mais confiável e segura que seja, deveria ser feita apenas em casos com indicação clara, a fim de não submeter o embrião a um estresse desnecessário.■

REFERÊNCIAS

Assuntos regulatórios - Patrícia França

1. Organização Mundial da Saúde. (2020, 19 de novembro). WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. Disponível em: <<https://covid19.who.int/>>. Acesso em: 15 de dezembro de 2020.
2. SILVA, S.J.M; Campo-Engelstein, L. Assisted Reproductive Technology, Justice and Autonomy in an era of Covid19. Reproductive BioMedicine Online. Journal Pre-proof. 2020.
3. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Nota Técnica nº72/20/SEI/GSTCO/DIRE1/ANVISA de 08 de outubro de 2020. Diretrizes para a realização de procedimentos de Reprodução Humana Assistida face a pandemia de coronavírus (SARS-CoV-2).
4. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Nota Técnica nº12/2020/SEI/GSTCO/DIRE1/ANVISA de 01 de abril de 2020. Diretrizes para a triagem de pacientes e doadores que irão realizar procedimentos de Reprodução Humana Assistida face a pandemia de Coronavírus (SARS,MERS, 2019-nCoV).
5. KHALILI, M.A.; LEISEGANG, K.; MAJZOUN, A. et al. Male Fertility and the COVID-19 Pandemic: Systematic Review of the Literature.
6. HAGHPANAH, A.; MASJEDI, F.; ALBORZI, S. et al. Potential mechanisms of SARS-CoV-2 action on male gonadal function and fertility: Current status and future prospects. Andrologia. First International Journal of Andrology. 00:e138832020. 2020.
7. YEE, J.; KIM, W.; HAN, J.M. et al. Clinical manifestations and perinatal outcomes of pregnant women with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. Nature Research. V. 10, 2020.
8. PARCA, R. (2020) Diretrizes para a realização de procedimentos de Reprodução Humana Assistida face a pandemia de coronavírus (SARS-CoV-2) [Webinar]. Gerência de Sangue, Tecidos, Células e Órgãos (GSTCO). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/webinar-da-anvisa-aborda-reproducao-humana-assistida>>. Acesso em: 19 de novembro de 2020.
9. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Nota Técnica nº23/2020/SEI/GSTCO/DIRE1/ANVISA de 12 de maio de 2020. Diretrizes para a realização de procedimentos de Reprodução Humana Assistida face a pandemia de coronavírus (SARS-CoV-2).
10. MODERBACHER, C.R.; RAMIREZ, S.I.; DAN, J.M. et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. Cell. v. 183, p. 996-1012. 2020.
11. PIEC, I.; ENGLISH, E.; THOMAS, M.A. et al. Performance of SARS-CoV-2 Serology tests: Are they good enough? medRxiv preprint. 2020.
12. JOAQUIM, D.C.; BORGES, E.D.; VIANA, I.G. et al. Risk of Contamination of Gametes and Embryos during Cryopreservation and Measures to Prevent Cross-Contamination. BioMed Research International. 2017.

REFERÊNCIAS

Falando em andrologia - Renato Husek e Thais Serzedello de Paula

- Barragan, M., J. J. Guillen, N. Martin-Palomino, A. Rodriguez, and R. Vassena. 2020. 'Undetectable viral RNA in oocytes from SARS-CoV-2 positive women', *Hum Reprod*.
- Guo, L., S. Zhao, W. Li, Y. Wang, L. Li, S. Jiang, W. Ren, Q. Yuan, F. Zhang, F. Kong, J. Lei, and M. Yuan. 2020. 'Absence of SARS-CoV-2 in semen of a COVID-19 patient cohort', *Andrology*.
- Holtmann, N., P. Edimiris, M. Andree, C. Doehmen, D. Baston-Buest, O. Adams, J. S. Kruessel, and A. P. Bielfeld. 2020. 'Assessment of SARS-CoV-2 in human semen-a cohort study', *Fertil Steril*, 114: 233-38.
- Kayaaslan, B., G. Korukluoglu, I. Hasanoglu, A. K. Kalem, F. Eser, E. Akinci, and R. Guner. 2020. 'Investigation of SARS-CoV-2 in Semen of Patients in the Acute Stage of COVID-19 Infection', *Urol Int*, 104: 678-83.
- Li, D., M. Jin, P. Bao, W. Zhao, and S. Zhang. 2020. 'Clinical Characteristics and Results of Semen Tests Among Men With Coronavirus Disease 2019', *JAMA Netw Open*, 3: e208292.
- Ma, L., W. Xie, D. Li, L. Shi, G. Ye, Y. Mao, Y. Xiong, H. Sun, F. Zheng, Z. Chen, J. Qin, J. Lyu, Y. Zhang, and M. Zhang. 2020. 'Evaluation of sex-related hormones and semen characteristics in reproductive-aged male COVID-19 patients', *J Med Virol*.
- Ning, J.; Li, W.; Ruan, Y.; Xia, Y.; Wu, X.; Hu, K.; Ding, X.; Wu, X.; Yu, L.; Zhou, J.; Mao, Z.; Xu, W.; Yu, W.; Cheng, F. 2020. 'Effects of 2019 Novel Coronavirus on Male Reproductive System: A Retrospective Study. ', *Preprints 2020*.
- Pan, F., X. Xiao, J. Guo, Y. Song, H. Li, D. P. Patel, A. M. Spivak, J. P. Alukal, X. Zhang, C. Xiong, P. S. Li, and J. M. Hotaling. 2020. 'No evidence of severe acute respiratory syndrome-coronavirus 2 in semen of males recovering from coronavirus disease 2019', *Fertil Steril*, 113: 1135-39.
- Paoli, D., F. Pallotti, S. Colangelo, F. Basilico, L. Mazzuti, O. Turriziani, G. Antonelli, A. Lenzi, and F. Lombardo. 2020. 'Study of SARS-CoV-2 in semen and urine samples of a volunteer with positive naso-pharyngeal swab', *J Endocrinol Invest*, 43: 1819-22.
- Pavone, C., G. M. Giammanco, D. Baiamonte, M. Pinelli, C. Bonura, M. Montalbano, G. Profeta, L. Curcuro, and F. Bonura. 2020. 'Italian males recovering from mild COVID-19 show no evidence of SARS-CoV-2 in semen despite prolonged nasopharyngeal swab positivity', *Int J Impot Res*, 32: 560-62.
- Rawlings, S. A., C. Ignacio, M. Porrachia, P. Du, D. M. Smith, and A. Chaillon. 2020. 'No Evidence of SARS-CoV-2 Seminal Shedding Despite SARS-CoV-2 Persistence in the Upper Respiratory Tract', *Open Forum Infect Dis*, 7: ofaa325.
- Ruan, Y., B. Hu, Z. Liu, K. Liu, H. Jiang, H. Li, R. Li, Y. Luan, X. Liu, G. Yu, S. Xu, X. Yuan, S. Wang, W. Yang, Z. Ye, J. Liu, and T. Wang. 2020. 'No Detection of SARS-CoV-2 from Urine, Expressed Prostatic Secretions and Semen in 74 Recovered COVID-19 Male Patients: A Perspective and Urogenital Evaluation', *Andrology*.
- Song, C., Y. Wang, W. Li, B. Hu, G. Chen, P. Xia, W. Wang, C. Li, F. Diao, Z. Hu, X. Yang, B. Yao, and Y. Liu. 2020. 'Absence of 2019 novel coronavirus in semen and testes of COVID-19 patients', *Biol Reprod*, 103: 4-6.

REFERÊNCIAS

Falando em embriologia - Vanessa Nayane Perez

- Anifandis G, Messini CI, Daponte A, Messinis IE. COVID-19 and fertility: a virtual reality Reprod Biomed Online 2020; 41(2); 157-159.
- Henarejos-Castillo I, Sebastian-Leon P, Devesa-Peiro A, Pellicer A, and Diaz-Gimeno P. SARS-CoV-2 infection risk assessment in the endometrium: viral infection-related gene expression across the menstrual cycle. Fertil Steril 2020; 114; 223- 232.
- Hikmet F, Mear L, Edvinsson A, Micke P, Uhlen M, and Lindskog C. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. Mol Syst Biol 2020; 16; e9610.
- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Kruger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu NH, Nitsche A, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. Cell 2020; 181; 271-280 e278.
- Stanley KE, Thomas E, Leaver M, and Wells D. Coronavirus disease-19 and fertility: viral host entry protein expression in male and female reproductive tissues. Fertil Steril 2020; 114; 33-43.
- Wang K, Chen W, Zhou YS, Lian JQ, Zhang Z, Du P, and al e. SARS-CoV-2 invades host cells via a novel route: CD147-spike protein. bioRxiv. Published online March 14, 2020. Available at: 10.1101/2020.03.14.988345. 2020.
- Weatherbee BAT, Glover DM, and Zernicka-Goetz M. Expression of SARS-CoV-2 receptor ACE2 and the protease TMPRSS2 suggests susceptibility of the human embryo in the first trimester. Open Biol 2020; 10; 200162.

REFERÊNCIAS

Falando em genética - Sarah Nachef

- Capalbo A, Rienzi L, Cimadomo D, Maggiulli R, Elliott T, Wright G, et al. Correlation between standard blastocyst morphology, euploidy and implantation: an observational study in two centers involving 956 screened blastocysts. *Hum Reprod* 2014;29:1173-81.
- Desmyttere S, De Rycke M, Staessen C, Liebaers I, De Schrijver F, Verpoest W, et al. Neonatal follow-up of 995 consecutively born children after embryo biopsy for PGD. *Hum Reprod* 2012;27:288-93.
- Forman EJ, Hong KH, Ferry KM, Tao X, Taylor D, Levy B, et al. In vitro fertilization with single euploid blastocyst transfer: a randomized controlled trial. *Fertil Steril* 2013;100:100-7.
- Forman EJ, Hong KH, Franasiak JM, Scott RT Jr. Obstetrical and neonatal outcomes from the BEST Trial: single embryo transfer with aneuploidy screening improves outcomes after in vitro fertilization without compromising delivery rates. *Am J Obstet Gynecol* 2014;210:157.e1-6.
- Frumkin T, Malcov M, Yaron Y, Ben-Yosef D. Elucidating the origin of chromosomal aberrations in IVF embryos by preimplantation genetic analysis. *Mol Cell Endocrinol* 2008;282:112-9.
- Harper J, Coonen E, De Rycke M, Fiorentino F, Geraedts J, Goossens V, et al. What next for preimplantation genetic screening (PGS)? A position statement from the ESHRE PGD Consortium Steering Committee. *Hum Reprod* 2010;25:821-3.
- He H, Jing S, Lu CF, Tan YQ, Luo KL, Zhang SP, et al. Neonatal outcomes of live births after blastocyst biopsy in preimplantation genetic testing cycles: a follow-up of 1,721 children. *Fertil Steril* 2019;112:82-8.
- Paulson RJ. Preimplantation genetic screening: what is the clinical efficiency? *Fertil Steril* 2017;108:228-30.
- Wilton L, Thornhill A, Traeger-Synodinos J, Sermon K, Harper J. The causes of misdiagnosis and adverse outcomes in PGD. *Hum Reprod* 2009;24: 1221-8.



A Pronúcleo
deseja a todos
um ótimo fim de
ano, e que o
próximo venha
com novas
esperanças!
Obrigada por
estarem
conosco em
2020!
Boas Festas!



Associe-se!

Diretoria PRONÚCLEO Biênio 2019-2021

PRESIDENTE

LUIZ MAURO OLIVEIRA GOMES

PRIMEIRO SECRETÁRIO

PHILIP WOLF

PRIMEIRO TESOUREIRO

BERNARDO RODRIGUES DE MOURA

CONSELHO FISCAL - TITULARES

BEATRIZ MATTOS SILVA
JACIRA RIBEIRO CAMPOS
SARAH NACHEF

VICE PRESIDENTE

RENE EDUARDO BUSO

SEGUNDA SECRETÁRIA

ANA CRISTINA ALLEMAND MANCEBO

SEGUNDA TESOUREIRA

ANA LUISA MENEZES CAMPOS

CONSELHO FISCAL - SUPLENTES

ANA CLARA ESTEVES
BRUNA CAMILLO DE BARROS
LIA PONTES MORAIS

Contato PRONÚCLEO: Diana Caroline Bastos
contato@pronucleo.com.br ou (21) 98280-7160 (WhatsApp)

APOIO

Handle