

A Transferência de Embriões nas Técnicas de Reprodução Assistida

Embryo Transfer in Assisted Reproductive Technologies

Mario Cavagna, Paolo E. Levi Setti, João C. Mantese, Felipe Cavagna, Elena Albani, Annamaria Baggiani, Elena Zannoni, Luciano Negri
Divisão de Reprodução Humana, Hospital Pérola

Byington, São Paulo, Brasil e Unità Operativa di Medicina della Riproduzione, Istituto Clinico Humanitas, Rozzano (Milano), Italia
Recebido: 26/01/2004
Avaliado e aceito: 10/02/2004

Abstract

The technique of embryo transfer is a step of extreme importance in the outcome of assisted reproductive technology cycles. The authors make a review of some important aspects of this technique and emphasize that several precautions should be taken, in order to achieve high implantation and pregnancy rates. They conclude that an adequate control of cervical infections, the removal of cervical mucus, the mock transfer, the utilization of a soft catheter and ultrasound-guided embryo transfer may improve implantation and pregnancy rates.

Key words: *embryo transfer, assisted reproduction, pregnancy rates.*

Introdução

A transferência de embriões (TE) para o útero, realizada por via transcervical, é a etapa final das técnicas de reprodução assistida (TRA). É realizada, normalmente, após 48 a 72 horas da inseminação dos oócitos, com a paciente em posição de litotomia, podendo ser utilizada a visualização ultra-sonográfica abdominal para acompanhar o procedimento.

A TE é realizada, geralmente, na mesma sala onde se faz a aspiração folicular, visando-se reduzir o tempo de permanência dos embriões fora das condições de cultura e obter condições de esterilidade e controle da toxicidade ambiental (Hill, 2001). Entretanto, trabalho realizado em nosso meio (Cavagna *et al.*, 2001) relata os mesmos resultados quando a TE é realizada em local afastado do laboratório de gametas. Ressalte-se, porém, que a permanência prolongada dos embriões no cateter acarreta esfriamento e acidificação do meio de cultura, com impacto negativo sobre a possibilidade de implantação embrionária (Edwards *et al.*, 1984). Mais de 80% das mulheres que se submetem a TRA chegam à transferência de pelo menos um embrião, mas somente de 5 a 40% obtêm uma gravidez. Quantificando os vários fatores que interferem nas taxas de sucesso do tratamento, calcula-se que a idade da mulher e a qualidade oocitária participem em mais de 40%.

Correspondência para:
Mario Cavagna
Rua Viradouro, 58/111
04538-110 – São Paulo – Brasil

A qualidade do laboratório de embriologia, a experiência dos médicos, a escolha dos meios de cultura e o controle adequado das condições de toxicidade ambiental participam em outros 40%, enquanto os 20% restantes são decididos no momento da TE (Naaktgeboren *et al.*, 1998).

A técnica da TE, a escolha do cateter utilizado, a experiência do profissional, a necessidade de repouso após a transferência, a colonização bacteriana do colo e a visão ecográfica são alguns fatores em torno dos quais a discussão é bastante acirrada. Durante muitos anos, a TE se manteve às margens do debate científico, mas, atualmente, vários trabalhos importantes começam a surgir. Por exemplo, recentemente um prestigioso grupo espanhol publicou um interessante estudo randomizado com 100 pacientes, comparando a espera de 30 segundos com a retirada imediata do cateter após a TE, em termos de taxa de implantação (Martinez *et al.*, 2001). Os autores observaram taxa de gravidez de 60,8% no grupo sem espera para a retirada do cateter, contra 69,4% no grupo com espera de 30 segundos. Eles observam que a diferença não é estatisticamente significativa, mas uma diferença de 9% pode sê-lo clinicamente, conforme observado em estudos de metanálise em protocolos de indução da ovulação (Daya e Gunby, 2000).

Neste trabalho, procuramos abordar alguns aspectos que podem ser relevantes na melhoria da técnica de TE, conforme exposto na **Tabela I**.

Tabela I
Fatores Relevantes na Transferência de Embriões

Infecção cervical e profilaxia antibiótica
Aspiração do muco cervical e lavagem com meio de cultura
Escolha do cateter
Visualização ultra-sonográfica
Transferência de prova (<i>mock transfer</i>)
Posição dos embriões na cavidade uterina
Repouso após a transferência

Infecção Cervical

Algumas investigações avaliaram a relação entre a presença de bactérias vaginais e no colo uterino e a implantação e evolução da gravidez. Egbase *et al.* (1996) realizaram a cultura da ponta do cateter após a TE em 110 pacientes. Não foram encontradas diferenças entre diversas variáveis clínicas, mas houve uma superioridade estatisticamente significativa nas taxas de gravidez clínica obtidas nas pacientes com cultura negativa do cateter de transferência ($p < 0,005$), conforme pode ser observado na **Tabela II**. Baseados em seus estudos de contaminação do cateter e taxas de gravidez, Egbase *et al.* (1999) propõem o emprego de antibioticoterapia profilática de rotina.

Tabela II
Número de Oócitos, Fertilização, Embriões Transferidos e Gravidezes Clínicas (Egbase *et al.*, 1996)

	<i>Negativo</i>	<i>Positivo</i>	<i>p</i>
Número médio de oócitos fertilizados	13,6	12,9	$> 0,18$
Número médio de fertilizados e clivados	9,6	10,3	$> 0,05$
Número médio de embriões transferidos	3,5 (0,9)*	3,6(0,6)	$= 0,62$
Gravidezes clínicas por transferência	32 (57,1%)**	16 (29,5%)	$< 0,005$

Fanchin *et al.* (1998) realizaram estudo prospectivo em 279 pacientes, com idade inferior a 39 anos, que tiveram ao menos dois embriões de boa qualidade transferidos, e que foram submetidas a antibioticoterapia profilática no momento da aspiração folicular com 1 g de amoxicilina/ácido clavulânico. Após cultura da ponta do cateter, observaram positividade de 51% (64% de *E. coli*). Os resultados obtidos por esse grupo confirmam os achados de Egbase, e são reportados na **Tabela III**.

Moore *et al.* (2000), em estudo prospectivo em 91 pacientes, realizando cultura da vagina e do cateter de transferência após a ET, relatam que a presença de *S. viridans* influencia negativamente a possibilidade de sucesso do ciclo, enquanto a presença de lactobacilos é um elemento favorável. Outros microorganismos patogênicos encontrados no cateter foram enterococos, anaeróbios, micoplasma e ureaplasma, mesmo tendo sido iniciada antibioticoterapia com doxiciclina no momento da captação oocitária. Com relação às pacientes com cultura positiva para *S. viridans*, apenas uma entre 17 engravidou (6%), enquanto 26 entre as 74 negativas (35%) engravidaram ($p = 0,04$).

Salim *et al.* (2002), comparando 139 TE com antibioticoterapia profilática com 1 g de cefalozina e 75 TE de embriões congelados sem antibioticoterapia, não encontraram diferença significativa na colonização bacteriana do cateter entre os dois grupos (57% contra 67%).

Dentre as pacientes com cultura do cateter positiva, a taxa de gravidez encontrada foi de 16,3%, enquanto naquelas com cultura negativa ou prevalência de lactobacilos a taxa de gravidez foi de 30,7% ($p = 0,002$). Nos 19 casos de positividade para gram-negativos (12 por *E. coli*) não foram observadas gravidezes. Todos os germes gram-positivos e 90% dos gram-negativos mostraram-se sensíveis a amoxicilina e ácido clavulânico. Em conclusão, há claras evidências de que microrganismos patogênicos endocervicais estão presentes em um número relevante de mulheres no momento da TE. O papel da presença de lactobacilos e de uma concentração bacteriana mínima deve, ainda, ser definido. O diagnóstico da presença de germes endocervicais e seu tratamento já durante a estimulação ovariana, seja para eliminar um possível efeito deletério sobre a implantação, seja por profilaxia de complicações sépticas da aspiração folicular, parece ser uma boa norma nos ciclos de reprodução assistida com TE.

Aspiração do Muco Cervical e Lavagem com Meio de Cultura

A presença de muco no cateter parece reduzir significativamente a possibilidade de gravidez, mormente se associada à presença de sangue (Awonuga *et al.*, 1998). Em estudo realizado na Austrália, a necessidade de remoção do muco cervical antes da TE obteve o sexto lugar entre os fatores considerados de importância para

Tabela III
Número de Pacientes, Idade, Número de Oócitos, Fertilização, Embriões Transferidos, Gravidezes Clínicas e Taxa de Implantação (Fanchin *et al.*, 1998)

	<i>Positivo</i>	<i>Negativo</i>	<i>p</i>
Número de pacientes	143	136	
Número médio de oócitos maduros	8,1	8,1	ns
Número médio de embriões transferidos	3 (2-4)*	3(2-4)	ns
Gravidezes clínicas	24%	37%	0,02
Taxa de implantação	9%	16%	0,01

o sucesso da TE (Kowacs, 1999). O papel negativo da presença de muco não parece relacionado ao aumento da possibilidade de retenção dos embriões no cateter, que não piora o prognóstico de implantação se a transferência for realizada imediatamente após verificar-se a retenção (Nabi *et al.*, 1997). Além de poder potencialmente contaminar a cavidade endometrial, o muco é capaz de arrastar os embriões para o colo no momento da retirada do cateter, ou de impedir um contato adequado com o endométrio. A presença de sangue no cateter está associada a uma significativa redução nas taxas de implantação (Goudas *et al.*, 1998). O desencadeamento de contrações uterinas, provocado pela transferência difícil, parece ser a principal causa que influencia negativamente o processo de implantação (Fanchin *et al.*, 1998). Entretanto, investigação recente de Pinheiro *et al.* (2003) revela que a administração de agentes betamiméticos, que diminuem a contratilidade uterina, não melhora as taxas de gravidez e implantação. A remoção do muco cervical diminui a possibilidade de contaminação do cateter e da cavidade uterina, e a lavagem com meio de cultura pode apresentar vantagens ao modificar o microambiente cervical. Pode-se concluir que a transferência difícil, com o estímulo da contratilidade uterina, e a presença de sangue e muco no cateter são elementos que afetam negativamente as taxas de implantação.

A Escolha do Cateter

Recentemente, muito se tem discutido sobre a escolha do tipo de cateter de transferência. Há, na literatura, estudos discordantes sobre a eficiência dos vários tipos de cateteres. Meriano *et al.* (2000), estudando 66 pacientes e comparando os cateteres TDT (Laboratoire CCD, França) e TomCat (Sherwood, EUA), encontraram taxas de gravidez, respectivamente, de 14,7 e 47%, diferença estatisticamente significativa em favor do cateter TomCat, que é rígido, curto e de baixo preço. Encontram-se ainda na literatura várias comparações entre os cateteres mais utilizados para a TE, com resultados discordantes (Wisanto *et al.*, 1989; Urman *et al.*, 2000; Karande *et al.*, 2002). Em um estudo com 518 ciclos, Wood *et al.* (2000) demonstraram que TE com cateteres flexíveis produ-

ziam uma taxa de gravidez de 36%, enquanto com cateteres rígidos a taxa caía para 17%. Nosso grupo realizou investigação prospectiva estudando dois tipos de cateteres flexíveis, o cateter flexível de Cook e o cateter de Wallace, em 200 transferências de embriões. Obtivemos taxas de gravidez e implantação sem diferença estatisticamente significativa, mas o cateter de Wallace proporcionou melhor visualização ultrassonográfica durante o procedimento.

A Transferência sob Visão Ultra-sonográfica

Os primeiros relatos de transferência de embriões sob visão ultra-sonográfica devem-se a Strickler *et al.* (1985). A partir de então surgiram inúmeras investigações estudando a influência da visão ecográfica nos procedimentos de transferência embrionária, muitas vezes com resultados discordantes no que se refere a melhorias nas taxas de gravidez e implantação (Woolcott e Stanger, 1998; Kan *et al.*, 1999; Lindheim *et al.*, 1999; Coroleu *et al.*, 2000; Tang *et al.*, 2001; Anderson *et al.*, 2002; Camargo Martins, 2004). No Hospital Pérola Byington, em São Paulo, e no Instituto Clínico Humanitas, em Milão, procuramos sempre realizar as transferências sob visão ultrassonográfica. Acreditamos que tal procedimento facilita a técnica, permite o posicionamento ideal do cateter e a visualização da ejeção do meio contendo os embriões na cavidade uterina, além de apresentar evidentes benefícios de ordem psicológica, reduzindo a ansiedade das pacientes por certifi-cá-las de que os embriões foram bem posicionados na cavidade endometrial.

A Transferência de Prova

A transferência de prova pode ser útil na avaliação do estado anatomofuncional do colo uterino e na escolha do cateter de transferência. É discutível a realização da transferência de prova no dia da aspiração folicular, pois a anestesia poderia interferir nas condições cervicais. Alguns grupos a praticam antes do ciclo de tratamento (Knutzen *et al.*, 1992), outros imediatamente antes da transferência real (Mansour e Aboulghar, 2002); há, também, grupos que não a praticam ou o fazem em casos selecionados, optan-

do pela transferência transmiometrial nos casos difíceis (Sharif *et al.*, 1996). Nosso grupo realiza a transferência de prova imediatamente antes da transferência real.

Repouso Após a Transferência

O repouso após a TE não parece influenciar os resultados do procedimento. Botta e Grudzinskas (1997) não encontraram diferenças na taxa de gravidez comparando tempos de repouso de 20 minutos e 24 horas após a TE. Outros estudos apontam altas taxas de gestação em pacientes que se levantam imediatamente após a TE (Sharif *et al.*, 1998). Nosso grupo tem por norma deixar as pacientes em repouso por um período de duas horas, quando então se levantam e vão para casa normalmente.

Conclusões

A transferência de embriões é um dos momentos mais cruciais dos procedimentos de reprodução assistida, pois dela depende o êxito de um trabalho que envolve toda a equipe que participa do processo. Portanto, devem ser observados todos os cuidados para que seja realizada da maneira menos traumática e mais delicada possível, aumentando as possibilidades de implantação e, conseqüentemente, os índices de sucesso do centro de reprodução assistida. Acreditamos que o controle dos processos infecciosos que podem acometer o canal cervical, a aspiração do muco e lavagem com meio de cultura, a transferência de prova, a utilização de um cateter flexível, os cuidados para não tocar o fundo uterino com o cateter e a transferência sob visão ultra-sonográfica são procedimentos que podem otimizar a técnica de transferência de embriões, culminando com melhores taxas de implantação e gravidez.

Resumo

A transferência de embriões é um passo de grande importância nos procedimentos de reprodução assistida. Os autores fazem uma revisão de alguns dos aspectos mais relevantes dessa técnica, enfatizando que devem ser tomadas todas as precauções para que sejam obtidas altas taxas de implantação e gravidez. Concluem

que o controle adequado dos processos infecciosos cervicais, a remoção do muco cervical, o emprego de cateteres flexíveis e a transferência guiada por ultrasonografia podem melhorar as taxas de implantação e gravidez.

Unitermos: *transferência de embriões, reprodução assistida, taxas de gravidez*

Referências

1. Anderson R., Nugent N. L., Gregg A. T. *et al.* – Transvaginal ultrasound-guided embryo transfer improves outcome in patients with previous failed in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 17: 769-775, 2002.
2. Awonuga A., Nabi A., Govindbhai J. *et al.* – Contamination of embryo transfer catheter and treatment outcome in in vitro fertilization. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 15:198-201, 1998.
3. Botta G. and Grudzinskas G. – Is a prolonged bed rest following embryo transfer useful? *Hum. Reprod.*, 12:2489-2492, 1997.
4. Camargo Martins A. M. V. – Análise da ultra-sonografia abdominal como método auxiliar no processo da transferência embrionária. (Tese). Botucatu: Faculdade de Medicina da UNESP; 2004.
5. Cavagna M., Mendes-Pereira D. H., Shimabukuro L. *et al.* – A transferência de embriões em local não contíguo ao laboratório de gametas não altera as taxas de gravidez. *J. Bras. Reprod. Assist.*, 5:99-101, 2001.
6. Coroleu B., Carreras O., Veiga A. *et al.* – Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy rates in in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.*, 15: 616–620, 2000.
7. Daya S., Gunby J. – Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction cycles. (Cochrane Review). In: The Cochrane Library, Issue 4, Oxford Update Software, 2000.
8. Edwards R. G., Fishel S. B., Cohen J. *et al.* – Factors influencing the success of in vitro fertilization for alleviating human infertility. *J. In Vitro Fertil. Embryo Transfer*, 1:3-23, 1984.
9. Egbase P. E., Al-Sharhan M., Al-Othman S. *et al.* – Incidence of microbial growth from the tip of the embryo transfer catheter after embryo transfer in relation to clinical pregnancy rate following in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum. Reprod.*, 11(8):1687-1689, 1996.
10. Egbase P. E., Udo E. E., Al-Sharhan M., Grudzinskas J. G. – Prophylactic antibiotics and endocervical microbial inoculation of the endometrium at embryo transfer. *Lancet*, 354(9179):651-652, 1999.
11. Fanchin R., Harmas A., Benaoudia F. *et al.* – Microbial flora of the cervix assessed at the time of embryo transfer adversely affects in vitro fertilization outcome. *Fertil. Steril.*, 70:866-870, 1998.
12. Fanchin, R., Righini, C., Olivennes, F. *et al.* – Uterine contractions at the time of embryo transfer alter pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.*, 13: 1968–1974, 1998.
13. Goudas V. T., Hammitt D. G., Damario M. A. *et al.* – Blood on the embryo transfer catheter is associated with decreased rates of embryo implantation and clinical pregnancy with the use of in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil. Steril.*, 70:878-882, 1998.

14. Hill D. L. – Role of the in vitro fertilization laboratory in a negative pregnancy outcome. *Fertil. Steril.*, 75:249-245, 2001.
15. Kan A. K. S., Abdalla H. I., Gafar A. H. *et al.* – Embryo transfer: ultrasound-guided versus clinical touch. *Hum. Reprod.*, 14: 1259-1261, 1999.
16. Karande V., Hazlett D., Vietzke D., Gleicher N. – A prospective randomized comparison of the Wallace catheter and the Cook Echo-Tip for ultrasound guided embryo transfer. *Fertil. Steril.*, 77:826-836, 2002.
17. Knutzen V., McNamee P. I., Stratton C. J. *et al.* – Mock embryo transfer in early luteal phase, the cycle before in vitro fertilization and embryo transfer: a descriptive study. *Fertil. Steril.*, 57:156-162, 1992.
18. Kovacs G. T. – What factors are important for successful embryo transfer after in-vitro fertilization? *Hum. Reprod.*, 14:590-592, 1999.
19. Lindheim S. R., Cohen M. A., Sauer M. V. – Ultrasound guided embryo transfer significantly improves pregnancy rates in women undergoing oocyte donation. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 66:281-284, 1999.
20. Mansour R. T., Aboulghar M. A. – Optimizing the embryo transfer technique. *Hum. Reprod.*, 17: 1149-1153, 2002.
21. Martinez F., Coroleu B., Parriego M. *et al.* – Ultrasound-guided embryo transfer: immediate withdrawal of the catheter versus a 30 second wait. *Hum. Reprod.*, 16:871-874, 2001.
22. Meriano J., Weissman A., Greenblatt E. M. *et al.* – The choice of embryo transfer catheter affects embryo implantation after IVF. *Fertil. Steril.*, 74:678-682, 2000.
23. Moore D. E., Soules M. R., Klein N. A. *et al.* – Bacteria in the transfer catheter tip influence the live-birth rate after in vitro fertilization. *Fertil. Steril.*, 74:1118-1124, 2000.
24. Naaktgeboren N., Dieben S., Heijnsbroek I. *et al.* – Embryo transfer: easier said than done. *Fertil. Steril.*, 70: S352, 1998.
25. Nabi A., Awonuga A., Birch H. *et al.* – Multiple attempts at embryo transfer: does this affect in-vitro fertilization treatment outcome? *Hum. Reprod.*, 12:1188–1190, 1997.