



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
MICROBIOMA VAGINAL E IMPACTO
SOBRE LA SALUD.

Autor: Beatriz Pascual Olmos

Fecha: 28/05/2019

Tutor: Concepción Gil

ÍNDICE

1. RESUMEN	2
2. OBJETIVOS	2
3. METODOLOGÍA	2
4. INTRODUCCIÓN	2
4.1 Microbioma humano y tecnologías “ómicas”	2
4.2 Características de la microbiota vaginal	4
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	5
5.1 Microbiota vaginal sana.....	5
5.2 <i>Lactobacillus</i> : primera línea de defensa	6
5.3 Microbiota vaginal en el embarazo	8
5.4 Disbiosis vaginal.....	10
5.5 Vaginosis bacteriana en el embarazo.....	12
5.6 Probióticos como tratamiento y prevención.	15
6. CONCLUSIONES	16
7. BIBLIOGRAFIA	16

1. RESUMEN

La microbiota vaginal posee gran importancia en el mantenimiento de la salud vaginal y en la protección de la mujer contra la enfermedad. Los últimos avances en las técnicas moleculares y en las “ómicas” han permitido investigar en detalle el microbioma vaginal y comparar la estructura de las comunidades microbianas vaginales con sus repercusiones en la salud. Aunque existen multitud de variaciones inter e intrapersonales, según los últimos estudios, se relaciona una microbiota vaginal sana con la predominancia de especies del género *Lactobacillus* productoras de peróxido de hidrógeno, gracias a que son capaces de inhibir la colonización de otras bacterias patógenas manteniendo un pH entre 4-4,5. Los desequilibrios de la microbiota o disbiosis están causados por la deplección de estas especies de *Lactobacillus*. Su ausencia favorece el crecimiento de especies patógenas dando lugar a infecciones tales como la vaginosis bacteriana, candidiasis o tricomoniasis. Si estas infecciones se producen durante el embarazo pueden originar partos prematuros y espontáneos, rotura de membranas y bajo peso del niño al nacer, poniendo en riesgo tanto a la madre como al feto. Debido a ello, se están empezando a administrar probióticos por vía oral y vaginal para la prevención y tratamiento de las disbiosis, tanto en mujeres fértiles como en embarazadas, para mantener y recuperar una microbiota vaginal saludable.

2. OBJETIVOS

En este Trabajo de Fin de Grado se va a hacer una revisión bibliográfica sobre cómo la alteración del microbioma vaginal (y microbiota, por consiguiente) está estrechamente relacionada con la aparición de enfermedades, como la vaginosis bacteriana, y con las complicaciones del embarazo provocando partos prematuros, bajo peso al nacer y alteraciones de la microbiota tanto en la madre como en el recién nacido. Además, se valorará el uso de probióticos como prevención y tratamiento de la disbiosis.

3. METODOLOGÍA

Para realizar este trabajo, se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica rigurosa en las principales plataformas digitales y científicas como PubMed, ScienceDirect, Google Scholar, Elsevier o MedLine. Se filtraron los resultados mediante algunas palabras clave como *vaginal microbiome, microbiota, omics, proteomics, metagenomics, Lactobacillus, vaginal disbiosis, bacterial vaginosis, pregnancy, preterm, probiotics* de los últimos 10 años. También se utilizaron bases de datos como el “NIH Roadmap Human Microbiome Project” (<https://commonfund.nih.gov/hmp>) en colaboración con el proyecto “Multi-Omic Microbiome Study-Pregnancy Initiative” (<http://vmc.vcu.edu/momspi>).

4. INTRODUCCIÓN

4.1 Microbioma humano y tecnologías “ómicas”.

El microbioma humano se puede definir como el conjunto de genes que forman parte de la microbiota humana. En el caso del ser humano está constituido por 10-100 billones de microbios, lo que supone 10 veces más que el número de células totales de nuestro organismo,

y en conjunto contiene 27 veces más genes que el propio genoma humano.¹ Está formado principalmente (pero no únicamente) por bacterias, y recubre la totalidad de superficies epiteliales y mucosas del organismo. La estrecha interacción entre el huésped y la microbiota, cuya composición es única en cada individuo, aparece como resultado de un largo proceso de evolución y adaptación mutua que define nuestra capacidad para adaptarnos y defendernos de las posibles amenazas ambientales. El “Human Microbiome Project” (HMP), completado en el 2012, consiguió describir el microbioma en adultos sanos, estableciendo un punto de inicio para la evaluación del rol potencial de la microbiota en salud y enfermedad.

La iniciativa “Multi-Omic Microbiome Study-Pregnancy Initiative” (MOMS-PI)² es un proyecto colaborativo con “The Global Alliance to Prevent Prematurity and Stillbirth” (GAPPS) y fundado por el “NIH Roadmap Human Microbiome Project.” Esta colaboración busca conocer el impacto del microbioma vaginal en el embarazo, las complicaciones relacionadas con éste y el impacto en el microbioma fetal. El parto prematuro es la principal causa de muerte en neonatos, por lo que actualmente es un tema de estudio para llegar a conocer más sobre el papel del microbioma en la salud maternoinfantil.

MOMS-PI es un proyecto multifactorial creado para generar grandes bases de datos utilizando las seis tecnologías “ómicas”, basadas en la biología de los sistemas (Fig. 1):

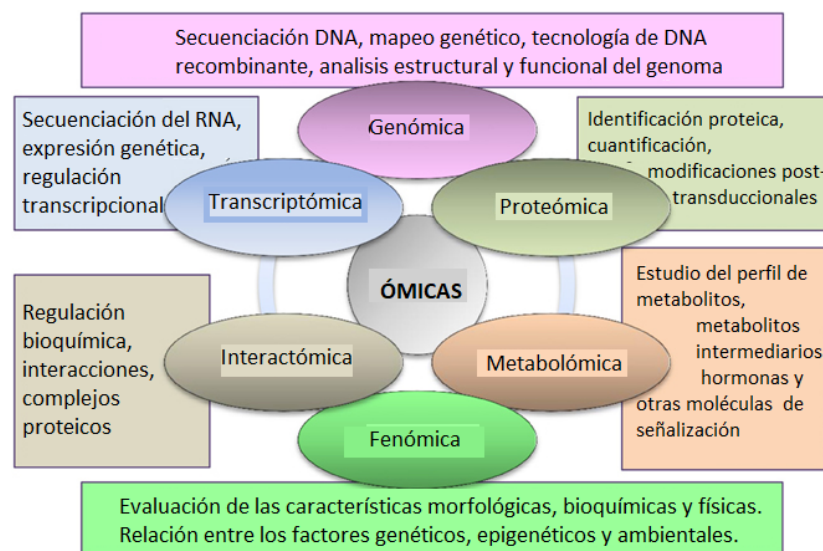


Figura 1. Biología de los Sistemas. Las 6 “ómicas”. Modificado de *Rupesh et al.*³

1. *Secuenciación de los genes 16S rRNA (genómica).* El RNA ribosomal 16S es un componente de la subunidad pequeña 30S de los ribosomas de las células procariotas. Esta secuencia permanece altamente conservada entre las distintas especies de bacterias y, por otro lado, también poseen regiones hipervariables que pueden proporcionar secuencias específicas muy útiles para la identificación de bacterias. Además, esta técnica es una alternativa rápida y económica a los métodos de identificación de bacterias por fenotipos.⁴
2. *Metagenómica del genoma completo.* Es un proceso por el que se determina la secuencia entera de DNA del genoma completo de un organismo.⁵ Se corta aleatoriamente el ADN en muchas secuencias cortas y se reconstruyen en una secuencia de consenso. Deriva del concepto estadístico de metaanálisis (proceso en el que se combinan estadísticamente análisis separados) y del de la genómica.

3. *Proteómica*. Es el estudio de los proteomas, que son el conjunto de proteínas expresadas por un genoma, una célula o un tejido. Tiene como objetivo el estudio a gran escala de la función de los genes a nivel de proteína.
4. *Metatranscriptómica*. La extracción y los análisis del ARNm metagenómico o metatranscriptoma proporciona información sobre la regulación y perfiles de expresión de comunidades complejas. Se usa la secuenciación de alto rendimiento del ADNc para proporcionar la expresión del genoma completo y cuantificación de una comunidad microbiana.⁶
5. *Metabólica*. Se trata del estudio del metabotipo o fenotipo metabólico, el cual puede tener asociación entre la secuencia genética y un fenotipo visible.⁵

El proyecto MOMS-PI tiene como objetivo identificar la microbiota de las mujeres durante el embarazo y poco tiempo después del parto. Las muestras que se extrajeron de las participantes fueron de la boca, piel, vagina y recto. Además, una o dos veces, las participantes también debían hacerse una analítica de sangre. Las mujeres seleccionadas, por último, tuvieron que contestar a un pequeño cuestionario sobre su salud y otras actividades durante el estudio. También se recogieron muestras tanto de la madre como de los niños durante y justo después del parto. Gracias a esta iniciativa se podrá conocer un poco más cómo el microbioma está relacionado con el riesgo de parto prematuro y la dinámica temporal del microbioma durante el embarazo.

4.2 Características de la microbiota vaginal

La microbiota vaginal es el conjunto de los microorganismos que habitan en la vagina, y la mayoría de ellos son bacterias. Hasta el inicio del HMP, había sido muy difícil su estudio ya que la mayoría de las poblaciones bacterianas no eran cultivables. En las últimas décadas, se han incrementado las investigaciones gracias a la aparición de nuevas técnicas de secuenciación de última generación⁷. La microbiota vaginal está formada por más de 250 especies bacterianas, constituyendo la principal línea de defensa contra la colonización de patógenos oportunistas y cuya integridad es fundamental para conseguir resultados obstétricos adecuados. Aunque antes de la menarquía predomina una combinación de microbiota intestinal y cutánea, debido a los efectos de los estrógenos y progestágenos una vez iniciada la vida fértil de la mujer, empieza a proliferar en el tracto genital la especie que predominará hasta la menopausia: *Lactobacillus*, de la que se conocen más de 120 subtipos diferentes, y que aportará protección en la salud sexual y reproductiva de la mujer.¹

Las comunidades bacterianas vaginales se agrupan en tipos o comunidades microbianas vaginales. La vagina es un ecosistema muy complejo que depende de muchos factores. La microbiota vaginal “normal” en las mujeres no gestantes y fértiles es muy dinámica y cambiante, encontrando variaciones intrapersonales e interpersonales según etnia, edad, predisposición genética por la presencia de determinados polimorfismo asociados a la modulación de la respuesta inflamatoria (TNF- α , el receptor IL-1 y la IL-1 β), prácticas sexuales, biota anal y oral y cambios hormonales,¹ pero también según el consumo de drogas o del uso de probióticos y antibióticos (este último provoca disbiosis).⁷

Los métodos de cultivo han demostrado que las comunidades bacterianas vaginales se agrupan de tres a nueve grupos discretos, la mayoría de los cuales están dominados por *Lactobacillus*, de los cuales la metagenómica ha descubierto que existen unos 20 tipos.⁷ Una microbiota tanto normal como alterada alberga más de 250 especies de bacterias, las cuales están bajo la influencia de los factores intrínsecos y extrínsecos. Varias investigaciones sobre el microbioma

vaginal⁸ han mostrado que las comunidades vaginales son dinámicas y capaces de cambios rápidos, aunque en muchas mujeres el microbioma es bastante estable. Como parte del HMP, se estudió y demostró la relación existente entre las bacterias de la cavidad vaginal y las enfermedades que la afectan, siendo la más prevalente la disbiosis vaginal bacteriana. La disbiosis vaginal es el desequilibrio de la microbiota vaginal normal, lo que puede provocar su colonización por bacterias no beneficiosas y por tanto sufrir una infección; a estas se les denominan vaginosis bacterianas.⁷

Los primeros estudios microbiológicos de la vagina humana^{9,10} determinaron que las especies del género *Lactobacillus* eran los microorganismos predominantes en esta cavidad. De las 2776 especies de bacterias aisladas en el hombre,⁷ 581 se encontraban en la microbiota vaginal, teniendo en cuenta las variaciones entre razas y culturas. De estas 581 bacterias, la mayoría pertenecían a 10 grupos filogenéticos de los cuales los más importantes (de mayor a menor predominancia) fueron *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, y *Bacteroidetes* (Figura 2). Las bacterias del género *Firmicutes* se incluyen en 24 familias de las cuales la familia *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae* y *Peptoniphilaceae* son las mayoritarias. Del total, *Lactobacillus* fue el género más representado con 36 especies. Esto supondría que la mayoría de los microorganismos aislados en la vagina de mujeres en edad fértil y sanas se corresponden con la especie *Lactobacillus*. Las especies encontradas en mayor proporción fueron *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, y *L. jensenii*.¹¹

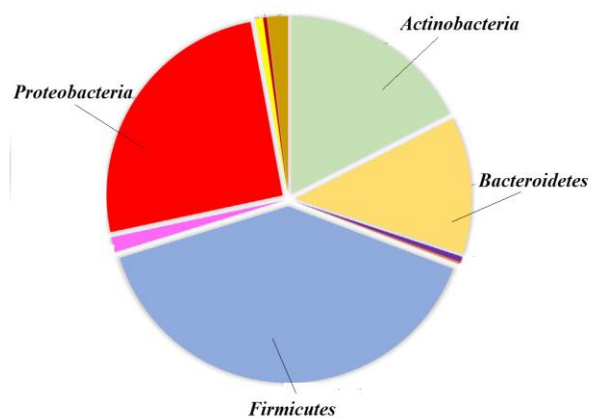


Figura 2. Clasificación por grupo filogenético. Modificada de Diop *et al.*⁷

Tabla 1. Clasificación por géneros de microorganismos que se encuentran en la vagina.

Cocos y bacilos G+	<i>Lactobacillus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Gadnerella</i> <i>Staphylococcus</i>
Bacilos G-	<i>Klebsiella</i> <i>Escherichia</i> <i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i>
Micoplasmas	<i>Mycoplasma</i>

En la *Tabla 1* se presenta una relación de los microorganismos que se detectan con regularidad en la vagina de mujeres sanas. La mayoría son típicos del hábitat intestinal, lo que sugiere que el tracto entérico podría actuar como reservorio de estos agentes infecciosos.^{10,9} Sin embargo, las frecuencias relativas son muy distintas a las encontradas en la porción final del tubo digestivo lo que se cree que en esta mucosa son simplemente transeúntes.¹⁰

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1 Microbiota vaginal sana

Algunos de los estudios más recientes^{8,11} han comparado el microbioma vaginal de mujeres de diferentes razas con el objetivo de conocer si muestran una diferencia significativa en la microbiota, y definir así el concepto de “microbiota vaginal sana”.

En este estudio de cohortes¹¹ se estudió la composición del microbioma vaginal de mujeres de diferentes razas (blanca, asiática, negra e hispánica) con el fin de estudiar las variaciones que existen las diferentes comunidades étnicas. Las proporciones de cada grupo de bacterias fueron significativamente diferentes entre los cuatro grupos de mujeres, y no estadísticamente significativas las diferencias entre la edad o heterogeneidad entre las comunidades. El grupo de mujeres dominadas por las especies de *Lactobacillus* (grupos I, II, III y V) representaban el 80,2% y 89,7% de las mujeres de razas asiática y blanca respectivamente, mientras que solo representaban el 59,6% y 61,9% en las mujeres de razas negra e hispánica respectivamente. Por otra parte, se encontró que la comunidad de bacterias IV (no predominancia de *Lactobacillus*) estaba en mayor porcentaje en las razas hispánica (34,3%) y negra (38,4%), comparado con las razas asiática (38,9%) y blanca (9,3%).

Además, se tomaron muestras del pH de la vagina, y tanto en las mujeres de raza hispánica como en la negra, se obtuvieron resultados de pH 5.0 y pH 4.7 respectivamente, mientras que el pH de las mujeres de razas blanca y asiática fueron respectivamente de pH 4.4 y 4.2.

Estos datos son significativos ya que un valor de pH menor a 4,5 y una predominancia de *Lactobacillus* se ha asociado a una microbiota vaginal “sana”. Esto nos lleva a pensar que debe haber diferencias en el sistema inmunitario innato y adaptativo, composición y cantidad de las secreciones vaginales y en los ligandos de las células epiteliales de las mujeres de razas negra e hispánica, comparadas con las mujeres de razas blanca y asiática.

Sin embargo, la etnia no es el único factor que altera la composición vaginal; tanto los hábitos y prácticas sexuales como la higiene personal, los métodos de control de parto y los comportamientos sexuales son factores importantes que pueden modificar su composición.

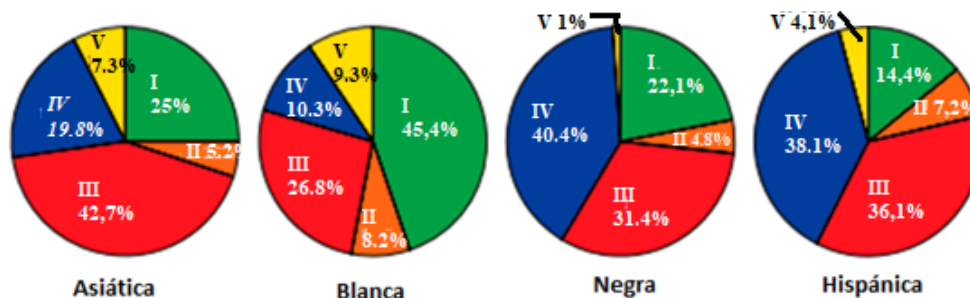


Figura 3. Representación de los grupos de bacterias encontrados en la microbiota vaginal en las diferentes comunidades étnicas. Grupos de bacterias: I (*Lactobacillus crispatus*), II (*Lactobacillus gasseri*), III (*Lactobacillus iners*), IV (*Prevotella*, *Sneathia*, *Megasphaera*, *Streptococcus*), V (*Lactobacillus jensenii*). Modificado de Ravel et al.¹¹

5.2 *Lactobacillus*: primera línea de defensa

Lactobacillus es un género de bacterias grampositivas, microaerófilas, baciliformes y no productoras de esporas. Poseen un metabolismo homofermentativo, es decir, producen ácido láctico a partir de azúcares, y son aerotolerantes a pesar de la ausencia de cadena respiratoria. Estas bacterias son capaces de producir varios compuestos antimicrobianos, principalmente ácidos orgánicos producidos a partir de la fermentación de azúcares que inhiben el crecimiento de la mayoría de los patógenos. El pH fisiológico de la vagina es de aproximadamente 4-4,5, y gracias a este ambiente ácido, se inhibe parcial o totalmente el desarrollo de la mayor parte de las bacterias procedentes del tracto digestivo y de las de origen ambiental, siendo así un mecanismo de protección de la mucosa muy eficaz. Además, los *Lactobacillus* vaginales también son capaces de producir bacteriocinas, biosurfactantes y peróxido de hidrógeno

(H₂O₂).⁹ De hecho, la prevalencia de cepas que producen H₂O₂ se ha correlacionado con la disminución de la incidencia de vaginosis bacteriana e infecciones vaginales.

El origen de la acidez vaginal es el ácido láctico que se genera como producto final del metabolismo fermentativo de los glúcidos que llevan a cabo los *Lactobacillus* residentes y las propias células epiteliales. Las células vaginales tienden a acumular glucógeno, especialmente durante el período entre la menarquía y la menopausia, por lo que se considera que este glúcido es la fuente de la que deriva la acidez vaginal.¹⁰ Los diferentes isómeros del ácido láctico también pueden tener papeles específicos en la vagina humana: el ácido L-láctico activa ciertas células inmunitarias y puede inducir a las células epiteliales vaginales a liberar citocinas proinflamatorias.⁸ El papel del ácido D-láctico (producido casi exclusivamente por bacterias) es menos conocido. Sin embargo, la relación de ácido L- láctico/ D-láctico puede modular la expresión de moléculas de señalización del huésped y contribuir al riesgo de desarrollo de enfermedades.

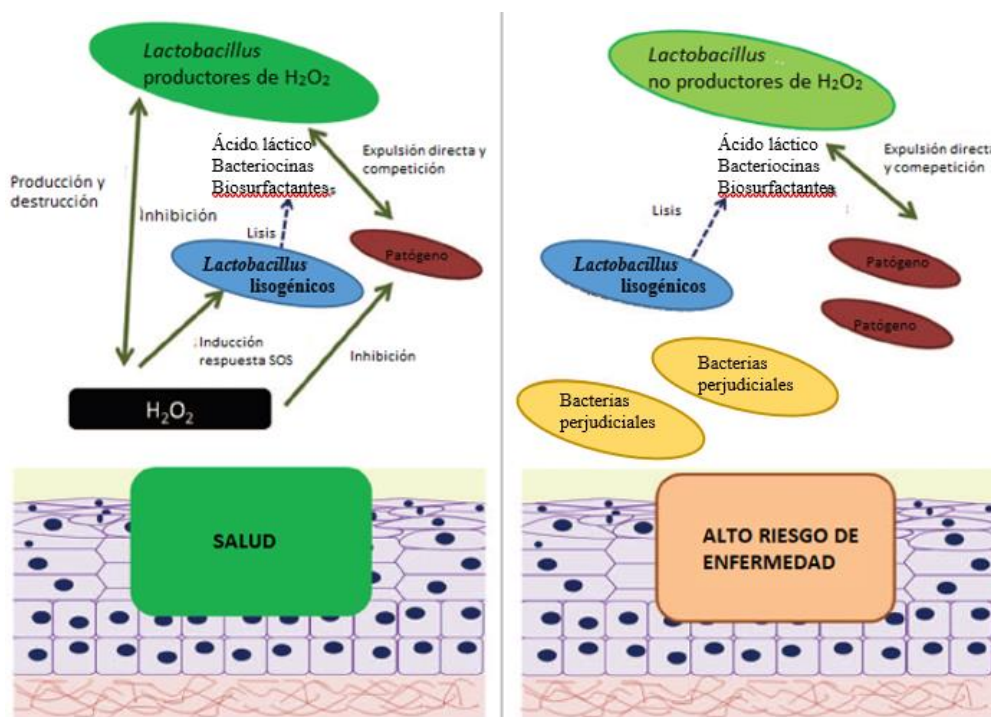


Figura 4. Papel del peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en el ecosistema vaginal. El H₂O₂ es una sustancia antimicrobiana que regula la población de bacterias en la vagina, ya que su acumulación induce una respuesta SOS que provoca que los *Lactobacillus* lisogénicos se lisen, liberando ácido láctico, biosurfactantes y bacteriocinas. Un descenso en el número de *Lactobacillus* productores de H₂O₂ incrementa el riesgo de enfermedad vaginal. Modificado de R. Martín et al.⁹

El efecto bactericida del H₂O₂ viene determinado por su capacidad oxidante y por la generación, a partir de ella, de metabolitos como el radical OH⁻, que dañan la integridad del ADN celular. Dicho efecto se potencia por la mieloperoxidasa y los radicales haluro, como el Cl⁻, que son abundantes en las secreciones biológicas y cuya elevada concentración en el mucus uterino es especialmente pertinente, sobre todo durante la ovulación.¹⁰ Ya que no todas las especies del género *Lactobacillus* son capaces de producir H₂O₂ y no todas se asocian con un microbioma vaginal sano, nos lleva a pensar que puede haber otras bacterias que sean capaces de producir

esta sustancia bactericida y se comporten como mutualistas, ejerciendo un papel protector de la mucosa vaginal, y no solo el género *Lactobacillus*.^{2,12}

Las bacteriocinas son polipéptidos de naturaleza anfipática y con actividad antimicrobiana que originan la apertura de poros en las membranas e incluso la lisis celular ya que algunas se unen al lípido II de la pared. Estas bacteriocinas pueden destruir patógenos urogenitales in vitro¹⁰ bajo diversas condiciones, y el ácido láctico puede actuar como agente antimicrobiano más allá de mantener un pH altamente ácido, alterando las membranas celulares bacterianas y estimulando la inmunidad de la huésped en presencia del lipopolisacárido bacteriano. Además, se ha observado que las comunidades microbianas vaginales sanas en las que no predomina *Lactobacillus* también están dominadas por grupos taxonómicos que producen ácido láctico,^{2,8} por lo que su presencia puede indicar que es un componente clave para mantener una función vaginal saludable.

El resultado de la asociación entre los *Lactobacillus* y el epitelio vaginal es la formación de una biopelícula que lo protege frente a la colonización por microorganismos indeseados. Este efecto se ve potenciado por la capacidad de los lactobacilos vaginales para coagregar con los patógenos potenciales como *Gardnella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans* o *Escherichia coli*, entre otros,² lo cual induce un efecto antimicrobiano notable probablemente como consecuencia del contacto estrecho que se establece, ya que aumenta la efectividad del ácido láctico, el peróxido de hidrógeno y los otros productos microbiocidas generados por los *Lactobacillus*.¹⁰

5.3 Microbiota vaginal en el embarazo

Durante el embarazo, existen cambios en el ecosistema de la vagina: aumentan los niveles de progesterona y estrógenos, el epitelio vaginal se engrosa, existe mayor producción de glucógeno, etc., lo que lleva a una reducción significativa en la diversidad y riqueza de la microbiota vaginal, aumentándose el dominio por *Lactobacillus*. Además, las especies de *Lactobacillus* que encontramos en embarazadas son diferentes de aquellas que encontramos en mujeres sanas no embarazadas.

Se ha observado que durante el embarazo la estabilidad de la microbiota vaginal aumenta, y esto podría explicarse como una disminución de la susceptibilidad a sufrir un desequilibrio que pueda resultar en una infección intrauterina y consecuentemente en un aborto o parto prematuro. Por tanto, se cree que puede ser una adaptación evolutiva alcanzada para incrementar la fecundidad y el desarrollo normal del feto. Algunos estudios sugieren que el mecanismo de adaptación es algo más complejo. La baja biodiversidad en embarazo dominada por *Lactobacillus* puede estar relacionado con los altos niveles de estrógenos que se producen.¹³ Esto se relaciona con el hecho de que el estrógeno tiene un efecto directo en la maduración del epitelio vaginal, el cual genera glucógeno, utilizado por *Lactobacillus* en la producción de ácido láctico. Sin embargo, al ser muy difícil la medida de glucógeno en la vagina,⁸ sigue siendo una hipótesis.

Gracias al desarrollo de técnicas de secuenciación de regiones variables de ARN ribosomal 16S (metagenómica), se han definido cinco “community statetypes” o CST.^{8,13} Se utiliza para clasificar a los microorganismos dentro de estos microbiomas agrupados o “comunidades microbianas vaginales”.

Tabla 2. Comunidades vaginales (CST) y su relación con la producción de ácido láctico*.

CST	Especies	Producción ácido láctico**
I	<i>Lactobacillus crispatus</i> (dominante)	Alta - Máxima estabilidad
II	<i>Lactobacillus gasseri</i> (dominante)	Alta - Relativamente estable
III	<i>Lactobacillus iners</i> (dominante)	Baja – Mínima estabilidad de <i>Lactobacillus sp.</i> (se encuentra frecuentemente en VB)
IV-A	Polimicrobiano (<i>Peptoniphilus, Anaerococcus, Corynebacterium, Finegoldia, Prevotella., Lactobacillus</i>)	Baja - Poco estable
IV-B	Polimicrobiano (<i>Atopobium, Prevotella, Sneathia, Gardnerella, Ruminococcaceae, Parvimonas, Mobiluncus</i>)	Muy baja - Muy poco estable (Disbiosis)
V	<i>Lactobacillus jensenii</i> (dominante)	Alta - Poco común

* Modificado de Felicia M. et al. ⁸

** Los niveles más altos de ácido láctico se asocian a la salud vaginal.

Cuatro de estas cinco comunidades están dominadas por diferentes subtipos de *Lactobacillus* (I, II, III y V) y un solo subtipo no dominado por *Lactobacillus*, el CST IV (A y B), que está formado por un conglomerado polimicrobiano predominantemente anaerobio con una cantidad mucho menor de *Lactobacillus*. Mientras los primeros grupos se asocian a una menor tasa de infecciones vaginales y a unos resultados obstétricos favorables, el subtipo IV polimicrobiano, supone un factor de riesgo para el desarrollo de complicaciones obstétricas y de vaginosis bacteriana. Esto se debe a su capacidad para inducir la síntesis de citocinas proinflamatorias como la interleucina 6 y la activación de células presentadoras de antígeno, que consecuentemente reclutarán linfocitos T CD4+ a nivel vaginal y estimularán la respuesta inmune, asociándose a una mayor tasa de abortos recurrentes y parto prematuro, entre otros. ¹

Tabla 3. Distribución de grupos de bacterias en una muestra de mujeres embarazadas y no embarazadas*

CST	I	II	III	IV-A	IV-B	Total
Mujeres no embarazadas	129 (17%)	68 (8.9%)	268 (35.2%)	79 (10.4%)	217 (28.5%)	761
Mujeres embarazadas	53 (38.1%)	6 (4.3%)	72 (51.8%)	5 (3.6%)	3 (2.2%)	139

*Modificado de Romero R. et al. ¹³

En la Tabla 3 se recogen datos de un estudio ¹³ en el que se analiza la microbiota vaginal de una muestra de mujeres embarazadas y se compara con la microbiota de otra muestra de mujeres sanas no embarazadas. El resultado de este estudio confirma que durante el embarazo la microbiota vaginal se vuelve menos diversa con un predominio claro de dos tipos de bacterias pertenecientes al género *Lactobacillus*: *L. crispatus* y *L. iners*. Además, desaparecen prácticamente en la totalidad de mujeres embarazadas las comunidades en las que no predominan *Lactobacillus* (IV-A/B). Sin embargo, más adelante veremos que en las últimas investigaciones *L. iners* se ha asociado a complicaciones durante el embarazo cuando predomina como única especie de *Lactobacillus*¹⁴.

El momento determinante para el establecimiento de nuestro microbioma vaginal es la vía del parto. Mientras que la microbiota aislada en los neonatos nacidos por vía vaginal se asemeja a la existente en la vagina materna sana, en aquellos nacidos por cesárea es similar a la microbiota cutánea, predominando especies como *Streptococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium*. Así, los nacidos por cesárea muestran una mayor prevalencia de sobrepeso/obesidad, asma, alergia y alteraciones inmunitarias en la edad adulta en comparación con los nacidos por vía vaginal.¹ Por lo tanto, la cesárea representa el primer obstáculo para la correcta conformación de la microbiota en el recién nacido.

5.4 Disbiosis vaginal

La disbiosis vaginal es el desequilibrio en la composición de la microbiota vaginal lo que la hace susceptible al desarrollo de una infección. La microbiota vaginal cuanto más diversa, menos resiliencia presenta a la alteración, y más susceptibilidad a las enfermedades. Las patologías más comunes en mujeres dentro de las disbiosis son: 1) la proliferación de *Candida spt.* principalmente *C. albicans* (candidiasis); 2) *Trichomonas vaginalis* (tricomoniasis); y 3) la vaginosis bacteriana, esta última la más frecuente.

- 1) *C. albicans* es un hongo y es el patógeno responsable de la mayoría de los casos de candidiasis vulvovaginal, infección que ocurre frecuentemente durante el ciclo menstrual y el embarazo.¹⁵ La candidiasis es la segunda infección vaginal más común, después de la VB. Aproximadamente el 70-75% de las mujeres fértiles desarrollan un episodio de infección por *C. albicans*, y el 50% sufren recurrencias. Son numerosos los estudios que han evaluado la relación entre la infección vaginal por *Candida* y embarazo, los cuales han concluido que no se asocia significativamente con parto prematuro u otras alteraciones durante el embarazo o parto. A pesar de que la prevalencia de la candidiasis es de un 20-25% en mujeres embarazadas, raramente invade la cavidad amniótica por lo que es poco frecuente. Algunos estudios han sugerido que las infecciones en el tercer trimestre de embarazo se incrementan debido al efecto estrogénico el cual optimiza las condiciones de crecimiento del hongo, entre otros. *Lactobacillus* presenta, por tanto, un papel protector en el desarrollo de la candidiasis, ya que interacciona con *Candida spt* previniendo su crecimiento y manteniendo un bajo número de colonias. Sin embargo, no se debe tratar la colonización asintomática, solo la sintomática.¹⁶
- 2) *Trichomonas vaginalis* es un protozoo que provoca la infección (no viral y transmitida sexualmente) más prevalente del mundo. Sin embargo, la tricomoniasis suele ser asintomática en el 70-85% de los casos.¹⁷ La presencia de *T. vaginalis* en las mujeres puede provocar cambios en el microbioma vaginal y como consecuencia, se ve aumentada la probabilidad de infección por bacterias patógenas, desarrollando en muchos de los casos vaginosis bacteriana concomitante a la infección por *T. vaginalis*. Por otro lado, esta infección se ha asociado a situaciones obstétricas adversas como parto prematuro, bajo peso al nacer y rotura prematura de las membranas, además de incrementarse el riesgo de adquisición y transmisión del VIH.¹⁷ *Lactobacillus* es capaz de inhibir el crecimiento de *T. vaginalis* y por tanto evitar su infección gracias a los péptidos antimicrobianos que se cree que tienen un efecto antiprotozoal. Sin embargo, el tratamiento actual consiste en el antibiótico metronizadol (incluso en pacientes asintomáticos). Es efectivo contra el protozoo y seguro durante el embarazo.¹⁸

- 3) La vaginosis bacteriana (VB) es el desequilibrio vaginal más común en mujeres en edad reproductiva. Es un síndrome caracterizado por la depleción de la microbiota normal de *Lactobacillus* y un aumento en el crecimiento de las bacterias anaerobias vaginales, acompañada por la pérdida de la acidez típica de la vagina. La vagina es un órgano muy versátil que puede afectar a la salud de las mujeres y de los recién nacidos. En general, la VB es una condición vaginal bastante común, sin embargo, la prevalencia depende de las comunidades estudiadas.⁷

Hace unos años se creía que la VB solamente era producida por *Gardnerella vaginalis*.¹⁹ Actualmente y gracias a las últimas investigaciones se ha podido determinar que es un síndrome polimicrobiano en el que encontramos muchas bacterias anaerobias o facultativas, donde *G. vaginalis* es el microorganismo predominante, seguido por *Atapobium vaginae* y en menor frecuencia por *Bacteroides*, *Veillonella*, *Ruminococcus* y el género *Streptococcus*.²⁰ *G. vaginalis* es una bacteria grampositiva con pared celular compuesta de peptidoglicano. Se encuentra en el 87% de las mujeres sin diagnóstico de VB y en prácticamente todas las muestras de mujeres con diagnóstico positivo de VB.²¹

La VB es responsable de varios síntomas como la secreción vaginal, la cual es típicamente blanquecina o grisácea y con un olor fuerte a pescado.^{21,19} Esto se debe al aumento de la producción de aminas que incrementan el pH vaginal a más de 4,5, y este pH reduce el efecto inhibitorio que ejerce el peróxido de hidrógeno sobre el crecimiento de las bacterias anaerobias.¹⁹ Esto caracteriza la aparición de “*clue cells*” o células clave, que son células epiteliales recubiertas por cocobacilos. Se observan mediante microscopía.²¹ Generalmente, el 50% de las mujeres que sufren este desequilibrio son asintomáticas en el momento del diagnóstico.¹⁹

Por tratarse de una infección polimicrobiana, el diagnóstico de la VB se basa en dos métodos: Amsel y Nugent. El Método de Amsel se basa en 4 criterios clínicos que reflejan la fisiopatología de la VB (*Tabla 4*).¹⁹ El Método de Nugent se utiliza para estudiar el desequilibrio en la microbiota vaginal mediante la cuantificación de 4 morfotipos bacterianos, mediante el examen directo de la secreción vaginal teñido con Gram. Se obtienen valores entre 0-10 generados por la combinación de estos 3 factores. Los resultados pueden ser (*Tabla 5*):^{22 23}

- ≤ 3: microbiota vaginal normal (resultado negativo de VB)
- 4 - 6: microbiota vaginal intermedia (posible desarrollo hacia VB)
- > 7: microbiota vaginal anormal (resultado positivo en VB)

Tabla 4. Criterios de Amsel para el diagnóstico de la VB.

- Flujo vaginal homogéneo (el color y cantidad pueden variar)
- Olor a aminas (pescado) cuando se agrega solución de KOH a la secreción vaginal - “Prueba del olor”
- Presencia de células clave o *clue cells*
- pH vaginal > 4.5

* Modificado de Rosca A. et al.¹⁹

Tabla 5. Criterios de la Escala de Nugent para el diagnóstico de Vaginosis Bacteriana.

Nº <i>Lactobacillus</i>	Puntuación	Nº <i>Gardnerella/Bacteroides</i>	Puntuación	Nº bacilos curvados G-	Puntuación	TOTAL
>30	0	0	0	0	0	0
5-20	1	<1	1	<1	1	3
1-4	2	1-4	2	1-4	1	5
<1	3	5-20	3	5-20	2	8
0	4	≥30	4	≥30	2	10

Las sustancias que son liberadas por todo este conglomerado de bacterias que constituyen las biocapas y que pueden estar implicadas en la VB son variadas:

- Inmunomoduladores como las hemolisinas, ácidos grasos volátiles y ácidos grasos no volátiles, proteasas y sialidasas (inhiben la IgA sérica aumentando el riesgo de parto prematuro por citoxinas). Además, aumentan las IL-1 β , IL-8 y TNF- α , que junto con la prolidasa confieren una mayor susceptibilidad a las infecciones por VIH y virus del herpes simple tipo 2.²⁰
- Sustancias proinflamatorias, como el lipopolisacárido S (LPS), que actúa sobre citocinas, IL-1 β , IL-6 y TNF- α , favoreciendo el parto prematuro, ya que activan el sistema inmune innato provocando inflamación.¹²

Por otro lado, los factores que alteran el ecosistema vaginal son:

- Excesivas duchas vaginales. Las duchas vaginales son soluciones líquidas que se aplican en la vagina. Se calcula que son utilizadas por el 27-59% de las mujeres para eliminar el semen y evitar así posible transmisión de patógenos, el mal olor vaginal y para aliviar la irritación vaginal, gracias al ácido acético. Sin embargo, aumenta de media 2,1 veces el riesgo de desarrollar una VB.²⁰
- Uso de espermicidas (nonoxinol-9) y antibióticos.

Los datos recientes que usan análisis de secuencia han demostrado una correlación entre el tabaquismo y la disbiosis,⁸ ya que producen compuestos que inducen bacteriófagos en los lactobacilos, aumentándose la prevalencia de sufrir vaginosis bacteriana. Además, también es un factor de riesgo en la adquisición de infecciones de transmisión sexual (ETS), incluyendo VIH, y en el desarrollo de enfermedades relacionadas con el embarazo como la endometritis postparto o nacimiento a pretérmino.²¹

5.5 Vaginosis bacteriana en el embarazo.

El parto prematuro sigue siendo la principal causa de morbimortalidad neonatal en el mundo.¹ Debido a que las infecciones vaginales son importantes mecanismos responsables, mantener una buena microbiota vaginal con un equilibrio de *Lactobacillus*, es particularmente importante durante el embarazo.²⁴ Se ha demostrado que la VB incrementa el riesgo de parto prematuro y está asociado a complicaciones durante el embarazo, como aborto espontáneo, rotura prematura de membranas, recién nacido de bajo peso, endometritis posparto e infecciones de la herida posquirúrgica.²⁰ Se ha determinado mediante estudios epidemiológicos que la disbiosis vaginal, como la vaginosis bacteriana, se asocia con el parto a pretérmino.^{25,19,14}

Definimos parto prematuro o a pretérmino al nacimiento del niño antes de las 37 semanas de gestación. Esto puede comprometer tanto la salud de la madre como la del niño. Los grupos microbianos más prevalentes en el parto prematuro son *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Bacteroides spp*, *Gardnerella vaginalis* y *Fusobacterium nucleatum*.²⁶

Los altos niveles de bacterias asociadas con la VB están relacionados con el incremento de los niveles de citoquinas proinflamatorias y producción de citocinas en el tracto genital. Esto provoca una inflamación de la zona genital, lo que incrementa el riesgo de parto espontáneo.

En este estudio²⁷ se observó la asociación entre la ausencia de *Lactobacillus* vaginales, parto a pretérmino y bajo peso al nacer, entre una muestra de mujeres con microbiota vaginal intermedia que supone un valor en la escala de Nugent de 4. Se diferenciaron mujeres con predominancia de *Lactobacillus* y mujeres sin predominancia de *Lactobacillus*.

La probabilidad de parto prematuro (<37 semanas de gestación) y un bajo peso al nacer (<2500g) fue mayor en el grupo de mujeres sin predominancia de *Lactobacillus*, comparado con las predominantes de *Lactobacillus*. Esto puede llevar a pensar que reforzando el tratamiento con *Lactobacillus* en mujeres asintomáticas con un índice de Nugent de 4 y ausencia total de colonización podría evitar las complicaciones en el parto. Además de las infecciones vaginales, otros factores como diabetes, hipertensión u obesidad pueden ser factores que incrementen el riesgo de parto a pretérmino. ²⁷

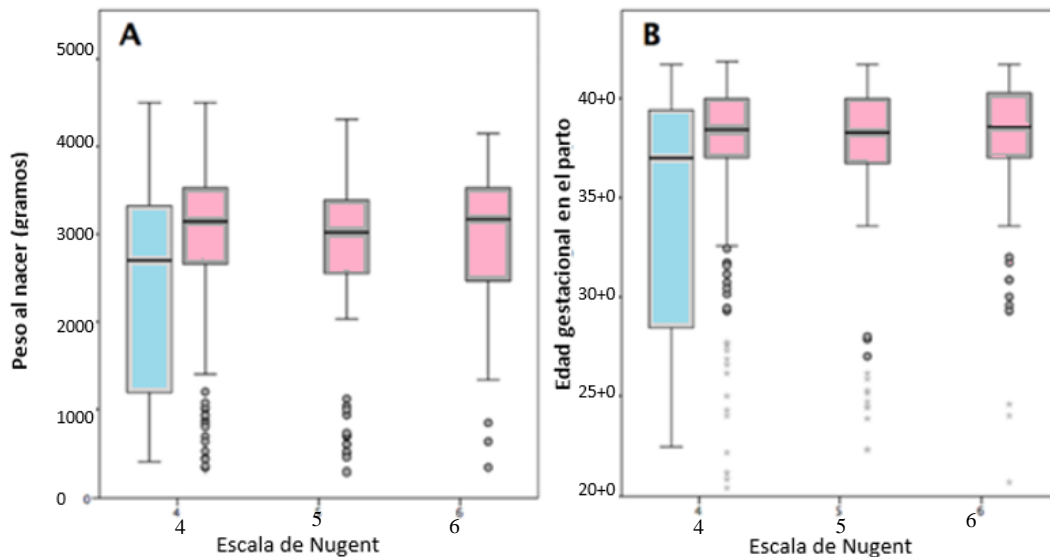


Figura 5. Peso al nacer (A) y edad gestacional (B) en el momento del parto en una muestra de mujeres con microbiota vaginal intermedia. En color azul grupo no-*Lactobacillus*; en color rosa grupo *Lactobacillus*. Modificado de Farr A. et al. ²⁷

Esto indica que los *Lactobacillus* vaginales juegan un papel muy importante en la microbiota vaginal intermedia y su ausencia está relacionada con una condición patológica durante el embarazo. De hecho, las mujeres con una microbiota vaginal anormal son aproximadamente 1,4 veces menos propensas a tener un buen desarrollo temprano del embarazo en comparación con las mujeres con la microbiota normal. ²⁸

En otro estudio ²⁴ se investigó sobre la diversidad de especies de *Lactobacillus* en mujeres que tuvieron parto a pretérmino y parto a término. La muestra constaba de mujeres con microbiota vaginal sana en el primer trimestre del embarazo. Se detectó que *L. iners* se encontraba aislado como única especie en el 85% de las mujeres que tuvieron un parto a pretérmino. Sin embargo, solo fue detectado en el 16% de las mujeres de la muestra que tuvieron un parto a término. Por otro lado, el 56% de las mujeres que tuvieron parto a término y el 8% a pretérmino, tenían 2 o más especies de *Lactobacillus* al mismo tiempo. Esto sugiere que el predominio de *L.iners* puede estar asociado con el parto a pretérmino.

Este mismo estudio demostró que el 75% de las mujeres con una microbiota vaginal normal en el primer trimestre de embarazo tiene menor riesgo de parto antes de las 35 semanas, comparado con mujeres con una microbiota vaginal anormal.

L. iners puede responder ante diferentes cambios en el ecosistema vaginal gracias a la capacidad para regular su función genómica. Se encuentra tanto en las microbiotas vaginales normales como anormales, por lo que puede predisponer al desarrollo de una enfermedad vaginal. En un entorno de VB, *L. iners* aumenta la expresión de una citolisina dependiente del colesterol,

mucinas, el transporte de glicerol y varias enzimas metabólicas relacionadas. Además, se ha demostrado que esta especie tiene una preferencia por el glucógeno y glicerol como fuentes de carbono bajo condiciones de VB. Del mismo modo, la recolonización de la vagina con *L. iners* después de una VB puede ser un factor de riesgo para una recurrencia.

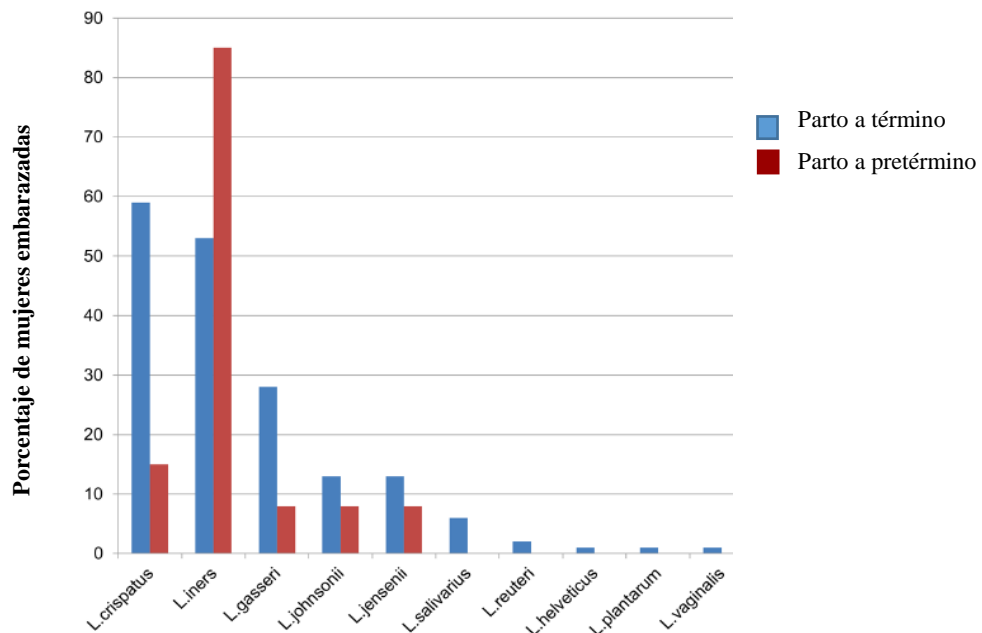


Figura 6. Porcentaje de las especies de *Lactobacillus* más frecuentes en mujeres con parto a término y pretérmino. Tomado de Vazquez F. et al.²⁰

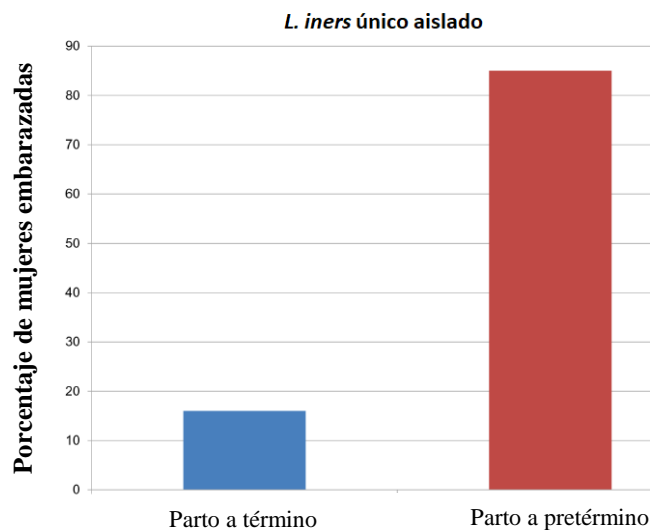


Figura 7. Porcentaje de *L.iners* como única especie de *Lactobacillus* aislado en mujeres con parto a término y pretérmino. Tomado de Vazquez F. et al.²⁰

Sin embargo, no se puede demostrar que *L.iners* sea el único responsable de las infecciones ocurridas durante el embarazo, pero sí podemos asumir que su presencia puede acelerar algunos mecanismos potencialmente asociados con el parto prematuro. Por el contrario, en combinación con otras cepas de *Lactobacillus*, no existe influencia en la microbiota vaginal y no se vio disminuido el papel protector de las bacterias productoras de ácido láctico.²⁴

5.6 Probióticos como tratamiento y prevención.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define los probióticos como "microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del consumidor". Cualquier componente de nuestra microbiota podría ser candidato como probiótico. Sin embargo, en la práctica encontramos solo dos grupos microbianos: *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*.^{29,30} Esto se debe a que son los únicos colonizadores de nuestras mucosas que son inocuos en prácticamente cualquier circunstancia. Además, estos han sido reconocidos como organismos GRAS (*Generally Regarded As Safe*) y QPS (*Qualified Presumption of Safety*) por la FDA de los Estados Unidos y la European Food Safety Authority, respectivamente. Sin embargo, no solo la falta de virulencia es el requisito necesario; también debemos conocer la adaptación de estas bacterias a la cavidad diana, la adherencia al epitelio que lo recubre, la producción de sustancias antimicrobianas, etc. Esto es así, que se prefieren utilizar como probióticos los microorganismos con el mismo origen.

La función de los probióticos en el ecosistema vaginal consiste en impedir la proliferación de microorganismos patógenos y la pérdida de lactobacilos productores de H₂O₂ (agente microbicida). Los recientes avances en la comprensión de la microbiología han incrementado el interés del empleo de probióticos. Existen resultados sobre el uso de varias cepas probióticas como terapia adyuvante con antibióticos y fungicidas tanto para el tratamiento de las VB y candidiasis vaginal, como para la prevención de las recurrencias. El objetivo del tratamiento combinado es la restauración de la microbiota vaginal normal y su empleo se puede hacer tanto por vía oral como vaginal. Estas terapias están avaladas por sociedades científicas ginecológicas (AEEM y SEGO) que concluyen que el uso de *Lactobacillus* podría ser una alternativa prometedora, costo-efectiva y segura en la prevención de las recurrencias en poblaciones seleccionada.³¹ Aunque la terapia adyuvante con probióticos ha demostrado eficacia es improbable que pueda sustituir al antibiótico.

La administración de probióticos puede ser por vía vaginal como por vía oral. El tratamiento oral se basa en *L. acidophilus* y *L. bifidus*, y el tratamiento vía vaginal en *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.³⁰ Se ha observado una mayor restitución de la microbiota vaginal normal con el tratamiento vía oral respecto a placebo y una disminución en las recidivas con el tratamiento vía vaginal respecto a placebo en pacientes con VB.^{29,32, 30} A pesar de que ambas administraciones son igual de efectivas, se ha comprobado que por vía oral el cumplimiento terapéutico es mayor respecto a la vía vaginal, probablemente por ser una administración más fácil y cómoda.³⁰

En cuanto al periodo del embarazo, la suplementación temprana de probióticos en los periodos prenatal y postnatal parece tener un impacto positivo en la madre y en la futura salud de los niños, por lo que existe evidencia de que los probióticos son efectivos en la prevención de infecciones antes y después del parto.³³

6. CONCLUSIONES

- El concepto de “microbiota vaginal sana” depende de las características inter e intrapersonales de las mujeres, existiendo diferencias según la edad, etnia o hábitos de vida, entre otros.
- Una microbiota vaginal sana se asocia con la predominancia de especies del género *Lactobacillus* productoras de peróxido de hidrógeno, que proporcionan un pH de máxima estabilidad entorno a 4-4,5.
- La principal disbiosis vaginal es la vaginosis bacteriana, la cual se desarrolla en más del 70% de las mujeres durante su vida fértil, seguida de la candidiasis y tricomoniasis.
- Durante el embarazo, la microbiota vaginal cambia reduciendo su diversidad y aumentándose el predominio por algunas especies de *Lactobacillus* como *L.iners* y *L.crispatus*. Sin embargo, *L. iners* también se asocia a un mayor riesgo de parto prematuro cuando se aísla como única especie en la vagina de embarazadas.
- El desarrollo de la vaginosis bacteriana durante el embarazo se asocia a un posible parto prematuro, bajo peso al nacer y otras alteraciones obstétricas que pueden comprometer tanto la salud de la madre como la del recién nacido.
- El uso de probióticos a base de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* se ha recomendado en la prevención y tratamiento de las disbiosis, tanto en mujeres embarazadas como no embarazadas.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Tur-Torres MH, Alijotas-Reig J. La microbiota materna y los grandes síndromes obstétricos: cuando el enemigo se convierte en aliado. *Med Clin (Barc)*. 2017;150(4):141-143. doi:10.1016/j.medcli.2017.04.008
2. Huang B, Fettweis JM, Brooks JP, Jefferson KK, Buck GA. The changing landscape of the vaginal microbiome. *Clin Lab Med*. 2014;34(4):747-761. doi:10.1016/j.cll.2014.08.006
3. Deshmukh R, Sonah H, Patil G, et al. Integrating omic approaches for abiotic stress tolerance in soybean. *Front Plant Sci*. 2014;5(June):1-12. doi:10.3389/fpls.2014.00244
4. Napeñas JJ, Brennan MT, Bahrani-Mougeot FK, Fox PC, Lockhart PB. 16S Ribosomal DNA Amplification for Phylogenetic Study. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2007;103(1):48-59. doi:10.1016/j.tripleo.2005.12.016
5. Pirih N, Kunej T. Toward a Taxonomy for Multi-Omics Science? Terminology Development for Whole Genome Study Approaches by Omics Technology and Hierarchy. *Omi A J Integr Biol*. 2017;21(1):1-16. doi:10.1089/omi.2016.0144
6. Simon C, Daniel R. Metagenomic analyses: Past and future trends. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(4):1153-1161. doi:10.1128/AEM.02345-10
7. Diop K, Dufour JC, Levasseur A, Fenollar F. Exhaustive repertoire of human vaginal microbiota. *Hum Microbiome J*. 2019;11(January):100051. doi:10.1016/j.humic.2018.11.002
8. Lewis FMT, Bernstein KT, Aral SO. Vaginal microbiome and its relationship to behavior, sexual health, and sexually transmitted diseases. *Obstet Gynecol*. 2017;129(4):643-654. doi:10.1097/AOG.0000000000001932
9. Martín R, Miquel S, Langella P, Bermúdez-Humarán LG. The role of metagenomics in

- understanding the human microbiome in health and disease. *Virulence*. 2014;5(3):413-423. doi:10.4161/viru.27864
10. Martín R, Soberón N, Vázquez F, Suárez JE. La microbiota vaginal: Composición, papel protector, patología asociada y perspectivas terapéuticas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008;26(3):160-167. doi:10.1157/13116753
 11. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci*. 2011;108(Supplement_1):4680-4687. doi:10.1073/pnas.1002611107
 12. Greenbaum S, Greenbaum G, Moran-Gilad J, Weintraub AY. Ecological dynamics of the vaginal microbiome in relation to health and disease. *Am J Obstet Gynecol*. 2019. doi:10.1016/j.ajog.2018.11.1089
 13. Romero R, Hassan SS, Gajer P, et al. The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome*. 2014;2(1):10. doi:10.1186/2049-2618-2-10
 14. Klebanoff MA, Brotman RM. Treatment of bacterial vaginosis to prevent preterm birth. *Lancet*. 2018;392(10160):2141-2142. doi:10.1016/s0140-6736(18)32115-9
 15. Alves CT, Silva S, Pereira L, Williams DW, Azeredo J, Henriques M. Effect of progesterone on *Candida albicans* vaginal pathogenicity. *Int J Med Microbiol*. 2014;304(8):1011-1017. doi:10.1016/j.ijmm.2014.07.004
 16. Chatzivassileiou P, Vyzantiadis T. Vaginal yeast colonisation: from a potential harmless condition to clinical implications and management approaches. A literature review. *Mycoses*. 2019;myc.12920. doi:10.1111/myc.12920
 17. Edwards T, Burke P, Smalley H, Hobbs G. *Trichomonas vaginalis*: Clinical relevance, pathogenicity and diagnosis. *Crit Rev Microbiol*. 2016;42(3):406-417. doi:10.3109/1040841X.2014.958050
 18. Salakos E, Korb D, Morin C, Sibony O. A case of non-treated *Trichomonas vaginalis* infection and severe preterm labor with positive obstetrical outcome. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2018;47(4):171-173. doi:10.1016/j.jogoh.2018.01.006
 19. Rosca A, Cerca N. Bacterial vaginosis. *Diagnostics to Pathog Sex Transm Infect*. 2018;(Table 2):257-275. doi:10.1002/9781119380924
 20. Vázquez F, Fernández-Blázquez A, García B. Vaginosis. Microbiota vaginal. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2018;(xx). doi:10.1016/j.eimc.2018.11.009
 21. Marín E, Haesaert A, Padilla L, et al. Unraveling *Gardnerella vaginalis* surface proteins using cell shaving proteomics. *Front Microbiol*. 2018;9(MAY):1-15. doi:10.3389/fmicb.2018.00975
 22. Church D, Miller B. Alberta Guideline for Laboratory Processing and Interpretation of Vaginal Specimens for Bacterial Vaginosis. 2011:6-7. <http://cmpt.ca/wp-content/uploads/2016/06/Interpretation-of-Vaginal-Specimens.pdf>.
 23. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol*. 1991;29(2):297-301. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1706728> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC269757>.
 24. Macklaim JM, Fernandes AD, Di Bella JM, Hammond JA, Reid G, Gloor GB. Comparative meta-RNA-seq of the vaginal microbiota and differential expression by *Lactobacillus iners* in health and dysbiosis. *Microbiome*. 2013;1(1):1-11. doi:10.1186/2049-2618-1-12
 25. Shaw GM, Relman DA, Proctor DM, et al. Metagenomic analysis with strain-level resolution reveals fine-scale variation in the human pregnancy microbiome. *Genome Res*. 2018;28(10):1467-1480. doi:10.1101/gr.236000.118
 26. Nelson DB, Rockwell LC, Prioleau MD, Goetzl L. The role of the bacterial microbiota

- on reproductive and pregnancy health. *Anaerobe*. 2016;42:67-73. doi:10.1016/j.anaerobe.2016.09.001
27. Farr A, Kiss H, Hagmann M, et al. Role of lactobacillus species in the intermediate vaginal flora in early pregnancy: A retrospective cohort study. *PLoS One*. 2015;10(12):1-12. doi:10.1371/journal.pone.0144181
 28. Singer M, Borg M, Ouburg S, Morré SA. The relation of the vaginal microbiota to early pregnancy development during in vitro fertilization treatment—A meta-analysis. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2019. doi:10.1016/j.jogoh.2019.01.007
 29. Castro A, González M, Tarín JJ, Cano A. Papel de los probióticos en Obstetricia y Ginecología. *Nutr Hosp*. 2015;31:26-29. doi:10.3305/nh.2015.31.sup1.8704
 30. Huang H, Song L, Zhao W. Effects of probiotics for the treatment of bacterial vaginosis in adult women: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Arch Gynecol Obstet*. 2014;289(6):1225-1234. doi:10.1007/s00404-013-3117-0
 31. Calatayud GÁ, Azpiroz F. Empleo de probióticos y prebióticos en atención primaria. *Nutr Hosp*. 2015;31:59-63. doi:10.3305/nh.2015.31.sup1.8708
 32. Palmeira-de-Oliveira R, Palmeira-de-Oliveira A, Martinez-de-Oliveira J. New strategies for local treatment of vaginal infections. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015;92:105-122. doi:10.1016/j.addr.2015.06.008
 33. Baldassarre ME, Palladino V, Amoruso A, et al. Rationale of Probiotic Supplementation during Pregnancy and Neonatal Period. *Nutrients*. 2018;10(11):1-22. doi:10.3390/nu10111693
 34. Mur Pérez AM, Mateo Segura Z, Ramírez Domínguez N, Vela Condón P. Uso de probióticos en las vaginosis bacterianas. *Semergen*. 2017;43(5):394-398. doi:10.1016/j.semerg.2016.09.002