

El Microbioma del tracto reproductivo: una revisión narrativa de la literatura The reproductive Microbiome: a narrative review of the literature

Dr. Jorge Rodríguez-Purata^{1,2}, Dra. Maitane Alonso-de Mendieta^{1,2}, Dr. Enrique Cervantes-Bravo^{1,2}

¹Clínica de la Fertilidad “CdeLaF” CDMX, 05370

²Centro Médico ABC, CDMX, 05370

Autor principal para la correspondencia

RESUMEN

Antecedentes: Históricamente, el enfoque de la investigación en torno al microbioma se ha centrado en patología, mientras que su fisiología se ha ignorado en gran medida. La importancia de este papel fisiológico se demostró cuando el proyecto del genoma humano se publicó en 2001. **Objetivo:** Discutir la investigación actual sobre el microbioma del tracto reproductivo femenino, con el fin de proporcionar una opinión experta sobre cómo utilizar este conocimiento en la práctica clínica del diagnóstico y tratamiento en el área de la ginecología, la obstetricia y la infertilidad. **Material y métodos:** En septiembre de 2020, se realizó una búsqueda electrónica en las bases de datos: PubMed y Google Scholar. La estrategia de búsqueda incluyó palabras clave relacionadas con la literatura científica sobre el microbioma del tracto reproductivo femenino, como (sólo o en combinación): microflora, microbiota, tracto genital, reproducción, semen, vagina, útero, cervical, placenta, concepción, reproducción asistida y microbioma urogenital. La búsqueda se limitó a ensayos clínicos, estudios de cohorte (prospectivos y retrospectivos) y transversales, revisiones sistemáticas y revisiones de la literatura publicados entre 2000 y agosto de 2020. **Resultados:** Se reunieron 109 artículos de los que se eliminaron 73 por duplicidad y 4 no cumplieron los criterios de inclusión; al final se analizaron 32 artículos. Tras la revisión de la literatura, se exponen los conceptos más relevantes para entender el impacto de la microbiota y su microbioma tanto en el área de la obstetricia, como de la ginecología y de la medicina reproductiva. **Conclusiones:** Una comprensión más completa del papel del microbioma reproductivo promete mejoras en los tratamientos de fertilidad y una comprensión más matizada de la salud reproductiva en general. Aunque el campo es nuevo, ya existen formas de utilizar lo que se conoce para mejorar la práctica clínica y lograr mejores

Correspondencia: Dr. Jorge Rodríguez-Purata
jorge@cdelaf.com

SOLICITUD REIMPRESIÓN: Email: fertilidad@editorialmedica.com

resultados en las diferentes facetas de la vida de una mujer. Las investigaciones actuales y futuras deberían descubrir más formas de modular la microbiota antes de la concepción y durante el embarazo para minimizar la pérdida del embarazo, el parto prematuro y maximizar la implantación, la tasa de embarazo y el parto a término, principalmente de niños sanos.

Palabras clave: *Microbiota, microbioma, tracto reproductivo,*

SUMMARY

Background: Historically, the focus of research around the microbiome has been on pathology, while its physiology has been largely ignored. The importance of this physiological role was demonstrated when the Human Genome Project was published in 2001. **Objective:** To discuss current research on the female reproductive tract microbiome, in order to provide an expert opinion on how to use this knowledge in the clinical practice in the area of gynecology, obstetrics and infertility. **Material and methods:** In September '20, an electronic search was carried out in PubMed and Google Scholar. The search strategy included keywords related to the scientific literature on the female reproductive tract microbiome, such as (alone or in combination): microflora, microbiota, genital tract, reproduction, semen, vagina, uterus, cervical, placenta, conception, assisted reproduction and the urogenital microbiome. The search was limited to clinical trials, cohort studies (prospective and retrospective) and cross-sectional, systematic reviews, and reviews of the literature published between 2000 and August 2020. **Results:** A total of 109 articles were identified after the search, of which 73 were eliminated due to duplication, and 4 did not meet the inclusion criteria. In the end, 32 articles were analyzed. After thoroughly reviewing the literature, the most relevant concepts are exposed to understand the impact of the microbiota and its microbiome both in the area of obstetrics, gynecology and reproductive medicine. **Conclusions:** A comprehensive understanding of the role of the reproductive microbiome guarantees improvements in fertility treatments and of the reproductive health in general. Although the field is new, there are already ways to use what is known to improve clinical practice and achieve better results in the different facets of a woman's life. Current and future research should discover more ways to regulate the microbiota before conception and during pregnancy to minimize pregnancy loss, preterm labor, and facilitate implantation and a full-term delivery, especially of a healthy child.

Key Words: Microbiota, microbiome, reproductive tract, lactobacillus

INTRODUCCIÓN

Por más de 50 años, el dogma existente ha dictado que el endometrio humano normal es estéril y completamente libre de infección (1); sin embargo, ahora sabemos que el cuerpo humano está colonizado con un orden de magnitud más de bacterias que de células humanas en el cuerpo (2, 3). La primera referencia hacia la posibilidad de la existencia de microorganismos fue en 1947, cuando Ignaz Semmelweis propuso que lavarse las manos en una solución de hipoclorito podría casi eliminar el riesgo de fiebre puerperal, un trastorno que resultaba en una mortalidad materna del 7 % al 15 % (4). Así mismo, Louis Pasteur había propuesto la teoría de la infección por gérmenes, pero la falta de herramientas científicas suficientes para dilucidar cómo se transmitía y contraía la fiebre puerperal, hicieron que la comunidad médica rechazara los hallazgos de Semmelweis. Desde entonces, la comprensión del papel de la microbiota y su microbioma en los procesos fisiológicos y fisiopatológicos del cuerpo humano ha aumentado de manera espectacular.

Históricamente, el enfoque de la investigación en torno al microbioma se ha centrado en patología, mientras que su fisiología se ha ignorado en gran medida. La importancia de este papel fisiológico se demostró cuando el proyecto del genoma humano se publicó en 2001 (5). Dada la magnitud del genoma microbiano colectivo, los científicos involucrados solicitaron un segundo proyecto del genoma que investigaría las colonias normales del microbioma en varios sitios para comprender las interacciones sinérgicas del microbioma (2). Y a partir de este proyecto se empezó a comprender el impacto de la microbiota en la salud y en la enfermedad

El objetivo de esta revisión es discutir la investigación actual sobre el microbioma del tracto reproductivo femenino, con el fin de proporcionar una opinión experta sobre cómo utilizar este conocimiento en la práctica clínica del diagnóstico y tratamiento de la ginecología, la obstetricia y la infertilidad. Las terapias bacterianas, comúnmente conocidas como probióticos, también se investigan cada vez más, una

consecuencia natural de nuestro creciente conocimiento sobre el microbioma. Los probióticos dirigidos pueden reponer la microbiota afectada, restaurar condiciones saludables y, en consecuencia, ayudar a tratar infecciones y enfermedades.

MATERIAL Y MÉTODOS

En septiembre de 2020, se realizó una búsqueda electrónica en las bases de datos: PubMed y Google Scholar. La estrategia de búsqueda incluyó palabras clave relacionadas con la literatura científica sobre el microbioma del tracto reproductivo femenino y masculino, como (solo o en combinación): microflora, microbiota, tracto genital, reproducción, semen, vagina, útero, cervical, placenta, concepción, reproducción asistida y microbioma urogenital.

Adicionalmente, se utilizaron los siguientes términos MeSH: Bacteria/classification; Bacteria/genetics*; Bacteria/growth & development*; Bacteria/isolation & purification; Bacterial Typing Techniques; Bacterial Typing Techniques/methods*; Biofilms; Case-Control Studies; Cervix Uteri/microbiology*; Cervix Uteri/physiology*; Classification; Computational Biology; DNA, Bacterial/genetics*; DNA, Bacterial/isolation & purification; Dysbiosis; Dysbiosis/complications; Dysbiosis / diagnosis; Dysbiosis/microbiology; Embryo Implantation/physiology; Embryo Implantation*; Embryo Transfer/methods*; Embryo Transfer*; Endometrium/microbiology*; Endometrium/physiology*; Evidence-Based Medicine; Female; Fertility; Fertilization in Vitro/methods; Fertilization in Vitro*; Gardnerella vaginalis/genetics; Gene-Environment Interaction; Genitalia/microbiology*; Genitalia/physiopathology; Genitalia, Female/microbiology*; Genitalia, Female/parasitology*; Genome, Bacterial; Host-Pathogen Interactions; Humans; Infertility/microbiology*; Infertility/physiopathology; Infertility/therapy*; Infertility, Female/diagnosis; Infertility, Female/etiology; Infertility, Female/microbiology*; Infertility, Female/therapy*; Lactobacillus/genetics; Lactobacillus/isolation & purification; Lactobacillus/physiology; Live Birth/epidemiology*; Menstrual Cycle; Metagenomics; Microbiota/genetics*; Microbiota/physiology*; Microbiota*; Molecular Diagnostic Techniques*; Placenta/microbiology*; Polymerase Chain Reaction; Pregnancy; Pregnancy Complications, Infectious/genetics; Pregnancy Complications, Infectious/microbiology*; Pregnancy Complications, Infectious/physiopathology; Pregnancy Complications, Infectious/prevention & control; Pregnancy Outcome*; Premature Birth/microbiology; Prospective Studies; Reproduction/physiology*; Reproduction*; Reproductive Techniques, Assisted*; Risk Factors; RNA, Ribosomal, 16S/genetics*;

RNA, Ribosomal, 16S/physiology; Sequence Analysis, RNA; Uterus/microbiology*; Uterus/physiology*; Vagina/microbiology*; Vagina/physiology*; Vagina/physiopathology; Vaginosis, Bacterial/microbiology*; Vaginosis, Bacterial/physiopathology; Vaginosis, Bacterial/transmission.

La búsqueda se limitó a ensayos clínicos, estudios de cohorte (prospectivos y retrospectivos) y transversales, revisiones sistemáticas y revisiones de la literatura publicados entre 2000 y agosto de 2020.

RESULTADOS

Conceptos introductorios

Existe una variedad de microbios en todo el cuerpo humano y tienen un papel fundamental en la salud humana. Los estudios han revelado que el microbioma humano de cada individuo sano difiere notablemente en lo que respecta a las diferentes variedades de microbios (2). Se estima que el número de microorganismos que coexisten en y sobre el cuerpo humano es del mismo orden de magnitud o más que el número total de células que componen el cuerpo (3). Los microorganismos que colonizan nuestro cuerpo se conocen como nuestra microbiota y, además de bacterias, incluyen virus, hongos, levaduras, arqueas y protozoos (6, 7). El contenido genético de estos microorganismos y las condiciones ambientales circundantes se conocen como microbioma (7).

La primera observación de bacterias no patógenas que habitaban el cuerpo humano fue cuando se observó *Escherichia Coli* en el intestino de niños sanos en 1885 (8). Desde entonces, se han descubierto a lo largo del siglo XX otras bacterias comensales, que son bacterias que viven en armonía con el huésped y que habitan diferentes partes del cuerpo humano, como las cavidades nasales y orales, la piel o el tracto urogenital (9). En general, el papel de estas bacterias ha sido subestimado y, habitualmente, los microbios se consideraron y se consideran una amenaza para la salud humana (10). Pero gracias a los avances en la tecnología de secuenciación, la literatura ha comenzado a destacar el papel de las bacterias comensales (la microbiota) en la fisiología normal del cuerpo humano (11). En la relación mutualista entre las comunidades microbianas y el huésped humano, el huésped proporciona los nutrientes para apoyar el crecimiento bacteriano, mientras que las comunidades microbianas brindan defensa contra patógenos, dan forma al desarrollo y maduración de nuestro sistema inmunológico, nos ayudan a digerir los alimentos, producen vitaminas y metabolizan xenobióticos (12).

El proyecto del microbioma humano

Una de las cosas que hemos aprendido con los estudios del microbioma humano es que han revelado que, incluso entre individuos sanos, hay diferencias notables en los microbios que ocupan hábitats como el intestino, la piel o la vagina (9). Gran parte de esta diversidad permanece sin explicación, aunque se piensa que están implicados la dieta, el medio ambiente, la genética del huésped y la exposición temprana a microbios (13).

Como justo realmente no se sabía que es lo que afectaba la microbiota, para caracterizar la ecología de las comunidades microbianas asociadas a los humanos, se desarrolló el Proyecto del Microbioma Humano, que analizó la cohorte más grande y el conjunto de hábitats corporales distintos y clínicamente relevantes hasta ese momento (2). Se descubrió que la diversidad y abundancia de los microbios característicos de cada hábitat varían ampliamente (2). Por tanto, con los resultados de esta iniciativa del *National Institutes of Health*, se empezó a delinear el rango de configuraciones estructurales y funcionales normales en las comunidades microbianas de una población sana, lo que ha permitido la caracterización de la epidemiología y de las aplicaciones transnacionales del microbioma humano (2).

En la actualidad, existen cinco microbiomas distintos según el sitio del cuerpo: la cavidad oral, la cavidad nasal, la piel, el tracto genitourinario y el tracto gastrointestinal (9). Además, dentro de estos lugares anatómicos, se han descrito microhábitats microbianos particulares, como por ejemplo la lengua, el carrillo y el labio en la cavidad oral, o la vagina, el útero y las salpinges en el tracto reproductivo (9). Por un lado, sabemos que el tracto gastrointestinal contiene por mucho la comunidad microbiana más densa y diversa, y por otro, que el tracto reproductivo se caracteriza por la presencia dominante de (2). Si tomamos en cuenta que ahora sabemos que hay alrededor de 3,3 millones de genes microbianos diferentes nada más en el intestino, realmente creemos que es posible que una enfermedad como la diverticulitis o las úlceras pépticas se desarrollan por la presencia de una única bacteria en particular? Con la información que tenemos ahora es difícil justificarlo. Y esta es la influencia que han tenido las técnicas de caracterización del microbioma (14).

Métodos de caracterización de la microbiota y el microbioma

Y esta revolución denominada microbiota básicamente ha sucedido gracias la manera que tenemos ahora de evaluar los microorganismos. Y en esta línea, hay disponible dos opciones, la tecnología basada en cultivo (15), que es la todos conocemos y la que inclusive practicábamos en las

clases de microbiología en la carrera de medicina, y la tecnología basada en secuenciación (14). Para poder interpretar la información de la literatura, es necesario entender cómo se obtienen y analizan las muestras metagenómicas.

Tecnología basada en cultivo

La tecnología basada en cultivo puro sigue siendo uno de los métodos más utilizados en microbiología ya que es la de menor costo (15, 16), sin embargo, tiene ciertas desventajas. La primera es que los microorganismos necesitan estar vivos para poder ser identificados (15). Segundo, los medios de cultivo se seleccionan en función del microorganismo que se quiere cultivar, por lo que si esos microorganismos no se han identificado antes, no se pueden cultivar (15). Y por último, si un microorganismo no crece en el cultivo, no se identifica y se refiere como negativo (15).

Secuenciación del gen 16s del ARN ribosomal

La amplificación y secuenciación del ARN ribosómico 16S (ARNr 16S) ha sido de gran utilidad para la asignación y clasificación taxonómica en el área de microbiología (17). Los genes que lo codifican son conocidos como genes del ARNr 16S, y se utilizan para la reconstrucción de filogenias debido a sus bajas tasas de evolución (18). Carl Woese y George E. Fox fueron los pioneros que se basaron en las variaciones del ARNr 16S para establecer filogenias (19). Este gen tiene 9 regiones denominadas V1 a V9, cuyo grado de conservación varía y que se utiliza para la taxonomía: regiones más conservadas se correlacionan con un nivel superior y las menos conservadas con niveles mas inferiores, como el género o la especie (20).

Tecnología basada en secuenciación

La introducción de técnicas independientes del cultivo, con el conocimiento anterior derivado de las técnicas clásicas dependientes del cultivo, ha revelado información sorprendente que muchas veces contradice lo que se consideraba dogma hace solo unos años. Y en este sentido, las herramientas tecnológicas utilizadas en biología molecular han permitido a los investigadores "estudiar más profundamente" el mundo del microbioma, revelando de esta manera una enorme cantidad de información que antes no conocíamos, todo gracias a la secuenciación del ADN (21).

Hay cuatro técnicas disponibles en metagenómica: *finger-printing*, microarreglos de ADN, secuenciación dirigida y secuenciación del genoma completo. Cada una aporta tanto fortalezas como debilidades, según el propósito principal del análisis. La técnica de *fingerprinting* se basa en la amplificación del 16s rRNA, y las diferentes variantes de la muestra se separan mediante electroforesis en gel (14, 22). La diferenciación entre las variantes se basa en los diferentes patrones de bandas más que en la secuenciación real del

gen. Por lo tanto, la técnica de *fingerprinting* es significativamente más barata que las técnicas basadas en secuenciación, y es útil para agrupar comunidades de bacterias de acuerdo con los cambios en las cepas dominantes en diferentes muestras (22). Sin embargo, sobre la base de los patrones de bandas de electroforesis en gel, solo se detectan los pocos microorganismos más abundantes de la comunidad y, por lo tanto, existe un rango de detección limitado (bajo rango dinámico) (23). Los microarreglos de ADN y la secuenciación dirigida son dos técnicas intermedias que se encuentran entre el *fingerprinting* y la secuenciación del genoma completo. Estas técnicas intermedias proporcionan un rango dinámico mayor que el *fingerprinting*, a un costo menor que la secuenciación del genoma completo (14). Una de las desventajas de las técnicas intermedias en comparación con la secuenciación del genoma completo es que se basan en secuencias conocidas, lo que las hace menos útiles en los casos en que dominan nuevas cepas sin parientes cercanos. Por último, la secuenciación del genoma completo es la que se realiza para descubrir la secuencia completa del ADN del genoma de un organismo (13). Por lo tanto, tiene el rango dinámico más alto, pero, como es de esperar, a un costo más alto. El otro tema es que requiere plataformas de bioinformática que organiza la información en OTUs, que son organismos cercanos en cuanto a su genética (13, 24). La principal ventaja de esta tecnología es que detecta todo el genoma, no importa si predomina o si está vivo, pero por lo mismo, estas son sus principales desventajas, ya que si queremos saber en ese momento la funcionalidad de un microorganismo, se tiene que combinar con otras técnicas (24).

El continuum de la microbiota en el tracto reproductivo

Según nuestro conocimiento actual, en las mujeres sanas no embarazadas, el microbioma vaginal está dominado por cuatro especies de : *L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii* o *L. gasseri* (25). Ravel y colaboradores buscaron en 2011 caracterizar la composición del ecosistema microbiano de la vagina (25) e identificaron cinco tipos de estados comunitarios microbianos vaginales (*community state types* (CST)); cuatro de ellos (I, II, III y V) son dominantes en y se encuentran más comúnmente en mujeres europeas y asiáticas. La CST tipo IV, más frecuente en mujeres hispanas y afroamericanas, se diferencia por la mayor abundancia de bacterias estrictamente anaeróbicas como *Gardnerella* y *Ureaplasma* y la presencia reducida de (25).

Pero en 2017, Chen y colaboradores exploraron la microbiota no nada más de la vagina sino de todo el tracto reproductivo (26). Para hacerlo, los autores recolectaron muestras

de seis sitios diferentes a lo largo del tracto reproductivo femenino de una cohorte de 95 mujeres sometidas a cirugía por patología que no involucraba infecciones: tercio inferior de la vagina, tercio superior de la vagina, moco cervical extraído del canal cervical, endometrio, trompas de Falopio izquierda y derecha, y líquido peritoneal del fondo de saco de Douglas (Figura 1). Y este estudio fue el que llegó a cambiar nuestra comprensión de la microbiota del tracto reproductivo y pudimos ver que hay una clara diferencia entre el tracto inferior y el tracto superior, con una transición a nivel de canal cervical/cavidad endometrial (26). También pudimos ver que hay una mayor diversidad en el tracto superior (más tipos diferentes de microorganismos), pero con una biomasa muy inferior (menos microorganismos en total) (26).

Coincidiendo con estudios previos (25, 27), tanto el tercio inferior como el tercio superior de la vagina están dominados por el género (Figura 1) y exhibieron una baja diversidad alfa (26). A nivel de especie, las muestras del tercio inferior y el superior de la vagina contenían *L. crispatus*, *L. iners* y otros spp. En particular, las muestras del canal cervical generalmente contenían una menor proporción de que las muestras vaginales. En las muestras de endometrio, los ya no dominaban, y bacterias como *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Vagococcus* y *Sphingobium* constituían una fracción notable de la microbiota. La proporción de estas bacterias aumentó aún más en las trompas de Falopio, dejando una abundancia relativa mediana de del 1,7 %. Las muestras del fondo de saco de Douglas generalmente carecían de la presencia de (Figura 1).

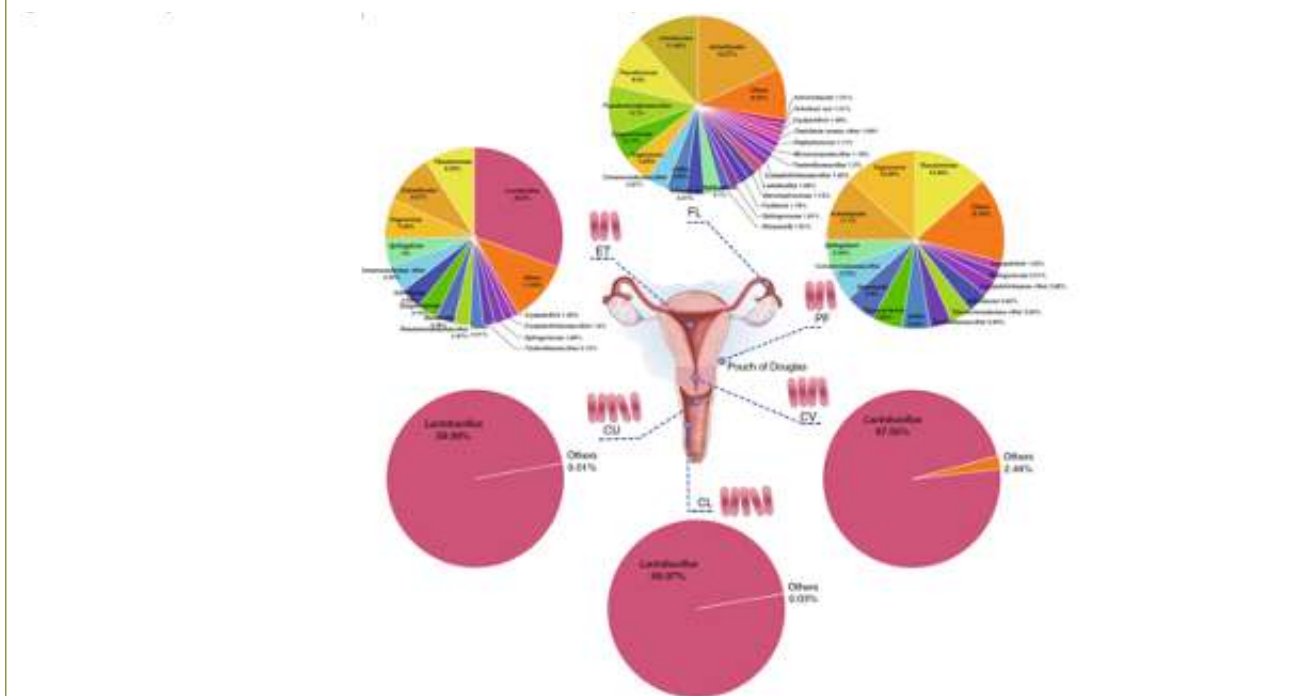
Por lo tanto, con este estudio nos empezamos a dar cuenta el gran impacto que puede llegar a tener la microbiota y su microbioma en el cuerpo humano en general, pero sobre todo en el área de la ginecología y obstetricia, es decir, que puede afectar todas las facetas de la reproducción humana, desde la gametogénesis tanto masculina como femenina, pasando por la fertilización y la migración del embrión, la implantación con implicaciones en el fracaso temprano del embarazo, el impacto en la pérdida tardía del embarazo y los resultados obstétricos adversos durante la gestación y en el parto en términos de infección intrauterina y parto prematuro (28).

Microbiota materna y resultados de embarazo

Aunque la patología inflamatoria materna se ha relacionado con múltiples resultados neonatales adversos, incluida la restricción del crecimiento y la muerte fetal, la mayoría de la investigación que involucra el microbioma en el embarazo se ha centrado en el parto prematuro. Y en esta línea, se ha propuesto que el aumento de la estabilidad del micro-

FIGURA 1

Composición de la microbiota en el tracto reproductivo femenino



bioma vaginal durante el embarazo puede desempeñar un papel protector en la prevención de la infección vaginal ascendente mediante la dominancia de (29). DiGiulio y colaboradores analizaron la composición taxonómica bacteriana de 3,767 muestras recolectadas prospectivamente una vez a la semana durante la gestación y mensualmente después del parto. Los autores identificaron cuatro tipos de comunidades dominadas por y una quinta comunidad caracterizada por una mayor diversidad (29), lo cual corresponde a lo publicado por Ravel y colaboradores (25). Interesantemente, el riesgo de parto prematuro fue más alto para aquellas pacientes en las cuales se había identificado una CST tipo 4 (la no dominada por), con predominancia particular de *Gardnerella* o *Ureaplasma* (29). Adicionalmente, los autores observaron que aquellas pacientes que fueron catalogadas con una comunidad dominada por en el primer trimestre del embarazo, se asociaron más frecuentemente a un embarazo a término (29). En resumen, esta información nos resalta la importancia de la predominancia de desde el primer trimestre del embarazo, así como durante todo el embarazo, para aumentar la probabilidad de tener un embarazo a término.

Y en base a esto, se observaron resultados muy prometedores e interesantes en un estudio por Hoyme y colaboradores

en el que se indicó a un grupo de pacientes embarazadas que se auto controlaran el pH vaginal durante el embarazo (30). En ese estudio se pautó que aquellas pacientes que tenían un pH vaginal anormal fueran tratadas ya sea con una preparación de o con crema vaginal de clindamicina. Los resultados mostraron una tasa de partos prematuros del 30,8 % en el grupo de control, es decir, en aquellas que no hicieron nada cuando el pH salía alterado, de 12,3 % cuando se pautó clindamicina y de un 8,1 % en el grupo que iniciaron con al momento de identificar un pH vaginal alterado (30). Estos datos sugieren claramente que el cribado de pacientes con un no dominio de vaginal mediante el control del pH vaginal es un método de bajo costo para identificar a las mujeres con riesgo potencial de parto prematuro, algo que podría ser práctico de aplicar en México, sobre todo en zonas de difícil acceso a un centro de salud.

Salud y enfermedad ginecológica en relación con la microbiota

Durante más de un siglo, la comunidad médica hemos aceptado que un cambio en el entorno microbiano de la vagina puede conducir a vaginitis sintomática con flujo vaginal. Los estudios de vaginosis bacteriana, dependientes del cultivo, demuestran una mayor diversidad de bacterias vagina-

les con una disminución simultánea de (31). Sin embargo, la diversidad de bacterias, tanto en estado normal como en vaginosis, puede haber sido subestimada usando técnicas de cultivo y de tinción de Gram. Con lo que sabemos ahora, ¿podemos pensar que un cultivo es suficiente para determinar la presencia anormal de bacterias? Claramente podemos pensar que algunas de las bacterias que estén causando patología no son identificadas mediante cultivo. Y, por otro lado, es evidente que el entorno microbiano de muchas mujeres que antes se pensaba que tenían "vaginosis bacteriana asintomática" es realmente lo que ahora se reconoce como un microbioma vaginal normal, según los estudios de base molecular. Así mismo, las mejoras en la detección de bacterias utilizando técnicas independientes del cultivo ahora revelan por qué algunas mujeres responden al tratamiento estándar para la vaginosis y otras mujeres parecen ser resistentes al tratamiento o propensas a vaginosis recurrente. Inclusive, podemos pensar que aquellas pacientes catalogadas como "resistentes al tratamiento" realmente no lo son, sino que simplemente estamos dando tratamiento que no es efectivo contra bacterias que muy seguramente no hemos identificado.

Si bien la depleción de y el crecimiento excesivo de patógenos son características distintivas de la vaginosis, la terapia con antibióticos reduce aún más la cantidad de (32). Se ha descrito que la administración de , además de la terapia con antibióticos, puede ayudar a restaurar la flora vaginal normal y evitar las recaídas. Petricevic y colaboradores evaluaron la eficacia de *casei rhamnosus* Lcr35 para restaurar la flora vaginal normal después del tratamiento antibiótico (33). Las mujeres con puntuaciones de Nugent entre 7 y 10 en el frotis vaginal se asignaron al azar a uno de dos grupos después de 7 días de tratamiento con antibióticos: la mitad recibieron cápsulas vaginales que contenían durante 7 días versus ningún tratamiento adicional. Aquellas pacientes que no se les agregó , el 35 % de ellas presentaron mejoría en los niveles de Nugent; en cambio, en aquellas pacientes que sí se les agregó , el 83 % de ellas mostraron una reducción de la puntuación de Nugent en al menos 5 puntos (33).

Otro ejemplo destacado de una patología causada por una microbiota endometrial alterada es la endometritis crónica (34, 35). La endometritis crónica esta caracterizada por la inflamación continua de la mucosa endometrial producida por la colonización del útero por bacterias (34). Se ha estimado que la prevalencia de endometritis crónica en la población general es del 19 % y se estima que es hasta un 45 % en pacientes con infertilidad (36, 37). Sin embargo, esta alta prevalencia parece estar asociada principalmente a fallos recurrentes de implantación y pérdida recurrente del embarazo,

más que a otras causas de infertilidad (36–38). Debido a que la endometritis crónica suele ser asintomática e indetectable mediante ultrasonido vaginal, rara vez se sospecha y se diagnóstica (39). Sin embargo, es un diagnóstico importantísimo y que diversos estudios han demostrado que el tratamiento con antibiótico de la endometritis crónica se asocia a mejores resultados reproductivos y obstétricos (37, 40–42).

A nivel de nuevas posibilidades de asociación de la microbiota con la salud ginecológica, tenemos el diagnóstico de endometriosis. A pesar de la gran cantidad de estudios, aún se desconoce el origen real de la endometriosis (43). Últimamente, los resultados de varios estudios apuntan a que la contaminación bacteriana del endometrio puede ser un nuevo factor potencial en el establecimiento de la endometriosis. Esta teoría proviene de un estudio que muestra que la sangre menstrual de mujeres con endometriosis está altamente contaminada por *Escherichia Coli* (44). Los mismos autores encontraron que los géneros patógenos como *Gardnerella*, *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus* se identificaron predominantemente en frotis endometriales de mujeres diagnosticadas con endometriosis en comparación con , que se encontró principalmente en el grupo de control (45). Además, de manera consistente, las bacterias de las familias *Streptococcaceae* y *Staphylococcaceae* aumentaron significativamente en el líquido quístico obtenido de pacientes con endometrioma en comparación con los controles (45). En conjunto, estos resultados apoyan una asociación con endometriosis. Los resultados podrían explicarse por la siembra de células endometriales ectópicas en respuesta a la dispermiasis inducida por inflamación y la contractilidad uterina alterada en pacientes con endometritis crónica.

Por último, la menopausia causa cambios en las características microanatómicas del epitelio y el microbioma vaginales que pueden resultar en síntomas de atrofia vulvovaginal o de síndrome genitourinario de la menopausia. En un estudio aleatorizado controlado, mujeres posmenopáusicas se dividieron en dos grupos: un grupo recibió cepas probióticas orales de y el otro grupo recibió un placebo. El 60 % de las pacientes en el grupo de intervención versus el 16 % en el grupo de control mostraron una reducción en la puntuación de Nugent en al menos dos puntos (46).

Relevancia de la microbiota en la infertilidad

Apenas fue en 2014 cuando empezaron a salir los primeros trabajos relacionando la microbiota con infertilidad; y no fue hasta febrero del 2016 cuando un estudio publicado por Haahr y colaboradores estudió la microbiota de 84 mujeres sometidas a FIV y encontraron una fuerte relación entre la composición de la microbiota y el embarazo (47). De las

pacientes que tenían una composición alterada, solo el 9 %, lograron un embarazo clínico. Y de las pacientes con una composición de microbiota normal, el 47 % lograron un embarazo clínico (47).

El estudio más reciente e importante en el contexto de tratamientos de reproducción asistida fue realizado por Moreno y colaboradores (48), en donde tomaron muestras de líquido endometrial y de aspirado vaginales de un total de 35 mujeres y 96 muestras y, utilizando secuenciación de la región variable V3-V5 del genoma bacteriano, demostraron, primero, que el endometrio alberga microbios, algo que en 2016 todavía nos sorprendía. Este estudio buscó probar la existencia de una microbiota endometrial diferente a la de la vagina, evaluar su regulación hormonal y analizar el impacto de la comunidad microbiana endometrial en el resultado reproductivo en pacientes infértiles sometidas a FIV. Los autores describieron que la microbiota endometrial estaba compuesta por múltiples bacterias, con *Lactobacillus* las bacterias más abundantes. Cuando los autores asociaron esto a los resultados de los tratamientos, los resultados del estudio muestran que el perfil de la microbiota endometrial se puede clasificar como dominado por *Lactobacillus* o no dominado por *Lactobacillus*, con un valor de corte de abundancia relativa de $>90\%$ (48). Es bien importante entender que este límite sirvió como una variable significativa capaz de predecir el éxito reproductivo. En su estudio, los autores observaron que la posibilidad de nacido vivo paso del 60 % de las pacientes al 6 % de las pacientes cuando la muestra no estaba dominada por *Lactobacillus*. Por lo tanto, una microbiota endometrial no dominada por *Lactobacillus*

correlaciona significativamente con resultados reproductivos adversos, medidos como tasas de implantación, tasa de embarazo, tasa de embarazo en curso y tasa aborto espontáneo, en comparación con sujetos que presentan una microbiota endometrial dominada por *Lactobacillus* ($>90\%$).

DISCUSION

La evaluación del microbioma humano está ganando cada vez más atención y cada vez se dedican más recursos a la investigación básica y trasnacional en este campo. Estos esfuerzos se han ido trasladando con éxito a la clínica, y ahora se reconoce que el estudio y el tratamiento de la microbiota es una forma común de mejorar la salud y el bienestar del cuerpo humano. Pero aparte de una simple lista de microbios que habitan un área determinada, el principal interés científico ahora se centra en estudiar la funcionalidad de las comunidades microbianas y los mecanismos por los que contribuyen a la salud o la enfermedad.

A la fecha está ampliamente aceptado que el tracto reproductivo femenino "sano" está colonizado principalmente por *Lactobacillus*, y que, los cambios patológicos o disbióticos, pueden provocar enfermedades (Figura 2). El trabajo en el campo de la ginecología que muestra alteraciones del microbioma debido a la fluctuación de los niveles de estrógenos tiene implicaciones en diversas patologías como lo es la vaginosis (33), la endometritis crónica (34), la endometriosis (45) o la menopausia (46). Pero sería interesante entender si una microbiota alterada de la salpinge podría estar relacionada

FIGURA 2

Facetas de la mujer que se pueden optimizar con la administración de lactobacilos



con la implantación ectópica de un embrión; o si la microbiota alterada del endometrio impacta en la aparición de adherencias uterinas.

Por otro lado, la disbiosis en obstetricia se ha relacionado con estados inflamatorios que pueden resultar en un parto prematuro espontáneo (49), entre otros resultados obstétricos adversos. El campo de la metagenómica ha revelado que la placenta posee un microbioma rico y diverso incluso en embarazos saludables (50). Esto es de gran interés porque, similar al proceso de implantación e invasión de un blastocisto, el sistema inmunológico grávido debe lograr un equilibrio entre el rechazo del tejido de la placenta y el feto, mientras que al mismo tiempo proporciona al huésped una defensa contra la infección.

Por último, por la misma razón que la microbiota y su microbioma puede tener impacto en la implantación y placenta temprana (51), la determinación de qué es un microbioma del tracto reproductivo favorable proporcionará información sobre los mecanismos de la reproducción humana, tanto satisfactoria como no exitosa. Para aumentar las posibilidades de embarazo con nacidos vivos y reducir los costos de salud relacionados con la reproducción, la investigación futura podría centrarse en posponer el tratamiento o el embarazo en caso de presencia de microbiota desfavorable y en el desarrollo de intervenciones terapéuticas, como terapias microbianas y adaptaciones del estilo de vida.

CONCLUSIONES

Hasta ahora, el estudio de la microbiota y su microbioma se había enfocado en patología más que en fisiología, pero gracias a las nuevas tecnologías, estamos empezando a entender más la influencia que tiene en el tracto reproductivo. Lo que si es que ahora sabemos con las nuevas tecnologías de diagnóstico que el tracto reproductivo no es estéril. También sabemos que el microbioma normal del tracto reproductivo está dominado por *Lactobacilos* y que la disminución en la predominancia de *Lactobacilos* predispone a patología. Y dicha patología afecta no solo las posibilidades de lograr un embarazo, sino también el estado de salud de la madre y el niño antes y después del parto. Además, que hay situaciones en cada una de las facetas de la mujer que se pueden optimizar con la administración de *Lactobacilos*, como lo es ante la amenaza de un parto prematuro, ante el riesgo de una corioamnionitis o de aborto. Pero también como ayuda preconcepcional o ante una infección vaginal, una inflamación endometrial y en la menopausia. Por último, la evidencia también demuestra que aquellas pacientes pasando por problemas de fertilidad también se benefician.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Ansbacher R, Boyson WA, Morris JA.** Sterility of the uterine cavity. *Am J Obstet Gynecol.* 1967;99:394–396.
2. **The NIH HMP Working Group, Peterson J, Garges S, et al.** The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.* 2009;19:2317–2323.
3. **Sender R, Fuchs S, Milo R.** Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biol.* 2016;14:e1002533.
4. **Wykticky H, Skopec M, Ignaz Philipp Semmelweis,** The Prophet of Bacteriology. *Infect Control.* 1983;4:367–370.
5. **Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al.** The Sequence of the Human Genome. *Science.* 2001;291:1304–1351.
6. **Tomaiuolo R, Veneruso I, Cariati F, et al.** Microbiota and Human Reproduction: The Case of Female Infertility. *High-Throughput.* 2020;9:12.
7. **Marchesi JR, Ravel J.** The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome.* 2015;3:31, s40168-015-0094–0095.
8. **Tenaillon O, Skurnik D, Picard B, et al.** The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8:207–217.
9. **Kumar A, Chordia N.** Role of Microbes in Human Health. *Appl Microbiol Open Access* [Internet]. 2017 [cited 2020 Sep 1];03. Available from: <https://www.omicsonline.org/open-access/role-of-microbes-in-human-health-2471-9315-1000131.php?aid=88460>.
10. **Casanova J-L, Abel L.** The Genetic Theory of Infectious Diseases: A Brief History and Selected Illustrations. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2013;14:215–243.
11. **Giudice LC.** Challenging dogma: the endometrium has a microbiome with functional consequences! *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215:682–683.
12. **Puebla-Barragan S, Reid G.** Thirty-year evolution of probiotic therapy. *Microb Cell.* 2019;6:184–196.
13. **Land M, Hauser L, Jun S-R, et al.** Insights from 20 years of bacterial genome sequencing. *Funct Integr Genomics.* 2015;15:141–161.
14. **Mor A, Driggers PH, Segars JH.** Molecular characterization of the human microbiome from a reproductive perspective. *Fertil Steril.* 2015;104:1344–1350.
15. **Lagier J-C, Edouard S, Pagnier I, et al.** Current and Past Strategies for Bacterial Culture in Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28:208–236.
16. **Austin B.** The value of cultures to modern microbiology. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2017;110:1247–1256.
17. **Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, et al.** 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J Bacteriol.* 1991;173:697–703.
18. **Liu Z, DeSantis TZ, Andersen GL, et al.** Accurate taxonomy assignments from 16S rRNA sequences produced by highly parallel pyrosequencers. *Nucleic Acids Res.* 2008;36:e120–e120.
19. **Woese CR, Fox GE.** Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proc Natl Acad Sci.* 1977;74:5088–5090.
20. **Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM, et al.** Naïve Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73:5261–5267.
21. **International Human Genome Sequencing Consortium.** Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001;409:860–921.
22. **Muyzer G.** DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. *Curr Opin Microbiol.* 1999;2:317–322.
23. **Fromin N, Hamelin J, Tarnawski S, et al.** Statistical analysis of denaturing gel electrophoresis (DGE) fingerprinting patterns: Use of statistics for the interpretation of DGE patterns. *Environ Microbiol.* 2002;4:634–643.
24. **Liu L, Li Y, Li S, et al.** Comparison of Next-Generation Sequencing Systems. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:1–11.
25. **Ravel J, Gajer P, Abdo Z, et al.** Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci.* 2011;108:4680–4687.

26. **Chen C, Song X, Wei W, et al.** The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun.* 2017;8:875.
27. **Gajer P, Brotman RM, Bai G, et al.** Temporal Dynamics of the Human Vaginal Microbiota. *Sci Transl Med.* 2012;4:132ra52-132ra52.
28. **Moreno I, Simon C.** Deciphering the effect of reproductive tract microbiota on human reproduction. *Reprod Med Biol.* 2019;18:40–50.
29. **DiGiulio DB, Callahan BJ, McMurdie PJ, et al.** Temporal and spatial variation of the human microbiota during pregnancy. *Proc Natl Acad Sci.* 2015;112:11060–11065.
30. **Hoyme UB, Saling E.** Efficient prematurity prevention is possible by pH-self measurement and immediate therapy of threatening ascending infection. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004;115:148–153.
31. **Green KA, Zarek SM, Catherino WH.** Gynecologic health and disease in relation to the microbiome of the female reproductive tract. *Fertil Steril.* 2015;104:1351–1357.
32. **Hillier SL.** Diagnostic microbiology of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;169:455–459.
33. **Petricevic L, Witt A.** The role of *Lactobacillus casei rhamnosus* Lcr35 in restoring the normal vaginal flora after antibiotic treatment of bacterial vaginosis. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* 2008;115:1369–1374.
34. **Kitaya K, Takeuchi T, Mizuta S, et al.** Endometritis: new time, new concepts. *Fertil Steril.* 2018;110:344–350.
35. **Franasiak JM, Scott RT.** Endometrial microbiome: *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2017;29:146–152.
36. **Kitaya K, Nagai Y, Arai W, et al.** Characterization of Microbiota in Endometrial Fluid and Vaginal Secretions in Infertile Women with Repeated Implantation Failure. *Mediators Inflamm.* 2019;2019:1–10.
37. **Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, et al.** Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum Reprod.* 2015;30:323–330.
38. **Moreno I, Franasiak JM.** Endometrial microbiota—new player in town. *Fertil Steril.* 2017;108:32–39.
39. **Cicinelli E, De Ziegler D, Nicoletti R, et al.** Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. *Fertil Steril.* 2008;89:677–684.
40. **Kitaya K, Matsubayashi H, Takaya Y, et al.** Live birth rate following oral antibiotic treatment for chronic endometritis in infertile women with repeated implantation failure. *Am J Reprod Immunol.* 2017;78:e12719.
41. **McQueen DB, Perfetto CO, Hazard FK, et al.** Pregnancy outcomes in women with chronic endometritis and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2015;104:927–931.
42. **Cicinelli E, Matteo M, Trojano G, et al.** Chronic endometritis in patients with unexplained infertility: Prevalence and effects of antibiotic treatment on spontaneous conception. *Am J Reprod Immunol.* 2018;79:e12782.
43. **[Nezhat C, Nezhat F, Nezhat C.** Endometriosis: ancient disease, ancient treatments. *Fertil Steril.* 2012;98:S1–S62.
44. **Khan KN, Kitajima M, Hiraki K, et al.** *Escherichia coli* contamination of menstrual blood and effect of bacterial endotoxin on endometriosis. *Fertil Steril.* 2010;94:2860–2863.e3.
45. **Khan KN, Fujishita A, Kitajima M, et al.** Intra-uterine microbial colonization and occurrence of endometritis in women with endometriosis†. *Hum Reprod.* 2014;29:2446–2456.
46. **Petricevic L, Unger FM, Viernstein H, et al.** Randomized, double-blind, placebo-controlled study of oral lactobacilli to improve the vaginal flora of postmenopausal women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008;141:54–57.
47. **Haahr T, Jensen JS, Thomsen L, et al.** Abnormal vaginal microbiota may be associated with poor reproductive outcomes: a prospective study in IVF patients. *Hum Reprod.* 2016;31:795–803.
48. **Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, et al.** Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215:684–703.
49. **Petricevic L, Domig KJ, Nierscher FJ, et al.** Characterisation of the vaginal *Lactobacillus* microbiota associated with preterm delivery. *Sci Rep.* 2015;4:5136.
50. **Aagaard K, Ma J, Antony KM, et al.** The Placenta Harbors a Unique Microbiome. *Sci Transl Med.* 2014;6:237ra65-237ra65.
51. **Koedooder R, Mackens S, Budding A, et al.** Identification and evaluation of the microbiome in the female and male reproductive tracts. *Hum Reprod Update.* 2019;25:298–325.

ID ORCID del autor principal: orcid.org/0000-0001-5432-0884

Conflicto de interés

Los autores no reportan conflictos de interés

Contribuciones de los autores

J.R.-P. conceptualizó la revisión. J.R.-P., M.A.dM. y R.V.-A. buscaron artículos seleccionados y realizaron extracción y análisis de datos. J.R.-P. tomó la iniciativa al escribir la reseña. R.V.-A. y E.C.-B. revisaron varias versiones preliminares del artículo. Los cuatro autores leyeron y aprobaron la presentación de la versión final del manuscrito.