



Ensayo piloto del uso de pruebas moleculares para el diagnóstico de infecciones cervicovaginales en pacientes embarazadas

Beltrán-Montoya J,¹ Escudero-Gontes S,² Martínez-Huerta NE², Ávila-Vergara MA,³ Morales-Hernández V,¹ Canchola-Sotelo C,⁴ Palacios-González B,² Vadillo-Ortega F²

Resumen

ANTECEDENTES: las infecciones cervicovaginales durante el embarazo se han relacionado con desenlaces perinatales adversos, como el nacimiento pretérmino. Las herramientas tradicionales para su diagnóstico son poco eficaces.

OBJETIVO: comparar la determinación del diagnóstico de infección cervicovaginal en mujeres embarazadas con el uso simultáneo de tres criterios: clínico, prueba de diagnóstico molecular y el cultivo microbiológico tradicional.

MATERIAL Y MÉTODO: estudio piloto, transversal, anidado en una cohorte de mujeres embarazadas. El diagnóstico de infección cervicovaginal se estableció con base en criterios clínicos, de microbiología clásica y de biología molecular y se evaluó la capacidad diagnóstica de cada uno.

RESULTADOS: se estudiaron 54 mujeres y la prevalencia de infecciones cervicovaginales durante el embarazo se estimó en 28 a 50% con la aplicación de diferentes criterios. Si se considera el diagnóstico de parto pretérmino, como complicación asociada a infección y se usa como patrón de referencia, todas las pruebas diagnósticas tuvieron un desempeño pobre.

CONCLUSIONES: los enfoques tradicionales para establecer la trascendencia de la infección cervicovaginal en el embarazo están agotados, por eso deben buscarse nuevos caminos para entender esta compleja relación. Mientras tanto, se recomienda seguir utilizando los métodos tradicionales para identificar infecciones durante el embarazo en tanto se afina el conocimiento de nuevos métodos dirigidos a entender estas relaciones.

PALABRAS CLAVE: infección cervicovaginal, desenlace perinatal, embarazo, microbioma vaginal, pruebas diagnósticas.

¹ Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, Ciudad de México.

² Unidad de Vinculación de la Facultad de Medicina, UNAM, en el Instituto Nacional de Medicina Genómica, Ciudad de México.

³ Departamento de Ginecología y Obstetricia, Hospital General Regional 1, Instituto Mexicano del Seguro Social, Culiacán, Sinaloa, México.

⁴ Hospital Materno Infantil Inguarán, Secretaría de Salud del Gobierno de la Ciudad de México.

Recibido: febrero 2016

Aceptado: junio 2016

Correspondencia

Dr. Felipe Vadillo Ortega
felipe.vadillo@gmail.com

Este artículo debe citarse como

Beltrán-Montoya J, Escudero-Gontes S, Martínez-Huerta NE, Ávila-Vergara MA, Morales-Hernández V, Canchola-Sotelo C, Palacios-González B, Vadillo-Ortega F. Ensayo piloto del uso de pruebas moleculares para el diagnóstico de infecciones cervicovaginales en pacientes embarazadas. Ginecol Obstet Mex. 2016 agosto;84(8):475-483.

Ginecol Obstet Mex. 2016 Aug;84(8):475-483.

Pilot tests using molecular diagnostic assay cervicovaginal infection during pregnancy

Beltrán-Montoya J,¹ Escudero-Gontes S,² Martínez-Huerta NE², Ávila-Vergara MA,³ Morales-Hernández V,¹ Canchola-Sotelo C,⁴ Palacios-González B,² Vadillo-Ortega F²

Abstract

BACKGROUND: The prevalence of cervicovaginal infections during pregnancy has been associated with adverse perinatal outcomes however, the actual approach used for diagnosis is not effective. The aim of this study was to compare the diagnosis of vaginal infections in pregnant women using clinical, molecular diagnostic and traditional microbiological culture in a pilot study, to determine the prevalence and association with the development of preterm labor.

MATERIALS AND METHODS: We performed a nested cross-sectional study composed by 54 women in a cohort of pregnant women in Mexico City. Cervicovaginal infections were evaluated by clinical methods, microbiology culture and a commercially available molecular biology test.

RESULTS: Prevalence of cervicovaginal infections during pregnancy was estimated between 28% and 50% according to methodologies. Considering the clinical diagnosis of preterm labor as the gold standard, all diagnostic tests were poor as predictors of preterm labor.

CONCLUSIONS: Traditional approaches to establish the significance of cervicovaginal infection in pregnancy are exhausted, so be sought new ways to understand this complex relationship. Meanwhile it is recommended to continue to use traditional methods to identify infections during pregnancy in both knowledge of new methods aimed at understanding these relationships are sophisticated.

KEY WORDS: Vaginal infection, perinatal outcome, pregnancy, vaginal microbiome, diagnostic tests.

¹ Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, Ciudad de México.

² Unidad de Vinculación de la Facultad de Medicina, UNAM, en el Instituto Nacional de Medicina Genómica, Ciudad de México.

³ Departamento de Ginecología y Obstetricia, Hospital General Regional 1, Instituto Mexicano del Seguro Social, Culiacán, Sinaloa, México.

⁴ Hospital Materno Infantil Inguarán, Secretaría de Salud del Gobierno de la Ciudad de México.

Correspondence

Dr. Felipe Vadillo Ortega
felipe.vadillo@gmail.com

ANTECEDENTES

Las infecciones cervicovaginales e intrauterinas durante el embarazo se han vinculado con diferentes desenlaces perinatales adversos, como el nacimiento pretérmino, en los que la consis-

tencia y fuerza de la asociación, así como la plausibilidad biológica, han llevado a proponer una relación directa causa-efecto.^{1,2} A pesar de esto, no ha sido posible idear medidas efectivas para disminuir las complicaciones del embarazo que acompañan a estas infecciones.³



El enfoque tradicional propone que existen diferentes microorganismos patógenos que pueden afectar a la mujer embarazada, al feto en desarrollo y al neonato.⁴ Estos microorganismos pueden tener acceso a la cavidad amniótica y al feto a través del cuello uterino, por vía ascendente desde la vagina, lo que induce una respuesta infecciosa denominada corioamnioitis. El arribo de estos gérmenes al espacio intrauterino resulta en la activación de la respuesta inflamatoria local, que podría explicar las diferentes complicaciones del embarazo: amenaza de aborto, ruptura prematura de membranas y parto pretérmino.^{4,5}

El nacimiento pretérmino es el alumbramiento antes de las 37 semanas (259 días) completas de edad gestacional,⁶ con repercusión significativa en la salud pública porque la morbilidad materna y perinatal son frecuentes y de complejidad variable.^{7,8}

Entre los microorganismos asociados con corioamnioitis y nacimiento pretérmino resaltan *M. hominis*, *U. urealyticum*, *C. trachomatis*, *G. gonorrhoeae*, estreptococo del grupo B y *Gardnerella vaginalis*.^{4,9,10} El diagnóstico de infección por alguno de estos microorganismos establecido mediante la microbiología clásica es complejo porque son extremadamente difíciles de cultivar, por los requerimientos nutricionales para su multiplicación, y por su marcada sensibilidad a cambios de pH, temperatura, presión osmótica, rayos ultravioleta, agentes tensoactivos, anticuerpos y complemento.¹¹ Los métodos serológicos para detectar anticuerpos contra estos microorganismos también son de escasa utilidad y no están estandarizados de manera confiable en todos los laboratorios microbiológicos. Por esta razón, las técnicas moleculares se han propuesto como una alternativa para identificar a estos patógenos.¹²

En los últimos años se han desarrollado y comercializado técnicas rápidas de diagnóstico

molecular, con uso de métodos de PCR disponibles en México.¹³ Por desgracia, no se cuenta con experiencia en la aplicación de estas técnicas y no se ha validado su utilidad clínica en nuestra población.

Este estudio tiene como objetivo comparar el diagnóstico de infección cervicovaginal en una muestra piloto de mujeres embarazadas de la Ciudad de México con el uso simultáneo de criterios clínicos, una prueba de diagnóstico molecular y cultivo microbiológico tradicional. La intención es contar con información preliminar para poder estimar el tamaño de muestra de un estudio clínico adecuado para abordar la efectividad diagnóstica de estas pruebas.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio piloto de casos y controles efectuado en el Hospital Materno Infantil Inguarán de la Secretaría de Salud de la Ciudad de México (HMII), con pacientes de la Cohorte Perinatal de la Ciudad de México, una iniciativa conjunta de la Secretaría de Salud del Gobierno de la Ciudad de México y de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Protocolo clínico. Las muestras de las mujeres se seleccionaron al azar del banco de muestras de la cohorte con base en los siguientes criterios:

1. Mujeres con seguimiento completo dentro de la Cohorte Perinatal y que terminaron su embarazo en la institución. Se seleccionaron cinco casos que terminaron con nacimiento pretérmino y se incluyeron 49 casos con embarazo a término sin complicaciones. Con esta proporción de casos-contróles se emuló, en este ensayo piloto, la prevalencia poblacional de nacimiento pretérmino (9.2%). Solo se utilizó una muestra de exudado cervicovaginal de

cada paciente, tomada entre las semanas 28 y 30 de la gestación.

2. Aceptación con consentimiento firmado para la realización de todas las pruebas diagnósticas mencionadas.
3. Sin antecedentes de padecimientos del embarazo: diabetes gestacional, ruptura prematura de membranas, amenaza de aborto o de parto pretérmino, y sangrado transvaginal.

El criterio de exclusión fue:

1. Mujeres en quienes no se recolectó una muestra suficiente para su procesamiento en todas las pruebas.

Las infecciones cervicovaginales se documentaron de las siguientes formas:

Diagnóstico clínico de infección cervicovaginal.

El médico especialista interrogó a las pacientes acerca de los síntomas de: ardor, dispareunia, prurito y flujo. Además, efectuó la exploración pélvica y especuloscopia completa. Se utilizó un espejo vaginal lubricado, con solución salina para visualizar el fondo de saco. Se evaluó el flujo y sus características y cambios tróficos en el cérvix y la vagina. Se consideró infección positiva al flujo anormal acompañado de alguna otra manifestación clínica.

Cultivo microbiológico. Se hizo una toma rotatoria durante 10 segundos con hisopos de dacrón, estériles, del fondo de saco, que se utilizaron para cultivo microbiológico y pruebas moleculares. A todas las pacientes se les realizó un examen en fresco para identificación de *T. vaginalis*. La infección cérvico-vaginal se identificó mediante métodos convencionales para cultivo e identificación de los microorganismos. Se realizaron pruebas inmunológicas para la identificación de *C. trachomatis*, *U. urealyticum*

y *M. hominis*. El Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNAM fue el responsable de efectuar todas las pruebas mencionadas. Se consideró infección cuando se identificó cualquier microorganismo patógeno.

Prueba molecular. Se utilizó la prueba molecular ST7 de Seegene, que se realizó de manera ciega, e independiente a los otros criterios diagnósticos. Ésta, es la única prueba diagnóstica molecular para infecciones cervicovaginales disponible en el mercado. Este ensayo identifica a siete patógenos: *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomona vaginalis* y *Mycoplasma genitalium*.

El estudio se consideró positivo cuando se identificó cualquiera de los microorganismos mencionados.

Análisis estadístico. Todos los resultados de infección por cualquiera de los métodos se clasificaron como positivos o negativos y tabulados en tablas de contingencia. Como patrón de referencia se consideró el criterio de desenlace desfavorable del embarazo (parto pretérmino) y las diferencias se calcularon en proporciones y su significación. Además, se calcularon: sensibilidad, especificidad, valor pronóstico positivo, valor pronóstico negativo, razón de probabilidades (*likelihood ratio* +) de los tres métodos diagnósticos utilizados.

El cálculo del tamaño de la muestra, derivado de este estudio piloto, se realizó tomando en cuenta la diferencia de proporciones menos amplia de las detectadas en las diferentes pruebas, con alfa de 0.05 y poder de 0.8.

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se muestran las características clínicas de las 54 pacientes seleccionadas para

**Cuadro 1.** Características clínicas

	Nacimiento a término	Nacimiento pretérmino
Edad	25 ± 6	24 ± 6
Edad gestacional	39 ± 1	36 ± 1
Embarazos	2 ± 1	2 ± 1
Abortos	0	0
Partos	0	1 ± 0
Cesáreas	0	2 ± 1

este estudio y en las que se estableció el diagnóstico de infección con las tres herramientas propuestas.

La evaluación clínica identificó a 15 pacientes (27.7%) con diagnóstico de infección cervicovaginal y a 35 sin ella. Las pruebas microbiológicas detectaron infección en 19 pacientes (35.1%) y ausencia en 36. Los microorganismos encontrados fueron: *Gardnerella vaginalis* (9 aislamientos), *Candida albicans* (8 aislamientos), *Mobiluncus* sp (3 aislamientos), *Candida krusei* (2 aislamientos), *Staphylococcus sciuri* (1 aislamiento), *Trichomona vaginalis* (1 identificación) y en 5 pacientes se realizaron aislamientos múltiples.

La prueba molecular S7 de Seegene detectó a 27 pacientes con infección (49.0%) y 27 sin ella. Los microorganismos identificados fueron *Mycoplasma hominis* (n=12), *Ureaplasma urealyticum* (n=11), *Chlamydia trachomatis* (n=8), *Neisseria gonorrhoeae* (n=1), *Trichomona vaginalis* (n=1) y en 6 pacientes se efectuaron identificaciones múltiples.

Los diagnósticos clínico y microbiológico clásico identificaron a una sola paciente con infección, entre las cinco que tuvieron parto pretérmino. La prueba molecular identificó la infección (*M. hominis*) en dos de las pacientes con parto pretérmino. Una sola paciente con nacimiento

pretérmino resultó positiva en las tres pruebas de infección aplicadas (Cuadro 2).

Se decidió utilizar al desenlace perinatal adverso como la variable que mejor representa el sentido de utilidad de las pruebas diagnósticas de infección; por ello, los cálculos se efectuaron con esta variable, como el patrón de referencia. En el Cuadro 3 se muestran los cálculos comparativos de utilidad diagnóstica de las tres pruebas diagnósticas de infección, que resultaron positivas con la misma frecuencia entre las pacientes con parto pretérmino (20.0%); es decir, tuvieron la misma sensibilidad baja. El diagnóstico clínico de ausencia de infección mostró la mejor especificidad (71.4%). El valor de razón de probabilidad positivo (*likelihood ratio* +) es extremadamente bajo para las tres pruebas, aunque por razones inherentes a su naturaleza piloto, ninguno de los resultados arrojó diferencias con significación estadística (Cuadro 3).

Para calcular el tamaño de muestra para el diseño de un estudio representativo de la población se tomó en cuenta la diferencia más cerrada en proporciones, que correspondió a la prueba de diagnóstico por microbiología clásica y, con esta diferencia, el tamaño de muestra para un diseño válido sería de 2,205 pacientes por grupo.

DISCUSIÓN

Desde la perspectiva hasta ahora utilizada en la atención de la mujer embarazada, ciertas infecciones durante el embarazo, causadas por microorganismos específicos, se han asociado con incremento del riesgo de aborto espontáneo, ruptura prematura de membranas, parto pretérmino e infecciones neonatales. Por esta razón siempre se incluye en la atención prenatal la búsqueda de infecciones cervicovaginales. A pesar de este enfoque hemos sido incapaces de modificar la prevalencia de cualquiera de las patologías señaladas, aun cuando se han

Cuadro 2. Resultados del diagnóstico de infección cervicovaginal

	Diagnóstico clínico		Diagnóstico microbiológico		Diagnóstico molecular	
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
Nacimientos a término	35	14	32	17	24	25
Nacimientos pretérmino	4	1	4	1	3	2

Cuadro 3. Evaluación de la utilidad diagnóstica

	Diagnóstico clínico	Diagnóstico microbiológico	Diagnóstico molecular
Sensibilidad	20	20	40
Especificidad	71.4	65.3	49.0
Valor predictivo +	6.7	5.6	7.4
Valor predictivo -	89.7	88.9	88.9
Razón de probabilidad (+)	0.7	0.58	0.78
OR (Odds ratio)	0.625	0.470	0.640
IC 95%	0.064-6.09	0.048-4.55	0.098-4.17
<i>p</i>	0.351	0.245	0.347

utilizado esquemas de antibióticos profilácticos durante el embarazo. En un estudio efectuado en población mexicana se pudo documentar que el riesgo relativo de nacimiento pretérmino cuando se identifica *U. urealyticum* es de 9.1 (IC 95%: 6.9-12.1) y cuando se identifica *M. hominis* es de 8.82 (IC 95%: 6.7-11.6). Lo más sobresaliente de este estudio es que a pesar de identificar y atacar a los microorganismos mencionados, el riesgo perinatal se modifica muy poco, lo que significa que nuestro acceso al problema ha sido muy simplista.^{8,9}

Con el propósito de explorar la aplicación de nuevas tecnologías que permitan mejorar la identificación de microorganismos potencialmente peligrosos para el embarazo, se ha propuesto el uso de herramientas moleculares, que tienen la

ventaja de su sensibilidad, rapidez y comodidad de aplicación. Por esta razón abordamos, en un estudio preliminar, la evaluación de la utilidad práctica de una de estas tecnologías, de manera comparativa con las dos herramientas diagnósticas disponibles en la práctica clínica cotidiana.

El enfoque de este estudio fue lo más pragmático posible y se siguió la línea de pensamiento más directa de un clínico que debe atender a una embarazada en quien identifica una infección cervicovaginal y se plantea la posibilidad de que esa infección sea un marcador pronóstico de parto pretérmino. Esta relación causal entre infección y parto pretérmino está muy diseminada entre los especialistas; sin embargo, ha sido cuestionada desde diferentes perspectivas.

Este proyecto piloto se emprendió para calcular el tamaño de muestra requerido para diseñar un estudio prospectivo y evaluar la utilidad pronóstica de la detección de infecciones durante el embarazo. Los resultados obtenidos en este estudio son lo suficientemente claros como para descartar la posibilidad de realizar un estudio de mayor alcance con resultados representativos. Una muestra de más de 2,000 pacientes por grupo descarta este camino.

La prevalencia actual de las infecciones cervicovaginales sería muy distinta si se aplicaran las diferentes herramientas diagnósticas y la habilidad clínica; la herramienta molecular permite identificar mayor cantidad de casos de embarazadas infectadas; por lo tanto, también facilita que sean tratadas y con ello disminuir



las consecuencias adversas que origina la falta de tratamiento. La prevalencia aquí reportada no es muy diferente de la consignada en otros estudios, aun así debe revisarse la utilidad clínica de cada prueba. Con los resultados de este estudio puede concluirse que las tres herramientas para diagnóstico de infección cervicovaginal son equivalentes y se correlacionan escasamente con el desenlace de parto pretérmino. Es decir, ninguno de los tres métodos tiene valor práctico como herramienta pronóstica de parto pretérmino. El ensayo aquí reportado tiene la limitante de ser un estudio piloto con un sesgo metodológico inherente.

El diagnóstico clínico de infección es el método más sencillo y económico, pero requiere que el especialista esté adecuadamente adiestrado en el reconocimiento de los signos y síntomas clínicos propios de la infección. En este sentido deben hacerse esfuerzos para conocer la reproducibilidad del método clínico en los diferentes ámbitos clínicos y, aunque no sea una buena herramienta para el pronóstico de parto pretérmino, la identificación de infecciones cervicovaginales durante el embarazo es un componente indispensable del cuidado prenatal.

La microbiología clásica sigue siendo la herramienta más utilizada en la clínica, aunque plantea muchas dificultades técnicas y gran variabilidad en los resultados de un laboratorio a otro o, incluso, en diferentes momentos del mismo laboratorio. En nuestras manos y como herramienta pronóstica de parto pretérmino, no confiere ventajas sobre el diagnóstico clínico y, por añadidura, los exámenes realizados no pudieron identificar la coexistencia de tres gémenes potencialmente peligrosos para el embarazo, quizá por la concomitancia de errores metodológicos.

El diagnóstico molecular identifica a mayor número de mujeres positivas para infección; sin

embargo, no informa cuántas de esas mujeres tienen, en realidad, infección activa y no solo colonización. La ventaja de esta prueba es su rapidez y reproducibilidad en condiciones estandarizadas en un laboratorio.

La ausencia de asociación entre infecciones cervicovaginales y parto pretérmino de este estudio, coincide con otros ensayos disponibles. Esta observación contrasta con la clara consistencia de la infección como agente causal del parto pretérmino. Una interpretación posible de los hallazgos es que el enfoque aquí expuesto del problema es incompleto. Por esta razón, se prefirió proponer en este punto de desarrollo una hipótesis de trabajo novedosa que permita entender mejor la repercusión de la infección en el curso del embarazo.

El microbioma vaginal es un término que ha sustituido al concepto antiguo de "flora vaginal", que en español alude a un conjunto de vegetales. Además de la semántica, la introducción del concepto de microbioma permite visualizar de una manera diferente la interacción entre los diferentes microorganismos y el ser humano.¹⁴ La perspectiva más interesante de este enfoque es que el resultado adverso de una infección podría entenderse más que por la sola presencia de un patógeno, por el resultado en el cambio de las relaciones entre las comunidades microbianas y en la interacción con la huésped. Dicho de otra manera, el resultado patológico puede, más bien, responder a la relación (simbiosis o disbiosis) que guardan entre las diferentes especies microbianas.¹⁵ Este es un enfoque que va más allá del concepto tradicional de patógenos facultativos, como el caso de la *C. albicans*.

La complejidad de este enfoque reside en que tendremos que resolver la composición longitudinal de la microbiota vaginal de nuestra población de mujeres embarazadas y, eventualmente, identificar los cambios asociados

con desenlaces perinatales adversos. Para poder conocer la composición de la microbiota vaginal a lo largo del embarazo puede recurrirse al secuenciamiento masivo del ARN 16s bacteriano, que permite conocer la composición en riqueza (diversidad α) y diversidad (diversidad β) de los microorganismos.^{14,16} Esto con la finalidad de entender la “simbiosis o disbiosis” que puede ocurrir en la microbiota vaginal en el transcurso del embarazo. El resultado adverso de una infección puede estar dado por el cambio de las relaciones entre las comunidades microbianas y su consecuente cambio en la interacción con el huésped. En este sentido existen estudios en mujeres embarazadas de otras poblaciones que muestran que durante el primer trimestre 77% de las mujeres tienen una proporción alta de *Lactobacillus*, y si durante el primer trimestre se encontraba en mayor proporción *L. gasseri* o *L. inners* la posibilidad de tener una microbiota “anormal” durante el segundo y tercer trimestres de embarazo se incrementa alrededor de 10 veces; sin embargo, cuando en el primer trimestre se encontraba en mayor proporción *L. crispatus* la posibilidad de una microbiota anormal era sólo de 5 veces.¹⁷ Un estudio reciente, efectuado en mujeres embarazadas sanas no hispanas mostró, mediante secuenciamiento masivo de las regiones hipervariables V3-V5, que la diversidad y la riqueza bacteriana se ven disminuidas durante el embarazo.¹⁸ A diferencia de la prueba molecular realizada en este estudio, el secuenciamiento masivo permite la detección de todas las especies de la muestra.¹⁹

El primer paso en esta dirección es el estudio longitudinal con secuenciamiento masivo del microbioma cervicovaginal de mujeres mexicanas embarazadas, para establecer un mapa de las especies que lo conforman y, luego, iniciar el estudio de las combinaciones que resultan en complicaciones perinatales.²⁰

CONCLUSIÓN

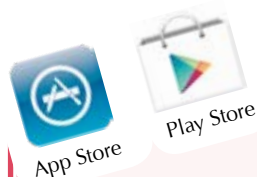
Los enfoques tradicionales para establecer la repercusión de la infección cervicovaginal en el embarazo están agotados, por eso deben buscarse nuevos caminos para entender esta relación, que es a todas luces compleja. Se recomienda continuar utilizando los métodos tradicionales para identificar los procesos infecciosos durante el embarazo, mientras se afina el conocimiento de nuevos métodos dirigidos a entender estas relaciones.

REFERENCIAS

1. Romero R, Avila C, Brekus C, Morotti R. The role of systemic and intrauterine infection in preterm parturition. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1991;622:355-75.
2. Andrews W, Hauth J, Goldenberg R. Infection and preterm birth. *American Journal of Perinatology*. 2000;17(7):357-65.
3. Flenady K. Prophylactic antibiotics for inhibiting preterm labour with intact membranes (Review). *Cochrane Database of Systemic Reviews*. 2007;2002(4):CD000246.
4. Romero R, Espinoza J, Goncalves L, Kusanovic J, Friel L, Hassan S. The role of inflammation and infection in preterm birth. *Seminars in Reproductive Medicine*. 2007;25:21-39.
5. Goldenberg R, Hauth J, Andrews W. Intrauterine infection and preterm delivery. *The New England Journal of Medicine*. 2000;342(20):1500-7.
6. Lawn J, Gravett M, Nunes T, CE R, Stanton C, Group GR. Global report on preterm birth and stillbirth (1 of 7): definitions, description of the burden and opportunities to improve data. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2010;10(1):S1.
7. Beck S, Wojdyla D, Say L, Beltran P, Merialdi M, Requejo H, et al. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bulletin of the World Health Organization*. 2010;88(1):1-80.
8. Villanueva-Egan L. Epidemiología y costos del parto pretérmino. *Ginecología Y Obstetricia de Mexico*. 2006;74:S144-S9.
9. Beltrán Montoya J, Avila-Vergara M, Vadillo-Ortega F, Hernández C, Peraza-Garay F, Olivares-Morales S. Infección cervicovaginal como factor de riesgo para parto pretérmino. *Ginecol Obstet Mex*. 2002;70:203-9.
10. Vadillo-Ortega F, Beltrán-Montoya J, Zaga-Clavellina V. [Intrauterine infection and preterm birth]. *Revista de Investigación Clínica; órgano del Hospital de Enfermedades de la Nutrición*. 2004;56(1):93-102.
11. Honest H, Bachmann L, Knox E, Gupta J, Kleijnen J, Khan K. The accuracy of various tests for bacterial vaginosis in predicting preterm birth: a systematic review. *BJOG*:



- an International Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2004;111:409-22.
12. Muglia L, Katz M. The enigma of spontaneous preterm birth. *New England Journal of Medicine*. 2010;362:529-35.
 13. Choi S, Park S, Jang I, Uh Y, Lee A. The prevalence of vaginal microorganisms in pregnant women with preterm labor and preterm birth. *Annals of Laboratory Medicine*. 2012;32:194-200.
 14. Morgan XC, Segata N, Huttenhower C. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. *Trends in genetics: TIG*. 2013;29(1):51-8.
 15. Joossens M, Huys G, Cnockaert M, De Preter V, Verbeke K, Rutgeerts P, et al. Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. *Gut*. 2011;60(5):631-7.
 16. Kuczynski J, Lauber CL, Walters WA, Parfrey LW, Clemente JC, Gevers D, et al. Experimental and analytical tools for studying the human microbiome. *Nature reviews Genetics*. 2012;13(1):47-58.
 17. Verstraelen H, Verhelst R, Claey's G, De Backer E, Temmerman M, Vaneechoutte M. Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that *L. crispatus* promotes the stability of the normal vaginal microflora and that *L. gasseri* and/or *L. iners* are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora. *BMC microbiology*. 2009;9:116.
 18. Aagaard K, Riehle K, Ma J, Segata N, Mistretta TA, Coarfa C, et al. A metagenomic approach to characterization of the vaginal microbiome signature in pregnancy. *PloS one*. 2012;7(6):e36466.
 19. Baker GC, Smith JJ, Cowan DA. Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *Journal of microbiological methods*. 2003;55(3):541-55.
 20. Pavlova SI, Kilic AO, Kilic SS, So JS, Nader-Macias ME, Simoes JA, et al. Genetic diversity of vaginal lactobacilli from women in different countries based on 16S rRNA gene sequences. *Journal of Applied Microbiology*. 2002;92(3):451-9.



AVISO IMPORTANTE

Tal como fue anunciado durante un año, hoy ***Ginecología y Obstetricia de México*** es una revista solo digital (www.ginecologiyobstetricia.org.mx) con todas las ventajas que los medios electrónicos ofrecen.

Para consultar el texto completo de los artículos deberá registrarse por una sola vez con su correo electrónico, crear una contraseña, indicar su nombre, apellidos y especialidad.

Esta información es indispensable para saber qué consulta y cuáles son sus intereses, y poder en el futuro inmediato satisfacer sus necesidades de información.