

## Probióticos y disbiosis de fertilidad

### Probiotics and dysbiosis in fertility

Ana López-Moreno<sup>1</sup> y Margarita Aguilera<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Campus of Cartuja,

<sup>2</sup>IBS: Instituto de Investigación Biosanitaria, IBS, Granada, España

#### RESUMEN

El uso de probióticos es un área de investigación traslacional en continuo progreso debido al creciente interés de los clínicos del área de fertilidad y sus pacientes. Por lo que el objetivo principal de este trabajo es recabar y resumir la información de la literatura científica relevante sobre los probióticos y su posible papel modulador efectivo en alteraciones relacionadas con la fertilidad y reproductivas. Para ello se describen los aspectos de interés relativos a: 1. La microbiota humana y sitios naturales de colonización relacionados con la salud reproductiva: microbiota vaginal, microbiota endometrial, microbiota y embarazo. 2. A continuación, hemos resaltado las disbiosis de los sitios de colonización y las repercusiones en fertilidad del estado de salud/enfermedad y por último 3. La hipótesis sobre los tratamientos efectivos con probióticos orales vs vaginales y sus vías fisiológicas de transferencia y actuación; que lleva asociado la descripción del concepto de translocación efectiva o llegada de los probióticos al sitio natural de colonización tras su administración como suplementos. La mayoría de probióticos utilizados en disbiosis relacionadas con la fertilidad pertenecen al género *Lactobacillus*. Se suelen administrar principalmente por vía oral a una concentración del orden de  $1 \times 10^9$  UFC/día y una duración de 4-12 semanas, siendo diferencial en función de la disbiosis a tratar.

( Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2020; 37; © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

**Palabras clave:** *Probióticos, microbiota, fertilidad, disbiosis.*

Aceptado: 21/05/2020  
Correspondencia: alopezm@ugr.es  
maguiler@ugr.es  
Tel.: 958245129  
lmorenoo@salud.madrid.org  
SOLICITUD REIMPRESIÓN: Email: fertilidad@editorialmedica.com

---

## SUMMARY

The use of probiotics is an area of translational research in continuous progress due to the growing interest of fertility clinicians and their patients. Therefore, the main objective of this work is to collect and summarise relevant information from the available scientific literature on probiotics and their effective modulating role in fertility-related and reproductive disorders. To approach this objective, we have summarised the knowledge regarding the following pertinent aspects: 1. The human microbiota: intestinal microbiota already well studied, and other natural colonization sites related to reproductive health: vaginal microbiota, endometrial microbiota, pregnancy microbiota. 2. Next, we have highlighted the dysbiosis of the colonization sites and the repercussions on the state of health / disease and finally 3. The hypothesis that exists about effective treatments with oral probiotics and their physiological transfer and performance pathways and the associated concept of translocation or arrival at the natural site of colonization. Most probiotics used in fertility-related dysbiosis belong to the genus *Lactobacillus*. They are mainly administered via oral at average concentrations of  $1 \times 10^9$  CFU/day during 4-12 weeks, being differential depending on the dysbiosis to be treated.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2020; 37; © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

**Key words:** *Probiotics, microbiota, fertility, dysbiosis.*

## INTRODUCCIÓN

El uso de probióticos es un área de investigación traslacional en continuo progreso debido al creciente interés de los clínicos del área de fertilidad y sus pacientes.

Los probióticos siguen siendo un importante recurso de intervención complementaria para modular la disbiosis de la microbiota, que se asocia con varios trastornos y enfermedades metabólicas (1, 2). Según el International Life Sciences Institute (ILSI), la OMS y la International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP), se definen como "microorganismos vivos, que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del huésped" (3). Por lo tanto, dosis específicas de ciertas cepas probióticas podrían modular la microbiota hacia una más saludable, es decir, recuperar el estado de eubiosis (3, 4).

A pesar de sus numerosos beneficios, un consumo inadecuado de probióticos podría incluso tener efectos no deseados, como actividades metabólicas nocivas, alteraciones de la integridad de la barrera intestinal, una respuesta inmune inapropiada y la generación de genes de resistencia a los antibióticos e infecciones sistémicas (5, 6). Con el fin de evitar estos efectos no deseados, se debe implementar un plan de intervención personalizado debido a la complejidad interindividual de cada paciente (7, 8).

## OBJETIVO

El presente trabajo tiene como objetivo principal recabar, analizar y extraer la información de la literatura científica relevante sobre los probióticos y su posible papel modulador efectivo en alteraciones relacionadas con la fertilidad y

salud reproductiva.

Para ello existen actualmente líneas de investigación para desarrollar estudios clínicos que dan soporte científico al uso de los probióticos como nutracéuticos y suplementos dietéticos que pueden contribuir positivamente en la salud reproductiva, por lo que destacamos los siguientes aspectos de interés o temas principales.

## TEMAS PRINCIPALES

### Microbiota humana y sitios naturales de colonización del sistema reproductivo

La microbiota humana también parece tener un papel relevante en el sistema reproductivo y hormonal, más allá del demostrado rol metabólico de la microbiota intestinal. La microbiota humana es capaz de determinar estados de salud (eubiosis) (1) versus enfermedad (disbiosis) como concepto fisiológico global. Los efectos del desbalance de la microbiota relacionados con el sistema reproductivo, contribuyen a desencadenar trastornos endocrinos y metabólicos como la vaginosis bacteriana (2), el síndrome de ovario poliquístico (PCOS) (3), la hiperplasia y la endometriosis endometrial (4), y varias comorbilidades como la obesidad (5), diabetes y síndrome metabólico (6).

El impacto fisiológico de la microbiota humana también parece tener un papel inmunológico y metabólico activo determinante para la regulación del eje fisiológico hormonal. De este modo, la microbiota parece regular los estrógenos circulantes mediante la secreción de  $\beta$ -glucuronidasa que desconjuga los estrógenos y los activa para unirse a sus receptores. Sin embargo, si se produce disbiosis microbiana

---

puede dar como resultado una disminución de los estrógenos circulantes, dando lugar a posibles patologías reproductivas (4,9). En este sentido, especial interés suscita el impacto en el estado de eubiosis/disbiosis de la microbiota vaginal, endometrial y la relacionada con el embarazo-placenta, que describimos a continuación.

**Microbiota vaginal:** es particular de cada mujer y su papel en muchas facetas de la salud reproductiva está demostrado con experimentos científicos (1, 10). La microbiota vaginal muestra un patrón de colonización específico para cada mujer, donde el género *Lactobacillus* es dominante para establecer una comunidad saludable (11).

**Microbiota endometrial:** Determinados autores postulan una colonización específica del endometrio. En concreto, una disminución de la población de *Lactobacillus* en la microbiota endometrial parece estar asociada con el fracaso de la implantación o el aborto espontáneo temprano en pacientes de reproducción asistida (12, 13). Sin embargo, hay controversia en dichos resultados y también en la determinación de la ratio de microorganismos dominantes asociados a salud/disbiosis.

**Microbiota embarazo-placenta:** La teoría de la presencia de microbiota bacteriana en la placenta frente al dogma de la esterilidad ha sido abordada experimentalmente por diferentes autores. Todavía hay estudios controvertidos sobre el microbioma uterino y placentario humano y el impacto sobre el embarazo y el feto (14, 15). Antes de la era de las tecnologías ómicas, el ambiente estéril fetal humano (placenta, feto y líquido amniótico) y la adquisición de la microbiota durante y después del parto era un dogma totalmente aceptado (14). Además, se sabe que el establecimiento y el mantenimiento de la integridad y la función placentarias son críticos para el crecimiento fetal, el desarrollo y la supervivencia (16). Aagaard y col. (17) caracterizaron un nicho de microbioma placentario único compuesto por microbiota comensal no patógena. Por otro lado, Prince y col. (18) encontraron una relación entre las alteraciones de la microbiota placentaria con la gravedad de la corioamnionitis (infección del líquido amniótico y las membranas que lo contienen).

### **Disbiosis asociadas a los sitios de colonización del sistema reproductivo y las repercusiones en estado de salud/enfermedad**

**Vaginosis bacteriana** es la forma más común de disbiosis reproductiva y se asocia con las complicaciones ginecológicas, como el parto prematuro espontáneo, el aborto, la endometriosis e incluso la infertilidad. Puede tratarse mediante la restauración de la microbiota vaginal utilizando probióticos, normalmente especies del género *Lactobacillus* (19, 20).

**Endometriosis:** Se define por la presencia de tejido endometrial fuera de la cavidad uterina. Se ha relacionado con un efecto desfavorable sobre la fertilidad, estimándose que del 30 % al 71 % de las mujeres infértiles tienen endometriosis, y entre las mujeres con endometriosis, el 30-50 % son infértiles (21).

**Síndrome de Ovario Poliquístico (PCOS):** es un trastorno metabólico endocrino común entre las mujeres en edad reproductiva, correlacionada con múltiples factores de riesgo físico, que incluyen obesidad, hipertensión, dislipidemia, resistencia a la insulina y pueden resultar en trastornos de fertilidad (22).

**Complicaciones del Embarazo:** Los abortos y partos prematuros espontáneos, incluso la no implantación del embrión, podrían estar altamente relacionados con disbiosis e infecciones intrauterinas causadas por vaginosis bacteriana que podrían parcialmente paliarse con la restauración de las disbiosis de la microbiota (23-25), aumentado el pH vaginal y conduciendo a la colonización por microorganismos patógenos (26). Por lo que una estrategia para contrarrestar estas infecciones bacterianas es la administración de probióticos, siendo más segura y natural que el uso de antibióticos (24). Sin embargo, en general, los estudios de probióticos en implantación del embrión, de embarazo y complicaciones del mismo, requieren en general tamaños de muestra estadísticamente más significativos o tener datos completos con un mayor número de ensayos clínicos y determinaciones de microbiota a nivel de especie y cepa.

### **Vías de Administración de Probióticos en disbiosis relacionadas con la fertilidad**

#### **Administración de probióticos vía oral**

La mayoría de los ensayos clínicos sobre probióticos, fertilidad y microbiota se realizan con administración vía oral.

La administración oral hace que los probióticos tengan que sobrevivir al pH bajo del tracto gastrointestinal, que generalmente se demuestra mediante la recuperación de estos microorganismos específicos de las muestras fecales (27,28).

Requiere por tanto la transferencia al sitio final de colonización, para ejercer el efecto clínico esperado. En las disbiosis de la microbiota y aspectos relacionados con la fertilidad, los probióticos deberían ejercer su efecto en el sitio de colonización disbiótico, la vagina (vaginosis), el endometrio (endometritis), la mama (mastitis), mediante transferencia física o vía ascendente, vía hematológica y transferencia de ganglios linfáticos (29).

Cada vez hay más estudios de investigación que prueban los efectos beneficiosos de la suplementación con probióti-

cos orales (30). Además, en este momento, existe evidencia inequívoca de efectos beneficiosos directos sobre los resultados clínicos en la salud reproductiva: modulación de vaginosis, PCOS, mastitis, etc.

- Se ha demostrado que la administración oral de *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 y *Lactobacillus fermentum* LC-14 restaura la microbiota vaginal sana en hasta el 82 % de las mujeres con disbiosis vaginal previa, específicamente un aumento en las especies de *Lactobacillus* dominantes (31). Además, hay estudios que demuestran la capacidad de los lactobacilos administrados por vía oral para colonizar la vagina, ejerciendo un efecto modulador positivo en la salud vaginal (19, 32).
- La administración oral fue más efectiva contra la vaginosis bacteriana inducida por *Gardnerella vaginalis* que la administración intravaginal en ratones (33).
- Los Lactobacilos tienen las propiedades probióticas fundamentales y deseables requeridas para mantener un ambiente vaginal saludable, incluida una alta hidrofobicidad y autoagregulación, así como la adherencia a las células epiteliales y producción de ácido (34).
- La administración oral de *L. gasseri* OLL2809 suprimió el desarrollo de endometriosis a través de la activación de células NK, en ratones BALB/c (35).
- Los lactobacilos administrados por vía oral son eficaces para restaurar y mantener una microbiota urogenital normal/saludable (36-38).
- El probiótico *Bifidobacterium lactis* V9 modula los niveles de hormonas sexuales en individuos con PCOS a través del eje intestino-cerebro (22).
- *Lactobacillus rhamnosus* GG y *Lactobacillus gasseri* K7 pueden modular la composición bacteriana de la microbiota ganglios linfáticos mesentéricos y de la glándula mamaria de manera que podría mejorar la salud de la glándula mamaria y, en última instancia, la salud del recién nacido (39). Los resultados confirman que puede haber una translocación fisiológica de ciertas cepas bacterianas y de sus compuestos bioactivos del tracto digestivo materno a la glándula mamaria y la leche en ratones BALB/c (40).

### Administración de probióticos vía vaginal

La administración vaginal de *Lactobacillus* es capaz de restaurar la microbiota vaginal controlando el índice Nugent hacia valores normales (0-3). Además, la colonización de *Lactobacillus* se correlaciona inversamente con la concentración de bacterias asociadas a vaginosis bacteriana (41-43).

El endometrio dominado por *Lactobacillus* puede beneficiar

la implantación de embriones. Sin embargo hay controversia en dichos resultados y también en la determinación de los ratios de microorganismos dominantes asociados a salud/disbiosis (44). Además, los mismos autores, plantean que el análisis resolutivo de la microbiota endometrial a nivel de especie puede ser necesario para identificar las verdaderas bacterias beneficiosas y/o patógenas del endometrio implicadas en la implantación de embriones. Así se evitarían las intervenciones múltiples contra la microbiota no dominada por *Lactobacillus*.

Es una recomendación que para el tratamiento de infecciones vulvovaginales, los probióticos puedan administrarse preferentemente por vía vaginal para controlar la recolonización de *Lactobacillus* (27), como resultado, estos probióticos no pasan a través del tracto gastrointestinal protegiéndolos del ambiente ácido.

Además, un estudio reciente examinó la relación entre la composición de la microbiota endometrial y los resultados del embarazo en mujeres sometidas a fertilización in vitro (FIV). Curiosamente, Moreno et al. (45) encontraron una correlación entre los resultados adversos del embarazo y una microbiota endometrial que era limitada en especies de *Lactobacillus*. Concluyendo que el efecto negativo de la microbiota endometrial no dominada por *Lactobacillus* debería asociarse con resultados reproductivos negativamente, como el fracaso de la implantación y pérdida del embarazo (46-48).

Por otro lado, hay tesis controvertidas sobre el microbioma uterino y placentario humano y su impacto sobre el embarazo y el feto (15, 16).

Podemos concluir comparativamente que a pesar de que la administración vaginal permite una acción de colonización directa y dirigida de los probióticos para restaurar la microbiota vaginal alterada, en muchos estudios, defendieron la tesis de que la administración oral es más efectiva contra la vaginosis bacteriana y menos agresiva para la microbiota establecida, y en resumen es natural ruta de colonización (33).

### Administración de probióticos vía rectal

No se ha encontrado literatura científica específica sobre la administración vía rectal de probióticos para modular o controlar disbiosis relacionadas con la salud reproductiva. Esta administración rectal o enemas de probióticos, de forma homóloga al trasplante fecal de microbiota (FMT), se realiza sólo hasta el momento para tratamiento agudo de infecciones por *Clostridium difficile* en neonatos, y otras alteraciones intestinales como el estreñimiento y en algunas

---

enfermedades inflamatorias intestinales [49].

### Vías de administración y concepto de translocación o llegada al sitio natural de colonización

Como ya se ha descrito anteriormente, existen diferentes modos o vías de administración de probióticos para que ejerzan su acción terapéutica o paliativa en salud reproductiva: hemos mencionamos la terapia vaginal y la oral, de las que, esta última es la más prescrita y/o recomendada.

Además, lo más importante es demostrar y garantizar la transferencia de los probióticos administrados al sitio final de colonización, para ejercer el efecto modulador y clínico esperado. Por lo tanto, en la investigación de disbiosis relacionadas con fertilidad, los probióticos podrían alcanzar los sitios de colonización del sistema reproductivo mediante las siguientes rutas de transferencia: ruta física o ascendente (recto-perineo-vagina), ruta hematológica, transferencia a través de ganglios linfáticos y ruta entero-mamaria (29) en la que se necesita un aumento de la permeabilidad de la barrera intestinal, y que describimos a continuación.

#### Ruta física o vía ascendente

Se han realizado algunos estudios para demostrar la capacidad de cepas *Lactobacillus* administrados por vía oral para ser transferidos del tracto intestinal a la vagina y colonizar e influir positivamente en la salud vaginal (19, 32).

Algunas cepas de lactobacilos pueden atravesar el tracto gastrointestinal (GI) y el recto puede servir como reservorio para la colonización vaginal con especies de *Lactobacillus*. Por lo que se confirma que la colonización vaginal puede lograrse en humanos mediante métodos de administración oral (50)

Además, diversos estudios han demostrado la presencia de una microbiota seminal, la cual influye en la composición bacteriana del tracto reproductivo de las parejas. Por lo que las actividades sexuales son una vía de intercambio de microorganismos (51).

#### Ruta hematológica y permeabilidad de la barrera intestinal

Las bacterias también se pueden transferir a través de la ruta hematológica y de ganglios linfáticos. Esto ocurre cuando la barrera intestinal se ve comprometida y permitiría a bacterias de las cavidades mucosas como cavidad oral (52) y tracto gastrointestinal (53) colonizar otros sitios, como el útero y/o placenta. La barrera intestinal es una capa selectivamente permeable que proporciona protección inmunológica frente a agentes patógenos (54) y curiosamente la administración

de algunas cepas de *Lactobacillus* pueden mejorar su estabilidad (55). Las bacterias también pueden ascender de la vagina al endometrio a través del cuello uterino (56).

#### Ruta enteromamaria

Si bien esta ruta no está directamente relacionada con la salud reproductiva, a modo de información, describimos la hipótesis sobre una posible ruta enteromamaria endógena con la misma base científica que la ruta hematológica y que determina la composición del microbioma complejo de la leche humana (57), como verifica un estudio sobre la presencia y la identidad específica de cepas orales típicas en el calostro antes del contacto con el recién nacido (58). Por ello, también existen estudios sobre probióticos maternos del género *Lactobacillus*, que, administrados por vía oral para evitar afecciones vaginales durante el embarazo, están presentes en el intestino de forma transitoria, podrían atravesar el epitelio intestinal, y llegar a la glándula mamaria a través de la vía enteromamaria durante la lactancia (59). Además, esta ruta también es responsable, de la abundancia de elementos del sistema inmunológico en la leche humana (52, 60).

### DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

En conclusión, la administración de probióticos orales es la más utilizada, y en la mayoría de los casos ejerce una modulación clínica positiva a través de la mejora de índices específicos de control de las disbiosis.

Podemos observar referencias de dosis específicas y patrones de administración oral utilizados en ensayos clínicos de intervención con probióticos relevantes (61) (Tabla 1), siendo valores del orden de  $1 \times 10^9$  UFC/día y una media de administración durante 4-12 semanas, la duración es diferencial en función de la disbiosis a tratar. Resaltamos que es decisión del facultativo la duración del tratamiento en función del diagnóstico individual y personalizado de la paciente.

Además, es muy relevante resaltar que la mayoría de los ensayos clínicos seleccionados informen sobre los aspectos de seguridad de los probióticos prescritos durante las intervenciones. Ninguno de los estudios analizados mostró datos sobre los efectos secundarios o adversos provocados por los probióticos administrados.

Todos los probióticos utilizados deben ser inocuos por antecedentes de uso seguro y características de seguridad comprobadas (62) para productos comercializados (63). Las especies probióticas comerciales utilizadas deberían tener

**TABLA 1**

**Efectos de cepas probióticas orales administradas en Ensayos Clínicos de desórdenes de fertilidad y sus resultados clínicos relevantes.**

*Modificado de López-Moreno [61]*

Referencia	Características de población Número de muestras (n)	Cepa probiótica	Dosis y patrón de administración	Periodo de intervención (semanas)	Enfermedad	Parámetros clínicos
Zhang et al. pacientes	14 PCOS lactis V9	Bifidobacterium	1 X 10 <sup>6</sup> UFC/día	10 (PCOS)	Ovario poliquístico	El probiotico modula los niveles de hormonas sexuales en individuos con PCOS a través del eje intestino-cerebro
Anukam et al.	59 mujeres con disbiosis vaginales reuteri RC-14	Fluconazol Lactobacillus rhamnosus GR1 y Lactobacillus	5 X 10 <sup>9</sup> UF/día	24	Disbiosis vaginales	El tratamiento con probióticos no afectó a la tasas de curación, pero condujo a menos recurrencias de vulvovaginitis
Bohbot and Cardot (LCR35)	20 mujeres sanas	Lactobacillus casei variety rhamnosus	1 X 10 <sup>8</sup> UFC/día 2 X 10 <sup>8</sup> UFC/>día	4	Disbiosis vaginales	La administración de probióticos modula el índice Nugent hasta los valores normales en ambos grupos, pero de forma más acusada en el grupo probiótico con una dosis más elevada
McMillan wt al.	38 Embarazadas <36 semanas	Lactobacillus rhamnosus GR 1 y Lactobacillus reuteri RC-14	1 X 10 <sup>9</sup> UFC/día	4	partos prematuros por vaginosis	Las mujeres en el grupo de placebo tenían significativamente más probabilidades de dar a luz prematuramente. Sin embargo, el número de muestra no fue estadísticamente suficiente para establecer diferencias significativas
Krauss-Siva et al.	4204 embaraxadas <20 semanas	Lactobacillus rhamnosus GR-1 Lctobacillus reuteri RC-15	>2 X 10 <sup>6</sup> UFC/día	6-12	Partos prematuros por infecciones	La eficacia de los probióticos probados para prevenir el parto prematuro no se determinó porque la muestra del estudio fue insuficiente para estimar diferencias estadísticas significativas
Zeber-lebecka et al.	39 Bebés prematuros	Saccharomyces boulardii	2 X 10 <sup>9</sup> UFC/día	6	Embarazo-Disbiosis en microbiota	No se pudieron establecer diferencias estadísticas entre madres y bebés suplementados con probiótico y sin probiótico
Fernández et al.	108 Embarazadas sanas	Lctobacillus salivarius PS2	1 X 10 <sup>9</sup> UFC/día	-8	Embarazo-mastitis	La administración de <i>L. salivarius</i> PS2 durante etapas tardías del embarazo parece ser un método eficaz para la prevención de mastitis



la calificación QPS (64) o GRAS (65). Sin embargo, resaltamos, que existe una enorme cantidad de estudios clínicos con probióticos en disbiosis de fertilidad de investigación clínica que no especifican datos relativos a cepas de probióticos administrados, dosis, impacto en la microbiota autóctona individual o datos sobre modificaciones de valores hormonales específicos y efectos de regulación endocrina. Por lo tanto, consideramos que los estudios de intervención con probióticos también en fertilidad podrían redirigir el foco, no sólo para la obtención de una modificación de un biomarcador clínico, sino en la administración personalizada de acuerdo con la severidad del trastorno de salud reproductiva a ser paliado.

### Perspectivas de mejora para el consumo de probióticos orales en salud reproductiva

→ Los suplementos de fórmulas específicas que contienen cepas probióticas están aumentando exponencialmente como productos dietéticos y terapéuticos, también en entorno clínico de fertilidad (15).

→ Se debe informar sobre la cepa probiótica prescrita, además del género y la especie de los probióticos ensayados (66), ya que los efectos biológicos y clínicos de los probióticos dependen de la cepa específica (67, 68). Y los efectos beneficiosos deben respaldarse con más de un ensayo clínico.

→ Además, aspectos de seguridad y eficacia deben armonizarse. Asimismo, el patrón de administración, la población y la disbiosis diana, ya que se ha visto que el efecto beneficioso de un probiótico en una población puede no ser adecuado para otra población, incluso causando efectos adversos (66, 69).

### BIBLIOGRAFÍA

- García-Velasco, J.; Menabrito, M.; Catalán, I. What fertility specialists should know about the vaginal microbiome: a review. *Reprod. BioMed. Online* 2017, 35, 103-112.
- Vazquez, F.; Fernández-Blázquez, A.; García, B. Vaginosis. *Microbiota vaginal. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2019, 37, 592-601.
- Torres, P.; Siakowska, M.; Banaszewska, B.; Pawelczyk, L.; Duleba, A.; Kelley, S.; Thackray, V. Gut Microbial Diversity in Women With Polycystic Ovary Syndrome Correlates With Hyperandrogenism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2018, 103, 1502-1511.
- Baker, J.; Al-Nakkash, L.; Herbst-Kralovetz, M. Estrogen-gut microbiome axis: Physiological and clinical implications. *Maturitas* 2017, 103, 45-53.
- Fontané, L.; Benaiges, D.; Goday, A.; Llauradó, G.; Pedro-Botet, J. Influencia de la microbiota y de los probióticos en la obesidad. *Clin. Investig. Arterioscler.* 2018, 30, 271-279.
- Rondanelli, M.; Faliva, M.; Perna, S.; Giacosa, A.; Peroni, G., Castellazzi, A. Using probiotics in clinical practice: Where are we now? A review of existing meta-analyses. *Gut Microbes* 2017, 8, 521-543. doi: 10.1080/19490976.2017.1345414
- Bernal, J.; Mendiola, J.; Ibáñez, E.; Cifuentes, A. Advanced analysis of nutraceuticals. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2011, 55, 758-774.
- Ting, Y.; Jiang, Y.; Ho, C.; Huang, Q. Common delivery systems for enhancing in vivo bioavailability and biological efficacy of nutraceuticals. *J. Funct. Foods* 2014, 7, 112-128.
- Ata, B.; Yildiz, S.; Turkgeldi, E.; Brocal, V.; Dinleyici, E.; Moya, A.; Urman B. The Endobiota Study: Comparison of Vaginal, Cervical and Gut Microbiota Between Women with Stage 3/4 Endometriosis and Healthy Controls. *Sci. Rep.*, 2019, 9, 2204.
- Anahtar, M.; Gootenberg, D.; Mitchell, C.; Kwon, D. Cervicovaginal Microbiota and Reproductive Health: The Virtue of Simplicity. *Cell Host & Microbe* 2018, 23, 159-168.
- Pramanick, R.; Mayadeo, N.; Warke, H.; Begum, S.; Aich, P.; Aranha, C. Vaginal microbiota of asymptomatic bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis: Are they different from normal microbiota?. *Microb. Pathog.* 2019, 134, 103599.
- García-Grau, I., Pérez-Villaroya, D., Bau, D., Gonzalez-Monfort, M., Vilella, F., Moreno, I., & Simon, C. Taxonomical and Functional Assessment of the Endometrial Microbiota in A Context of Recurrent Reproductive Failure: A Case Report. *Pathogens* 2019, 8, 205. <https://doi.org/10.3390/pathogens8040205>
- Moreno, I., García-Grau, I., Bau, D., Pérez-Villaroya, D., Gonzalez-Monfort, M., & Vilella, F. et al. The first glimpse of the endometrial microbiota in early pregnancy. *American Journal Of Obstetrics And Gynecology* 2020, In print. doi: 10.1016/j.ajog.2020.01.031
- Perez-Muñoz, M.; Arrieta, M.; Ramer-Tait, A.; Walter, J. A critical assessment of the “sterile womb” and “in utero colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome* 2017, 5, 48. doi: 10.1186/s40168-017-0268-4.
- de Goffau, M.; Lager, S.; Sovio, U.; Gaccioli, F.; Cook, E.; Peacock, S. et al. Human placenta has no microbiome but can contain potential pathogens. *Nature* 2019, 572, 329-334.
- Sood, R.; Zehnder, J.; Druzin, M.; Brown, P. Gene expression patterns in human placenta. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2006, 103(14), 5478-5483. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508035103>
- Aagaard, K.; Ma, J.; Antony, K. M.; Ganu, R.; Petrosino, J.; Versalovic, J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci. Transl. Med.* 2014, 6, 237ra65; Doi: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008599>
- Prince, A.; Ma, J.; Kannan, P.; Alvarez, M.; Gisslen, T.; Harris, R. et al. The placental membrane microbiome is altered among subjects with spontaneous preterm birth with and without chorioamnionitis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016, 214, 627.e1-627.e16; doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.01.193>
- Bohbot, J., Cardot, J. Vaginal Impact of the Oral Administration of Total Freeze-Dried Culture of LCR 35 in Healthy Women. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* 2012, 2012, 503648.
- Prabha, V., and Bhandari, P. Evaluation of profertility effect of probiotic *Lactobacillus plantarum* 2621 in a murine model. *Indian Journal Of Medical Research*, 2015, 142, 79-84. <https://doi.org/10.4103/0971-5916.162127>
- Halis, G.; Arici, A. Endometriosis and Inflammation in Infertility. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2004, 1034, 300-315. <https://doi.org/10.1196/annals.1335.032>
- Zhang, J.; Sun, Z.; Jiang, S.; Bai, X.; Ma, C.; Peng, Q. et al. Probiotic *Bifidobacterium lactis* V9 Regulates the Secretion of Sex Hormones in Polycystic Ovary Syndrome Patients through the Gut-Brain Axis. *mSystems*. 2019, 4, e00017-19.
- Romero, R.; Espinoza, J.; Chaiworapongsa, T.; and Kalache, K. Infection and prematurity and the role of preventive strategies. *Seminars In Neonatology* 2002, 7, 259-274. <https://doi.org/10.1053/siny.2002.0121>
- Basavaprabhu, H., Sonu, K., & Prabha, R. Mechanistic insights

- into the action of probiotics against bacterial vaginosis and its mediated preterm birth: An overview. *Microbial Pathogenesis* 2020, 141, 104029. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104029>
25. **Moreno, I.; and Simon, C.** Relevance of assessing the uterine microbiota in infertility. *Fertil. Steril.* 2018, 110, 337-343. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.04.041
  26. **Krauss-Silva, L.; Moreira, M.; Alves, M.; Braga, A.; Camacho, K.; Batista, M. et al.** A randomised controlled trial of probiotics for the prevention of spontaneous preterm delivery associated with bacterial vaginosis: preliminary results. *Trials* 2011, 12, 239.
  27. **Mombelli, B. Gismondo, M.** The use of probiotics in medical practice. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2000, 16, 531-536.
  28. **Gardiner, G.; Heinemann, C.; Baroja, M.; Bruce, A.; Beurman, D.; Madrenas, J.; Reid, G.** Oral administration of the probiotic combination *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. fermentum* RC-14 for human intestinal applications. *Int. Dairy J.* 2002, 12, 191-196.
  29. **Albillos, A. de Gottardi, A. Rescigno, M.** The gut-liver axis in liver disease: Pathophysiological basis for therapy. *J. Hepatol* 2020, 72, 558-577; doi: 10.1016/j.jhep.2019.10.003.
  30. **de Goffau, M. Lager, S. Salter, S. Wagner, J. Kronbichler, A. Charnock-Jones, D. et al.** Recognizing the reagent microbiome. *Nat. Microbiol.* 2018, 3, 851-853; doi:<https://doi.org/10.1038/s41564-018-0202-y>
  31. **Falcinelli, S.; Rodiles, A.; Hatf, A.; Picchietti, S.; Cossignani, L.; Merrifield, D.; et al.** Dietary lipid content reorganizes gut microbiota and probiotic *L. rhamnosus* attenuates obesity and enhances catabolic hormonal milieu in zebrafish. *Sci. Rep.* 2017, 7, 5512. doi: 10.1038/s41598-017-05147-w.
  32. **Falagas, M. Betsi, G. Athanasiou, S.** Probiotics for the treatment of women with bacterial vaginosis. *Clin. Microbiol. Infect.* 2007, 13, 657-664.
  33. **Jang, S., Jeong, J., Choi, S., Kim, H., Han, M., and Kim, D.** *Lactobacillus rhamnosus* HN001 and *Lactobacillus acidophilus* La-14 Attenuate *Gardnerella vaginalis*-Infected Bacterial Vaginosis in Mice. *Nutrients* 2017, 9, 531. <https://doi.org/10.3390/nu9060531>
  34. **Melgaço, A., Blohem Pessoa, W., Freire, H., Evangelista de Almeida, M., Santos Barbosa, M., and Passos Rezende, R. et al.** Potential of Maintaining a Healthy Vaginal Environment by Two *Lactobacillus* Strains Isolated from Cocoa Fermentation. *Biomed Research International* 2018, 2018, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2018/7571954>
  35. **Itoh, H., Sashihara, T., Hosono, A., Kaminogawa, S., and Uchida, M.** *Lactobacillus gasseri* OLL2809 inhibits development of ectopic endometrial cell in peritoneal cavity via activation of NK cells in a murine endometriosis model. *Cytotechnology* 2011, 63, 205-210. <https://doi.org/10.1007/s10616-011-9343-z>
  36. **Reid, G., Beurman, D., Heinemann, C. and Bruce, A.** Probiotic *Lactobacillus* dose required to restore and maintain a normal vaginal flora. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 2001, 32, 37-41.
  37. **Reid, G., Charbonneau, D., Erb, J., Kochanowski, B., Beurman, D., Poehner, R., & Bruce, A.** Oral use of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. fermentum* RC-14 significantly alters vaginal flora: randomized, placebo-controlled trial in 64 healthy women. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2003, 35, 131-134. doi: 10.1016/s0928-8244(02)00465-0
  38. **Reid, G., Burton, J., Hammond, J., & Bruce, A.** Nucleic Acid-Based Diagnosis of Bacterial Vaginosis and Improved Management Using Probiotic *Lactobacilli*. *Journal Of Medicinal Food* 2004, 7, 223-228. doi: 10.1089/1096620041224166
  39. **Treven, P., Mrak, V., Bogovič Matijašić, B., Horvat, S., and Rogelj, I.** Administration of probiotics *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus gasseri* K7 during pregnancy and lactation changes mouse mesenteric lymph nodes and mammary gland microbiota. *Journal Of Dairy Science* 2015, 98, 2114-2128. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8519>
  40. **de Andrés, J., Jiménez, E., Chico-Calero, I., Fresno, M., Fernández, L., and Rodríguez, J.** Physiological Translocation of Lactic Acid Bacteria during Pregnancy Contributes to the Composition of the Milk Microbiota in Mice. *Nutrients* 2017, 10, 14. <https://doi.org/10.3390/nu10010014>
  41. **Tomusiak, A., Strus, M., Heczko, P., Adamski, P., Stefański, G., Mikołajczyk-Cichońska, A., and Suda-Szczurek, M.** Efficacy and safety of a vaginal medicinal product containing three strains of probiotic bacteria: a multicenter, randomized, double-blind, and placebo-controlled trial. *Drug Design, Development And Therapy* 2015, 9, 5345-5354. <https://doi.org/10.2147/dddt.s89214>
  42. **Mastromarino, P., Macchia, S., Meggiorini, L., Trinchieri, V., Mosca, L., Perluigi, M., and Midulla, C.** Effectiveness of *Lactobacillus*-containing vaginal tablets in the treatment of symptomatic bacterial vaginosis. *Clinical Microbiology And Infection*, 2009, 15, 67-74. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02112.x>
  43. **Ngugi, B., Hemmerling, A., Bukusi, E., Kikvi, G., Gikunju, J., and Shiboski, S. et al.** Effects of Bacterial Vaginosis-Associated Bacteria and Sexual Intercourse on Vaginal Colonization With the Probiotic *Lactobacillus crispatus* CTV-05. *Sexually Transmitted Diseases*, 2011, 38, 1020-1027. <https://doi.org/10.1097/olq.0b013e3182267ac4>
  44. **Kyono K, Hashimoto T, Kikuchi S, Nagai Y, Sakuraba Y.** A pilot study and case reports on endometrial microbiota and pregnancy outcome: An analysis using 16S rRNA gene sequencing among IVF patients, and trial therapeutic intervention for dysbiotic endometrium. *Reprod Med Biol*, 2018, 25:18(1):72-82. <https://doi.org/doi:10.1002/rmb2.12250>
  45. **Moreno, I.; Codoñer, F.; Vilella, F.; Valbuena, D.; Martínez-Blanch, J.; Jiménez-Almazán, J. et al.** Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016, 215, 684-703.
  46. **Ravel, J.; Gajer, P.; Abdo, Z.; Schneider, G.; Koenig, S.; McCulle, S. et al.** Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2010, 108, 4680-4687. doi: 10.1073/pnas.1002611107
  47. **Romero, R.; Hassan, S.; Gajer, P.; Tarca, A.; Fadrosh, D.; Bieda, J. et al.** The vaginal microbiota of pregnant women who subsequently have spontaneous preterm labor and delivery and those with a normal delivery at term. *Microbiome* 2014, 2, 18. doi: 10.1186/2049-2618-2-18
  48. **Romero, R.; Chaiworapongsa, T.; Kuivaniemi, H., Tromp, G.** Bacterial vaginosis, the inflammatory response and the risk of preterm birth: a role for genetic epidemiology in the prevention of preterm birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2004, 190, 1509-1519. doi: 10.1016/j.jajog.2004.01.002
  49. **Oliva S, Di Nardo G, Ferrari F, Mallardo S, Rossi P, Patrizi G, Cucchiara S, Stronati L.** Randomised clinical trial: the effectiveness of *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 rectal enema in children with active distal ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012 35, 327-34. doi: 10.1111/j.1365-2036.2011.04939.x.
  50. **Lagenaur, L., Lee, P., Hamer, D., & Sanders-Beer, B.** (2011). Demonstration of vaginal colonization with GusA-expressing *Lactobacillus jensenii* following oral delivery in rhesus macaques. *Research In Microbiology*, 162:1006-1010. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2011.08.003>
  51. **Mäandar, R., Punab, M., Borovkova, N., Lapp, E., Kiiker, R., & Korrovits, P. et al.** Complementary seminovaginal microbiome in couples. *Research In Microbiology* 2015, 166, 440-447. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.03.009>
  52. **Pérez, P., Dore, J., Leclerc, M., Levenez, F., Benyacoub, J., & Serrant, P. et al.** Bacterial Imprinting of the Neonatal Immune System: Lessons From Maternal Cells? *Pediatrics* 2007, 119, e724-e732. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-1649>
  53. **Fardini, Y., Chung, P., Dumm, R., Joshi, N., and Han, Y.** Transmission of Diverse Oral Bacteria to Murine Placenta: Evidence for



- the Oral Microbiome as a Potential Source of Intrauterine Infection. *Infection And Immunity* 2010, 78, 1789-1796. <https://doi.org/10.1128/iai.01395-09>
54. **Thoo, L., Noti, M., and Krebs, P.** Keep calm: the intestinal barrier at the interface of peace and war. *Cell Death & Disease* 2019, 10, 849. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-2086-z>
55. **Wang, Y., Gong, L., Wu, Y., Cui, Z., Wang, Y., and Huang, Y. et al.** Oral administration of *Lactobacillus rhamnosus* GG to newborn piglets augments gut barrier function in pre-weaning piglets. *Journal Of Zhejiang University-SCIENCE B* 2019, 20, 180-192. <https://doi.org/10.1631/jzus.b1800022>
56. **Baker, J., Chase, D., and Herbst-Kralovetz, M.** Uterine Microbiota: Residents, Tourists, or Invaders? *Frontiers In Immunology* 2018, 9, 208. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00208>
57. **Zimmermann P, Curtis N.** Breast milk microbiota: A complex microbiome with multiple impacts and conditioning factors. *J Infect.* 2020, S0163-4453(20)30063-3. doi: 10.1016/j.jinf.2020.01.023.
58. **Ruiz L, Bacigalupe R, García-Carral C, Boix-Amoros A, Argüello H, Silva CB, de Los Angeles Checa M, Mira A, Rodríguez JM.** Microbiota of human precolostrum and its potential role as a source of bacteria to the infant mouth. *Sci Rep.* 2019, 10;9(1):8435. doi: 10.1038/s41598-019-42514-1.
59. **Oikonomou G, Addis MF, Chassard C, Nader-Macias MEF, Grant I, Delbès C, Bogni CI, Le Loir Y, Even S.** Milk Microbiota: What Are We Exactly Talking About? *Front Microbiol.* 2020, 14;11:60. doi: 10.3389/fmicb.2020.00060.
60. **Jiménez, E.; Fernández, L.; Maldonado, A.; Martín, R.; Olivares, M.; Xaus, J. et al.** Oral Administration of *Lactobacillus* Strains Isolated from Breast Milk as an Alternative for the Treatment of Infectious Mastitis during Lactation. *Appl Environ Microbiol.* 2008, 74, 4650-4655. doi: 10.1128/AEM.02599-07
61. **López-Moreno A. and Aguilera M.** Probiotics dietary supplementation for modulating endocrine and fertility microbiota dysbiosis. 2020, 12(3), 757; doi.org/10.3390/nu12030757.
62. **Doron, S.; Snyderman, D.** Risk and Safety of Probiotics. *Clin. Infect. Dis.* 2015, 60, S129-S134. doi: 10.1093/cid/civ085.
63. **Di Pierro, F.; Polzonetti, V.; Patrone, V.; Morelli, L.** Microbiological Assessment of the Quality of Some Commercial Products Marketed as *Lactobacillus crispatus*-Containing Probiotic Dietary Supplements. *Microorganisms* 2019, 7, E524. doi: 10.3390/microorganisms7110524.
64. **Ricci, A.; Allende, A.; Bolton, D.; Chemaly, M.; Davies, R.; Giromes, R. et al.** Scientific Opinion on the update of the list of QPS recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA. *EFSA Journal* 2017, 15, e04664.
65. **Food and Agriculture Organization/World Health Organization.** Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, ON: Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. 2002
66. **Rijkers, G.; Bengmark, S.; Enck, P.; Haller, D.; Herz, U.; Kalliomaki, M. et al.** Guidance for Substantiating the Evidence for Beneficial Effects of Probiotics: Current Status and Recommendations for Future Research. *J. Nutr.* 2010, 140, 671S-676S. doi: 10.3945/jn.109.113779
67. **Azaïs-Braesco, V.; Bresson, J.; Guarner, F.; Corthier, G.** Not all lactic acid bacteria are probiotics, ...but some are. *Br. J. Nutr.* 2010, 103, 1079-1081. doi: 10.1017/S0007114510000723
68. **Rijkers, G.; de Vos, W.; Brummer, R.; Morelli, L.; Corthier, G.; Marteau, P.** Health benefits and health claims of probiotics: bridging science and marketing. *Br. J. Nutr.* 2011, 106, 1291-1296. doi: 10.1017/S000711451100287x
69. **Kumar, H.; Salminen, S.; Verhagen, H.; Rowland, I.; Heimbach, J.; Bañares, S. et al.** Novel probiotics and prebiotics: road to the market. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2015, 32, 99-103. doi: 10.1016/j.copbio.2014.11.021
- Financiación:** A.L.M. está dentro del programa IniciaTC del "Plan Propio de Investigación UGR 2019-2020 de la UGR — OTRI-UGR en colaboración con la empresa Fertypharm S.L. A.L.M. tiene un contrato a través de la Iniciativa Intensificación de la Investigación de la OTRI-UGR
- Agradecimientos:** Ana López Moreno y Margarita Aguilera son parte del Grupo de Investigación BIO-190 de la Universidad de Granada. Margarita Aguilera coordina un proyecto de la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria