

TRABAJO FIN DE GRADO



**UCAM**

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE MURCIA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Grado en Medicina

Influencia de la microbiota vaginal en la infección por el  
VPH y la salud de la mujer

Autor: Carla Esparza Soler

Director: Eduardo Cazorla Amorós

Murcia, mayo de 2020







TRABAJO FIN DE GRADO



**UCAM**

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE MURCIA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Grado en Medicina

Influencia de la microbiota vaginal en la infección por el  
VPH y la salud de la mujer

Autor: Carla Esparza Soler

Director: Eduardo Cazorla Amorós

Murcia, mayo de 2020



## TRABAJO FIN DE GRADO



### DEFENSA TRABAJO FIN DE GRADO

DATOS DEL ALUMNO	
Apellidos: Esparza Soler	Nombre: Carla
DNI: 20845038-T	Grado en Medicina
Facultad de Ciencias de la Salud	
Título del trabajo: Influencia de la microbiota vaginal en la infección por el VPH y la salud de la mujer	

El Dr. Eduardo Cazorla Amorós tutor del trabajo reseñado arriba, acredita su idoneidad y otorgo el V.º B.º a su contenido para ir a Tribunal de Trabajo fin de Grado.

En Murcia, a 25 de abril de 2020

**EDUARDO|**  
**CAZORLA|**  
**AMOROS**

Firmado digitalmente  
por EDUARDO|  
CAZORLA|AMOROS  
Fecha: 2020.04.25  
07:01:39 +02'00'

Fdo.: Eduardo Cazorla Amorós



## ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS .....</b>	<b>9</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>11</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>13</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>15</b>
1.1 Composición de la microbiota vaginal.....	15
1.2 Asociación de la microbiota con la salud o enfermedad vaginal	15
1.3 Relación de la microbiota y el VPH .....	16
1.4 Relevancia de los prebióticos y probióticos en el VPH .....	17
<b>2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
3.1 Criterios de inclusión y exclusión.....	21
3.2 Estrategia de búsqueda de artículos .....	21
3.3 Evaluación de la calidad y evidencia científica.....	23
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>25</b>
4.1 Estudios incluidos .....	25
4.2 Características de los estudios incluidos .....	25
4.3 Resultados del estudio de calidad y evidencia científica .....	26
<b>5. DISCUSIÓN .....</b>	<b>29</b>
<b>6. CONCLUSIONES .....</b>	<b>35</b>
<b>7. PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>37</b>
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>39</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>45</b>
<b>10. TABLAS Y FIGURAS .....</b>	<b>49</b>



## **ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS**

**CVF:** fluido cérvicovaginal

**VMB:** microbiota vaginal

**CST:** tipo de estado comunitario

**VB:** vaginosis bacteriana

**VPH:** virus del papiloma humano

**AR-VPH:** virus del papiloma humano de alto riesgo

*L.: Lactobacillus*

*G.: Gardnerella*

*A.: Atopobium*

**NIC:** neoplasia intraepitelial cervical

**ITS:** infecciones de transmisión sexual



## RESUMEN

**Introducción:** Una microbiota vaginal monomicrobiana dominada por *Lactobacillus* protege la mucosa frente a microorganismos patógenos favoreciendo la salud en el tracto reproductivo femenino. Sin embargo, una microbiota polimicrobiana con prevalencia de especies estrictamente anaerobias predispone a adquirir infecciones de transmisión sexual, como el VPH.

**Objetivos:** Investigar la posible asociación que presenta la microbiota vaginal en el desarrollo, prevalencia y persistencia del VPH, evaluando si dicha interacción influye o no en la aparición del cáncer de cuello uterino.

**Material y métodos:** La búsqueda de artículos se realizó mediante las bases de datos de PubMed, Cochrane Library y Embase. Mediante escalas estandarizadas se evalúa la metodología, calidad, evidencia y grado de recomendación de cada estudio.

**Resultados y Discusión:** Se incluyeron 13 estudios entre ellos; ensayos clínicos, estudios de cohortes, revisiones sistemáticas y metaanálisis. La mayoría con un alto grado de validez y evidencia científica. Se aporta una tabla resumen para facilitar la síntesis de los resultados, se expone la población a estudio, los microorganismos implicados y el impacto positivo o negativo en la salud que desencadenan las bacterias de los diferentes estados comunitarios de la microbiota, así como las referencias que documentan lo descrito.

**Conclusiones:** Existe una correlación entre la mayor diversidad de la microbiota vaginal junto con una disminución de *Lactobacillus spp* y la severidad creciente de lesiones cervicales. Además, los estudios avalan la posible interacción entre la flora bacteriana y la neoplasia cervical. Sin embargo, debe estudiarse todavía más la expresión que comparte la microbiota con la inmunidad.

**Palabras clave:** microbiota, vagina, papilomavirus, VPH, VPH-16, probióticos



## **ABSTRACT**

**Introduction:** A monomicrobial vaginal microbiota dominated by *Lactobacillus* protects the mucosa from pathogenic microorganisms and promotes health in the female reproductive tract. However, a polymicrobial microbiota with a prevalence of strictly anaerobic species predisposes to acquire sexually transmitted infections, such as HPV.

**Objectives:** To investigate the possible association of the vaginal microbiota in the development, prevalence and persistence of HPV, to evaluate whether or not such interaction influences the onset of cervical cancer.

**Material and methods:** The search of the articles was carried out using the databases of PubMed, Cochrane Library and Embase. The methodology, quality, evidence and grade of recommendation of each study are evaluated using standardized scales.

**Results and Discussion:** 13 studies were included among them; clinical trials, cohort studies, systematic reviews and meta-analysis. Most with a high degree of validity and scientific evidence. A summary figure is provided to facilitate the synthesis of the results, the population under study, the microorganisms involved, and the positive or negative impact on health triggered by the bacteria of the different community states of the microbiota, as well as the references that document the described.

**Conclusions:** There is a correlation between increased diversity of vaginal microbiota along with a decrease in *Lactobacillus spp* and increased severity of cervical lesions. In addition, studies support the possible interaction between bacterial flora and cervical neoplasia. However, the expression shared by microbiota and immunity should be further studied.

**Keywords:** microbiota, vagina, papillomavirus, HPV, HPV-16, probiotics



## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Composición de la microbiota vaginal

El ecosistema de la mucosa vaginal<sup>(1)</sup> está formado por un epitelio escamoso estratificado cubierto por una capa mucosa lubricada por el fluido cérvicovaginal (CVF), cuya composición ayuda a mantener la microbiota vaginal (VMB). Recientemente, se ha definido la composición detallada de la microbiota vaginal a través de la secuenciación del gen 16s rRNA de alto rendimiento.

Se han identificado cinco comunidades microbianas<sup>(1,2,3)</sup>, que se definen como tipo de estado comunitario (CST). Cuatro CST están dominados por especies de *Lactobacillus* (L.) adaptadas al ambiente vaginal. Respecto el CST-I está formado por *Lactobacillus crispatus*; CST-II por *Lactobacillus gasseri*; CST-III por *Lactobacillus iners*; CST-V por *Lactobacillus jensenii*. El CST-IV está dominado por comunidades polimicrobianas, con prevalencia de especies estrictamente anaerobias como *Gardnerella*, *Atopobium*, *Mobiluncus*, *Megasphaera Prevotella*, *Streptococcus*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Dialister*, *Bacteroides*, etc.

### 1.2 Asociación de la microbiota con la salud o la enfermedad vaginal

Se denomina eubiosis vaginal<sup>(3-6)</sup> cuando la microbiota está dominada por especies de *Lactobacillus*. Estos microorganismos producen ácido láctico, manteniendo un pH vaginal bajo, y peróxido de hidrógeno, inhibiendo el crecimiento de bacterias catalasas negativas.

Los *Lactobacillus* se adhieren a las superficies epiteliales evitando la adhesión de bacterias, inhibiendo el desarrollo de anaerobios y promoviendo la autofagia de las células infectadas por virus, bacterias o protozoos. La salud en el tracto reproductivo femenino se asocia a la baja diversidad microbiana y al dominio por solo una o unas pocas especies de *Lactobacillus*.<sup>(3,7,8)</sup>

Niveles bajos de *Lactobacillus* junto con el sobrecrecimiento de anaerobios se denomina disbiosis vaginal,<sup>(3,4,9)</sup> como ocurre en la vaginosis bacteriana (VB), secreción vaginal maloliente, causada por la producción bacteriana de cadaverina y la N-acetil putrescina.

*Gardnerella* y *Prevotella* producen sialidasas, proteasas IgA y ácidos grasos de cadena corta, mejorando su adherencia a las células epiteliales, escapando de la inhibición mediada por anticuerpos y modulando el entorno inmunitario. Incluso en ausencia de sintomatología clínica, las mujeres que presentan un CST-IV asocian resultados adversos en la salud urogenital y reproductiva, presentando un mayor riesgo de adquirir infecciones de transmisión sexual.<sup>(4,6,7,10)</sup>

### **1.3 Relación de la microbiota y el VPH**

El virus del papiloma humano (VPH)<sup>(1)</sup> es la infección viral más común del tracto reproductivo femenino siendo la principal causa del desarrollo del cáncer cervical. La prevalencia mundial de infección genital por VPH se estima en 440 millones de personas, causando 510.000 casos de cáncer cervical y aproximadamente 288.000 muertes, por lo que conocer el papel de la microbiota vaginal puede suponer un gran impacto en la salud de la mujer.

La inflamación inducida por microbios puede contribuir al cáncer de cuello uterino<sup>(1,8)</sup> al estimular la producción de citocinas y quimiocinas específicas, que promueven la proliferación y/o inhiben la apoptosis. El VPH infecta la capa basal del epitelio escamoso cervical,<sup>(1,12)</sup> donde los genomas virales persisten como episomas en un número bajo de copias. La diferenciación de células epiteliales da lugar a que se produzcan altas copias de viriones que pueden liberarse de la superficie epitelial. La infección por VPH puede alterar el metabolismo de la mucosa y la inmunidad del huésped, induciendo cambios en la microbiota vaginal.

Actualmente, existen más de 100 subtipos de VPH,<sup>(13)</sup> con 13 identificados como de alto riesgo (AR-VPH) y causales de cáncer cervical en el

100% de los casos. Los VPH-16 y 18 son los más oncogénicos y son responsables de un 70% de los casos.

Se sabe que más de la mitad de las mujeres positivas al VPH muestran coinfección con 2 o 3 subtipos, lo cual es un factor de riesgo para desarrollar la persistencia del VPH. Además, la colonización con un subtipo de bajo riesgo puede predisponer a un subtipo de alto riesgo.<sup>(7)</sup>

Algunas infecciones por AR-VPH se resuelven clínicamente, mientras que otras persisten y causan displasia e incluso cáncer de cuello uterino. Se han identificado varios factores de riesgo para dicha progresión como el tabaquismo, los factores sexuales y la inmunosupresión.<sup>(3)</sup>

Se considera necesaria la infección persistente del VPH oncogénico para la carcinogénesis cervical.<sup>(14)</sup>

#### **1.4 Relevancia de los prebióticos y probióticos en VPH**

Se define probióticos como microorganismos vivos que al administrarlos en cantidades adecuadas, proporcionan un beneficio para la salud del huésped. Y los prebióticos son carbohidratos no digeribles que favorecen el crecimiento de bacterias saludables ya presentes en el cuerpo.<sup>(13)</sup>

En los últimos años, existe un interés creciente en la microbiota y en el concepto de mantener un equilibrio entre *Lactobacillus* y otras especies de bacterias para promover el bienestar de las mujeres.

La lactulosa utilizada como prebiótico puede estimular de manera específica a los *Lactobacillus* vaginales, sin promover el crecimiento de organismos disbióticos.<sup>(15)</sup> Además, se han conseguido efectos beneficiosos sobre la epitelización de la mucosa cervical y una tendencia a mejorar el estado de la microbiota vaginal junto con el aumento de concentración de *Lactobacillus* spp. a través del uso de un gel vaginal a base de *Coriolus versicolor*.<sup>(16)</sup>



## **2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

La importancia de la microbiota es un tema emergente en la patología genital femenina. Su relación con determinados trastornos como la vaginosis bacteriana, prevalencia y persistencia de la infección por el VPH hasta con lesiones precursoras de neoplasia ha sido objeto de distintas publicaciones e incluso con la comercialización de probióticos que parecen influir en la mejoría o curación de estas patologías. Es por ello que realizar una revisión y actualización bibliográfica del tema con estudio crítico de la validez del diseño de los estudios y los resultados obtenidos, puede ayudar a conocer el papel de la microbiota vaginal en la salud de la mujer.



### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

Este proyecto de investigación fue aprobado por el CEIm de los Hospitales Universitarios Torrevieja y Vinalopó con fecha 20-12-2019 y con el número de registro 2019.096 (Anexo 1, pág. 39 y 40)

#### **3.1 Criterios de inclusión y exclusión**

Para seleccionar los artículos de interés e incluirlos en la revisión, se describieron previamente los criterios de inclusión y exclusión, que son los descritos a continuación.

##### Criterios de inclusión:

- Intervención a estudio: la microbiota vaginal y su relación con el VPH.
- Sexo femenino de cualquier grupo étnico sanas o con patología ginecológica.
- Estudios realizados en humanos.
- Edad: mayores de 18 años.
- Diseño de estudio: ensayos clínicos aleatorizados, metaanálisis, estudios casos controles, estudios observacionales o descriptivos.
- Idioma de publicación: español o inglés.

##### Criterios de exclusión:

- Estudios exclusivamente realizados con microorganismos in vitro.
- Estudios realizados con animales.
- Menores de edad.
- Mujeres embarazadas.
- Mujeres con cualquier patología no ginecológica.
- Mujeres con algún tipo de tratamiento.

#### **3.2 Estrategia de búsqueda de artículos**

La siguiente metodología ha seguido las guías PRISMA, donde se utiliza la lista de comprobación de ítems para incluir o no publicaciones en la revisión sistemática. (Anexo 2, pág. 41)

Sin embargo, la mayoría de los artículos encontrados no eran metaanálisis por lo que se añadieron también ensayos clínicos, estudios de cohortes y revisiones sistemáticas.

La búsqueda bibliográfica ha sido realizada desde el 01-01-2015 hasta 20-02-2020 en PubMed, Cochrane Library y Embase.

Los artículos encontrados en Embase se incluían en Cochrane Library y de igual forma estos artículos los englobaba PubMed, por lo que finalmente la selección de artículos se realizó sobre esta última base de datos.

En los artículos originales se revisó también la bibliografía citada y se incorporaron a la revisión los trabajos relevantes no encontrados en la búsqueda inicial.

La primera búsqueda se realizó utilizando los términos MeSH, (((((((Microbiota[MeSH Terms]) OR microbiotas[MeSH Terms])) OR ((Microbiota[Title/Abstract]) OR Microbiotas[Title/Abstract]))) AND ((Vagina[MeSH Terms]) OR Vagina[Title/Abstract])) AND (((Papilloma[MeSH Terms]) OR Papilloma [Title/Abstract])) OR ((human papillomavirus 16[MeSH Terms]) OR Human papillomavirus 16[Title/Abstract])) OR (((hpv 16[MeSH Terms]) OR HPV-16[MeSH Terms]) OR hpv 16[Title/Abstract]) OR hpv 16[Title/Abstract])).

Especificando en la búsqueda tanto la aparición de los términos en el título como en el abstract de las diferentes publicaciones. Este resultado no varió al añadir el descriptor HPV-18.

La estrategia de la segunda búsqueda se realizó mediante los siguientes descriptores (("microbiota"[MeSH Terms] OR "microbiota"[All Fields]) AND ("vagina"[MeSH Terms] OR "vagina"[All Fields])) AND HPV[All Fields].

Además, se realiza una tercera búsqueda bibliográfica utilizando los términos MeSH (((microbiota[MeSH Terms]) AND microbiota[Title/Abstract] AND "last 5 years"[PDat])) AND ((vaginal[MeSH Terms]) AND

vaginal[Title/Abstract] AND "last 5 years"[PDat])) AND (probiotics AND "last 5 years"[PDat]) para acabar de completar el presente estudio.

### **3.3 Evaluación de calidad y evidencia científica**

Para llevar a cabo la lectura crítica de los artículos seleccionados así como la evaluación de su calidad metodológica, se ha utilizado los criterios del SIGN. (Anexo 3, pág. 42 y 43)

Estas evaluaciones se realizan por medio de escalas estandarizadas que evalúan la metodología en función de cada diseño de estudio. En este caso, se ha usado el checklist del SIGN aplicado a revisiones sistemáticas y metaanálisis.

Las posibles respuestas a cada uno de estos ítems son: positivo (+), en caso de cumplir con el requisito descrito o negativo (-) en caso de no cumplirlo. En el primer ítem de dicha tabla se debe cumplir tanto la pregunta de investigación como el hecho de nombrar los criterios de inclusión y exclusión, en el caso de faltar una de estas opciones se dará el resultado como negativo. (Tabla 2, pág. 51). Posteriormente, se asigna un punto cuando la respuesta es positiva y se realiza el sumatorio de cada ítem valorando la calidad del artículo sobre 12. (Tabla 3, pág. 52)

Por otra parte, independiente de la calidad del estudio, es de especial interés conocer el nivel de evidencia de este. Y dependiendo de dicho nivel, cada uno de los artículos podrá ofrecer un mayor o menor grado de recomendación.

Por consiguiente, se ha utilizado la clasificación de los niveles de evidencia desarrollada por Sackett con el objetivo de valorar el nivel de evidencia científica y el grado de recomendación de los diferentes estudios analizados. (Anexo 4, pág. 44)

En la evaluación metodológica, los artículos señalados mediante asterisco no corresponden a metaanálisis ni a revisión sistemática pero se ha adaptado su valoración a la misma tabla. En este caso, los dos estudios de cohortes que se incluyen son ambos prospectivos. Cabe destacar que los estudios realizados con probióticos y prebióticos no se califican como ensayos clínicos ya que no se consideran fármacos pero debida a la estructura que presentan en su publicación en el presente estudio si que se han considerado como tal.

El ensayo realizado por Palacios S. et al, 2017<sup>(9)</sup> es un estudio piloto prospectivo, abierto, realizado en mujeres asintomáticas en la práctica diaria y presenta un diseño o protocolo fijo. Se evalúa a las mismas mujeres tanto al inicio como al final del estudio, observando que el uso de *Coriolus Versicolor* si aumenta la reepitelización cervical. Por otro lado, el estudio realizado por Palma E. et al 2018<sup>(7)</sup> es un ensayo clínico abierto, aleatorizado con diseño o protocolo fijo con el objetivo de restablecer la eubiosis vaginal en mujeres afectas del VPH con vaginosis bacteriana o vaginitis añadiendo al tratamiento estándar un probiótico a corto plazo y en otro grupo prolongando la administración del probiótico 3 meses más.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1 Estudios incluidos**

La primera búsqueda realizada en PubMed reflejó 7 artículos, se descartaron los que no cumplían criterios de inclusión y se incorporó 1 de la bibliografía citada. En la base de datos de Cochrane Library no se mostró ningún resultado. Se incluyeron 3 artículos de esta búsqueda en el presente estudio. (Figura 1, pág. 53)

La segunda búsqueda en PubMed mostró 33 artículos y tras poner el filtro de los últimos 5 años se reflejaron 25. Los artículos que se seleccionaron de Embase los incluía PubMed. Y de los 3 artículos que mostró Cochrane Library se descartó uno por estar en proceso de investigación. De esta búsqueda se realizó una selección incluyendo 7 artículos al estudio. (Figura 2, pág. 54)

Después, se realizó una tercera búsqueda centrada en el uso de pro y prebióticos de la cual se obtuvieron 36 artículos en PubMed. Cochrane Library mostró 1 revisión sistemática y 78 ensayos, de los cuales 19 se incluían en PubMed y 27 en Embase. La revisión sistemática no coincidía con el patrón de estudio de esta revisión por lo que se descartó. Aplicando los criterios de inclusión y exclusión y realizando una revisión se seleccionaron 3 artículos. (Figura 3, pág. 55)

### **4.2 Características de los estudios incluidos**

Respecto a los metaánalisis incluidos, el realizado por Tamarelle J. et al, 2018<sup>(6)</sup> incluye artículos desde el año 2000 hasta el 2016, con el objetivo de evaluar la asociación entre diversas infecciones de transmisión sexual, incluyendo el VPH, y la microbiota vaginal. Aunque la búsqueda arrojó 1054 artículos solo se seleccionó 39 y 20 de ellos fueron utilizados para evaluar la

asociación entre VPH y microbiota vaginal. 6 estudios mostraron una asociación significativa y fueron significativamente heterogéneos ( $p < 0,001$ ).

El metaanálisis elaborado por Brusselaers N. et al, 2018<sup>(7)</sup> incluye artículos desde 2003 a 2017. El objetivo fue evaluar si la disbiosis vaginal afecta en la adquisición, persistencia y progresión del VPH al cáncer cervical. De los 1645 artículos se seleccionaron 15, principalmente de cohortes prospectivos.

El último metaanálisis incorporado al estudio, realizado por Norenhag J. et al, 2019<sup>(3)</sup> incluye artículos desde el 2000 hasta el 2018, cuyo objetivo fue evaluar la asociación de las composiciones de la microbiota con la infección del VPH, la displasia cervical y el cáncer. Presentando intervalos de confianza del 95%.

Una vez analizada la información proporcionada por los metaanálisis se realiza una selección de los artículos de los últimos 5 años para acabar de completar la evidencia actual sobre la influencia de la microbiota vaginal en la infección por el VPH y el impacto que esta presenta en la salud femenina.

A continuación, se realiza la agrupación de los resultados obtenidos para facilitar el entendimiento y la extracción de las conclusiones. (Tabla 1, pág. 49 y 50)

#### **4.3 Resultados del estudio de calidad y evidencia científica**

Posteriormente, se exponen unas tablas resumen valorando la calidad de los artículos mediante la escala SIGN y el nivel de evidencia y grado de recomendación según la clasificación de Sackett. (Tabla 2 y 3, pág. 51 y 52)

Respecto a los criterios de calidad metodológica la mayoría de ellos tienen una puntuación elevada. Los tres metaanálisis incluidos ofrecen la máxima puntuación, cumpliendo todos los ítems de la escala de SIGN.

Con estos resultados se concluye que la mayor parte de los artículos incluidos en el estudio son de elevada calidad con un nivel de evidencia y grado de recomendación alto.



## 5. DISCUSIÓN

Desde hace décadas ha sido bien documentado que las bacterias mantienen la homeostasis vaginal y que un desequilibrio o disbiosis puede estar asociado a un impacto negativo en la salud femenina.

La actual evidencia refleja que la microbiota vaginal desempeña un papel funcional, tanto protector como dañino.<sup>(18)</sup> Un CST-II se relaciona con la eliminación más rápida de una infección aguda por VPH y CST-IV se asocia a la disbiosis con un aumento del riesgo de infección.

Di Paola M. et al, 2017<sup>(19)</sup> analizaron 55 muestras cervicovaginales con AR-VPH + de 1029 mujeres y realizaron pirosecuenciación de 16S rADN. Estratificando un año después el muestreo inicial en, grupo de Liquidación, sin evidencia de ADN de AR-VPH; grupo Persistencia, AR- VPH + con al menos uno de los genotipos de VPH-ADN de la muestra de referencia. Y un grupo control de 17 muestras cervicovaginales VPH -. Mediante el análisis de odds ratio se confirmó que CST-IV, dominado por anaerobios, puede ser un factor de riesgo para la persistencia de la infección por AR-VPH ya que este CST prevalecía en el grupo de Persistencia, en comparación con el grupo Control. Además, también estuvo más representado en el grupo de persistencia el género *Atopobium* así como el gen que codifica la sialidasa de *Gardnerella vaginalis*, considerando ambos como marcadores microbianos de la persistencia del VPH. Cabe resaltar que otro estudio<sup>(20)</sup> afirma que *G. vaginalis* puede adherirse y desplazar a los *Lactobacillus* protectores aumentando la posibilidad de desarrollo de una lesión clonal de alto grado después de la infección del VPH.

Kwasniewski W. et al, 2018<sup>(20)</sup> plantearon la hipótesis de la posible asociación entre el desequilibrio de la microbiota vaginal y la carcinogénesis inducida por el VPH. Se recogieron hisopos de la microbiota cervical de 250 mujeres y se secuenció el ADN ribosómico 16S. La tasa más rápida de eliminación del VPH ocurrió en el grupo donde predominaba *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus iners* y *Lactobacillus taiwanensis*. La tasa de

depuración más baja prevalecía en mujeres con un mayor porcentaje de *Gardnerella vaginalis*.

La disbiosis puede dar lugar a un ambiente proinflamatorio favoreciendo los pasos para la transformación viral, incluida la expresión de E6 y E7, la inestabilidad genómica, la integración viral, y la activación de la telomerasa, los cuales son necesarios para la carcinogénesis. Así mismo, la alta diversidad en el ecosistema vaginal pueden producir sialidasas que provocan la descomposición de la mucosidad, predisponiendo el epitelio cervical al daño tisular así como produciendo aminas, las cuales son responsables del estrés oxidativo, mecanismo fundamental en la carcinogénesis inducida por el VPH. Ciertas especies de *Lactobacillus* son capaces de eliminar esas aminas reduciendo así el riesgo de daño oxidativo. Por lo que una microbiota vaginal dominada por *Lactobacillus* podría reducir la carga de enfermedad relacionada con el VPH.

La evidencia científica de los metaanálisis revela que las mujeres sexualmente activas con disbiosis vaginal presentan un mayor riesgo a contraer la infección por el VPH, siendo más propensas a la persistencia de este y con un mayor riesgo de progresión a la enfermedad cervical premaligna y maligna asociada.<sup>(6,7)</sup>

En el metaanálisis elaborado por Brusselaers N. et al, 2018<sup>(7)</sup> se refleja un vínculo causal entre la disbiosis vaginal y el cáncer de cuello uterino a lo largo de la vía oncogénica de adquisición, persistencia y desarrollo de la displasia cervicovaginal del VPH.

Mitra A. et al, 2016<sup>(13)</sup> estudiaron una cohorte de 169 mujeres con diferentes grados de lesiones cervicales, demostrando que *Atopobium vaginae* y *Lactobacillus iners* presentaban un mayor riesgo de progresión neoplásica en mujeres con VPH + mientras que *Sneathia sanguinegens* y otras especies de *Fusobacterias*, *Anaerococcus tetradius* y *Peptostreptococcus anaerobius* estaban asociados con un aumento en la gravedad de la enfermedad. Destacar

que se consideró a *Sneathia spp* como un importante marcador para la progresión de la neoplasia intraepitelial cervical (NIC) ya que estaba enriquecido tanto en mujeres con VPH + sin lesiones de ningún grado como en mujeres con lesiones precancerosas y cáncer cervical.

Se ha demostrado que la composición de la microbiota influye en la asociación de un tipo de papilomavirus u otro. Huang X. et al, 2018<sup>(21)</sup> estudiaron a 280 mujeres infectadas por un tipo de VPH y mediante la secuenciación pirógena de genes 16rRNA se observó que una composición de *Oribacterium*, *Lachnobacterium* y *Thermus* en la microbiota cervicovaginal es más probable que se asocie con el VPH 16.

Sin embargo, no se ha dilucidado con exactitud la expresión que comparte la microbiota asociada a los diferentes cambios inmunológicos que presenta el paciente. Se debe tener en cuenta, tal y como refleja el metaanálisis publicado por Norenhag J. et al, 2019<sup>(3)</sup>, que pueden existir diferencias étnicas entre los sistemas inmunes tanto innato como adaptativo. Debe estudiarse todavía más la firma inmunológica de la infección por VPH en la microbiota vaginal, obteniendo más datos para obtener una comprensión completa de cómo las infecciones por VPH son moduladas por el entorno vaginal dando lugar a la eliminación del virus, su persistencia en ausencia de sintomatología o el desarrollo del cáncer cervical.

En el metaanálisis publicado por Norenhag J. et al, 2019<sup>(3)</sup> se sugiere además que no solo se debe diferenciar entre una microbiota vaginal dominada o no por *Lactobacillus* sino un estudio más específico del CST ya que este influirá en la adquisición y progresión del VPH al cáncer cervical. Este apunte merece especial atención ya que es posible que las mujeres con una microbiota vaginal específica requieran controles más frecuentes para impedir que se de lugar a la neoplasia cervical.

Cuidar la microbiota vaginal es un hecho que debe empezar sin presencia de enfermedad, se deben eliminar los factores que se correlacionan con las tasas de persistencia para el desarrollo de NIC de alto grado como el tabaquismo o la infección por *Chlamydia trachomatis*. Conseguir una microflora

saludable manteniendo un equilibrio especial entre *Lactobacillus* y otras especies bacterianas parece beneficiarse en el control de la infección por el VPH, y para ello resulta relevante el uso de pre y probióticos.

Palma E. et al, 2018 publicó un estudio piloto<sup>(17)</sup> con 117 mujeres afectadas por VB o vaginitis con infecciones concomitantes por VPH. Se diferenció el grupo 1 donde se administró el tratamiento estándar para la VB (metronidazol o fluconazol) más *Lactobacillus rhamnosus* BMX 54 vaginal a corto plazo (3 meses) y el grupo 2 donde se pautó el mismo tratamiento estándar más *Lactobacillus* vaginal de larga duración (6 meses). Después de 14 meses, la posibilidad de resolver las anomalías citológicas relacionadas con el VPH fue dos veces mayor en las usuarias de probióticos a largo plazo que en el grupo de implementación de probióticos a corto plazo. Además, se demostró un aclaramiento total del VPH del 31,2% en usuarias de *Lactobacillus* a largo plazo frente al 11,6% de las pacientes con uso de probióticos de corta duración. En este estudio se muestra un control de la infección por VPH utilizando probióticos y se sugiere que la implementación de estos al menos 6 meses puede ser útil para restablecer la microflora y el equilibrio vaginal pudiendo beneficiarse así en el control de la infección por VPH. *Lactobacilli* BMX 54 utilizado a largo plazo ha demostrado evidencia clínica de efectividad para restablecer el ecosistema vaginal equilibrado.

El presente estudio refleja una evidencia científica actual ya que la revisión sistemática ha sido realizada sobre los últimos 5 años y los artículos incluidos muestran una elevada calidad con un alto grado de recomendación, por lo que puede ser el primer paso para promover futuros proyectos que conduzcan a la creación de nuevas estrategias preventivas para la neoplasia cervical. Resaltar además, la importancia de la realización de estudios que comparen las mujeres que han desarrollado o no premalignidad presentando una infección oncogénica persistente por el VPH.

No obstante, este estudio presenta algunas limitaciones ya que en la mayoría de los artículos incluidos no se incluye el factor inmunidad, los estudios realizados con probióticos no abarcan a un gran número de componentes y no todos ellos realizan el seguimiento durante un periodo de

tiempo prolongado. Por lo tanto, se precisan estudios con muestras más grandes y de largo seguimiento para corroborar los resultados.



## 6. CONCLUSIONES

Existe una correlación entre la mayor diversidad de la microbiota vaginal junto con una disminución de la abundancia de las especies de *Lactobacillus* y la severidad creciente de las lesiones cervicales.

Diversos estudios avalan la posible interacción entre la flora bacteriana y la infección por el VPH, así como una asociación entre esta interacción y la neoplasia cervical. Sin embargo, se debe ampliar la evidencia científica sobre la expresión que comparte la microbiota asociada a los diferentes cambios inmunológicos que presenta la persona.

Actualmente, la disbiosis vaginal se considera un factor de riesgo poco estudiado pero muy relevante en la epidemiología del VPH y el desarrollo del cáncer de cuello uterino.

La prevención del VPH y el correcto manejo de la disbiosis vaginal probablemente disminuirán significativamente la morbilidad por neoplasia cervical.



## **7. PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

### **Hipótesis o pregunta de investigación**

La composición de la microbiota vaginal puede afectar en la adquisición, persistencia y progresión del VPH a cáncer de cuello uterino.

### **Objetivos**

Conocer la asociación de la microbiota vaginal en el desarrollo, prevalencia y persistencia del VPH, evaluando dicha influencia en la aparición del cáncer cervical.

### **Metodología**

Diseñar un estudio de intervención en el que, en función de lo revisado en la bibliografía, se administrara un probiótico vía vaginal a un grupo homogéneo de mujeres (por ejemplo entre 18 y 40 años). Sería un estudio doble ciego controlado por placebo en el que se ofrecería el probiótico a mujeres portadoras de VPH y se realizaría un control posterior, para observar si hay cambio en comparación con el grupo control.

### **Plan de trabajo**

Diseñar y llevar a cabo el cronograma de actuación realizando una comparación entre grupo placebo y grupo control durante un periodo de tiempo acotado.

### **Aspectos éticos de la investigación**

Teniendo en consideración cuestiones relacionadas con el cumplimiento de las normativas éticas de buenas prácticas clínicas, ajustándose a la Declaración de Helsinki así como la legislación vigente en materia de protección de datos y con la aprobación por parte de un CEIm.



## 8. ANEXOS

### Anexo 1: Aprobación por el CEIm



#### DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS

D. Alejandro Jover Botella, Jefe de la Secretaría Técnica y D. Eduardo Cazorla Amorós, Presidente del Comité Ético de Investigación con Medicamentos de los Hospitales Universitarios Torrevieja y Elche-Vinalopó,

#### CERTIFICAN

Que este CEIm, en su reunión de fecha 18/12/2019 ha evaluado el proyecto de investigación presentado por Carla Esparza Soler para la realización del estudio en el centro: Hospital Universitario de Vinalopó.

Número de registro: 2019.096

Título completo: Influencia de la microbiota vaginal en la infección por el VPH y la salud de la mujer

Que teniendo en consideración cuestiones relacionadas con el cumplimiento de las normativas éticas y de Buena Práctica Clínica establecidas para este tipo de estudios así como la legislación vigente en materia de Protección de datos,

Se decide emitir **DICTAMEN Favorable**.

Que en dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum preceptivo legalmente y que, en el caso de evaluación de algún estudio del que algún integrante del equipo investigador forme parte de este CEIm, éste se ausentará durante la deliberación y votación del mismo.

Que el comité tanto en su composición como en sus PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95), con la legislación vigente que regula su funcionamiento, así como la normativa autonómica en materia de investigación aplicable de la Comunitat Valenciana; y su composición actual es la indicada en el anexo I.

Lo que firmo en Elche, a 20 de diciembre de 2019

Eduardo Cazorla Amorós



Alejandro Jover Botella

## ANEXO I

### Composición actual del CEIm

**Presidente:**

- Eduardo Cazorla Amorós (Médico)

**Vicepresidente:**

- Simona Mas Antón (Médico)

**Secretario:**

- Alejandro Jover Botella (Farmacéutico Hospitalario)

**Vocales:**

- María Almenro Candel (Médico)
- Julio César Blázquez Encinar (Médico)
- Andrés Tomás Gómez (Médico)
- María Marín Palazón (Médico)
- Javier López Solís (Diplomado en Enfermería)
- Carlos Marqués Espí (Licenciado en Derecho. Miembro del Comité de Bioética)
- Joaquín Quiles (Miembro Lego no vinculado laboralmente a los centros)
- Clara Cobo Cervantes (Médico)
- Ramón García García (Farmacéutico Hospitalario)
- Angélica Valderrama Rodríguez (Farmacólogo Clínico)

## Anexo 2: La declaración de PRISMA

Lista de comprobación de los ítems para incluir en la publicación de una revisión sistemática (con o sin metaanálisis). La declaración PRISMA

Sección/tema	Número	Ítem
<b>Título</b>		
Título	1	Identificar la publicación como revisión sistemática, metaanálisis o ambos
<b>Resumen</b>		
Resumen estructurado	2	Facilitar un resumen estructurado que incluya, según corresponda: antecedentes; objetivos; fuente de los datos; criterios de elegibilidad de los estudios, participantes e intervenciones; evaluación de los estudios y métodos de síntesis; resultados; limitaciones; conclusiones e implicaciones de los hallazgos principales; número de registro de la revisión sistemática
<b>Introducción</b>		
Justificación	3	Describir la justificación de la revisión en el contexto de lo que ya se conoce sobre el tema
Objetivos	4	Plantear de forma explícita las preguntas que se desea contestar en relación con los participantes, las intervenciones, las comparaciones, los resultados y el diseño de los estudios (PICOS)*
<b>Métodos</b>		
Protocolo y registro	5	Indicar si existe un protocolo de revisión al que se pueda acceder (por ej., dirección web) y, si está disponible, la información sobre el registro, incluyendo su número de registro
Criterios de elegibilidad	6	Especificar las características de los estudios (por ej., PICOS, duración del seguimiento) y de las características (por ej., años abarcados, idiomas o estatus de publicación) utilizadas como criterios de elegibilidad y su justificación
Fuentes de información	7	Describir todas las fuentes de información (por ej., bases de datos y períodos de búsqueda, contacto con los autores para identificar estudios adicionales, etc.) en la búsqueda y la fecha de la última búsqueda realizada
Búsqueda	8	Presentar la estrategia completa de búsqueda electrónica en, al menos, una base de datos, incluyendo los límites utilizados, de tal forma que pueda ser reproducible
Selección de los estudios	9	Especificar el proceso de selección de los estudios (por ej., el cribado y la elegibilidad incluidos en la revisión sistemática y, cuando sea pertinente, incluidos en el metaanálisis)
Proceso de extracción de datos	10	Describir los métodos para la extracción de datos de las publicaciones (por ej., formularios pilotado, por duplicado y de forma independiente) y cualquier proceso para obtener y confirmar datos por parte de los investigadores
Lista de datos	11	Listar y definir todas las variables para las que se buscaron datos (por ej., PICOS, fuente de financiación) y cualquier asunción y simplificación que se hayan hecho
Riesgo de sesgo en los estudios individuales	12	Describir los métodos utilizados para evaluar el riesgo de sesgo en los estudios individuales (especificar si se realizó al nivel de los estudios o de los resultados) y cómo esta información se ha utilizado en la síntesis de datos
Medidas de resumen	13	Especificar las principales medidas de resumen (por ej., razón de riesgos o diferencia de medias)
Síntesis de resultados	14	Describir los métodos para manejar los datos y combinar resultados de los estudios, cuando esto es posible, incluyendo medidas de consistencia (por ej., ítem 2) para cada metaanálisis
Riesgo de sesgo entre los estudios	15	Especificar cualquier evaluación del riesgo de sesgo que pueda afectar la evidencia acumulativa (por ej., sesgo de publicación o comunicación selectiva)
Análisis adicionales	16	Describir los métodos adicionales de análisis (por ej., análisis de sensibilidad o de subgrupos, metarregresión), en el caso de que se hiciera, indicar cuáles fueron preespecificados
<b>Resultados</b>		
Selección de estudios	17	Facilitar el número de estudios cribados, evaluados para su elegibilidad e incluidos en la revisión, y detallar las razones para su exclusión en cada etapa, idealmente mediante un diagrama de flujo
Características de los estudios	18	Para cada estudio presentar las características para las que se extrajeron los datos (por ej., tamaño, PICOS y duración del seguimiento) y proporcionar las citas bibliográficas
Riesgo de sesgo en los estudios	19	Presentar datos sobre el riesgo de sesgo en cada estudio y, si está disponible, cualquier evaluación del sesgo en los resultados (ver ítem 12)
Resultados de los estudios individuales	20	Para cada resultado considerado en cada estudio (beneficios o daños), presentar: a) el dato resumen para cada grupo de intervención y b) la estimación del efecto con su intervalo de confianza, idealmente de forma gráfica mediante un diagrama de bosque ( <i>forest plot</i> )
Síntesis de los resultados	21	Presentar los resultados de todos los metaanálisis realizados, incluyendo los intervalos de confianza y las medidas de consistencia
Riesgo de sesgo entre los estudios	22	Presentar los resultados de cualquier evaluación del riesgo de sesgo entre los estudios (ver ítem 15)
Análisis adicionales	23	Facilitar los resultados de cualquier análisis adicional, en el caso de que se hayan realizado (por ej., análisis de sensibilidad o de subgrupos, metarregresión [ver ítem 16])
<b>Discusión</b>		
Resumen de la evidencia	24	Resumir los hallazgos principales, incluyendo la fortaleza de las evidencias para cada resultado principal; considerar su relevancia para grupos clave (por ej., proveedores de cuidados, usuarios y decisores en salud)
Limitaciones	25	Discutir las limitaciones de los estudios y de los resultados (por ej., riesgo de sesgo) y de la revisión (por ej., obtención incompleta de los estudios identificados o comunicación selectiva)
Conclusiones	26	Proporcionar una interpretación general de los resultados en el contexto de otras evidencias, así como las implicaciones para la futura investigación
<b>Financiación</b>		
Financiación	27	Describir las fuentes de financiación de la revisión sistemática y otro tipo de apoyos (por ej., aporte de los datos), así como el rol de los financiadores en la revisión sistemática

### ANEXO 3: Escala SIGN (Scottish Intercollegiate Guidelines Network)

 <b>SIGN</b>	<b>Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses</b>  SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: <i>Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C., et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <a href="http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10">http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10</a> [cited 10 Sep 2012]</i>	
Study identification ( <i>Include author, title, year of publication, journal title, pages</i> )		
Guideline topic:		Key Question No:
<b>Before</b> completing this checklist, consider: Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.		
Checklist completed by:		
<b>SECTION 1: INTERNAL VALIDITY</b>		
<i>In a well conducted systematic review:</i>		<i>Does this study do it?</i> _____
1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>  <b>If no reject</b>
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>  Not applicable <input type="checkbox"/>  <b>If no reject</b>
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>

1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>

**ANEXO 4: Clasificación de los niveles de evidencia y grados de recomendación según Sackett**

<b>Nivel de evidencia</b>	<b>Tipo de estudio</b>
1a	Revisión sistemática con homogeneidad y meta-análisis de ensayos clínicos
1b	Ensayos clínicos individuales con intervalo de confianza estrecho
2a	Revisión sistemática con homogeneidad de estudios de cohortes
2b	Estudio de cohortes individual o ensayo clínico de baja calidad
3a	Revisión sistemática con homogeneidad de estudios de casos y controles
3b	Estudio de casos y controles individuales
4	Series de casos. Estudio de cohortes y casos y controles de mala calidad
5	Opinión de expertos sin evaluación crítica explícita, o basada en fisiología, o en investigación teórica

<b>Grado de recomendación</b>	<b>Nivel de evidencia</b>
A	Estudios de nivel 1
B	Estudios de nivel 2 y 3
C	Estudios de nivel 4
D	Estudios de nivel 5

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Torcia MG. Interplay among Vaginal Microbiome, Immune Response and Sexually Transmitted Viral Infections. *Int J Mol Sci.* 2019 Jan 11;20(2). pii: E266. doi: 10.3390/ijms20020266.
2. Borgogna JC, Shardell MD, Santori EK, Nelson TM, Rath JM, Glover ED, et al. The vaginal metabolome and microbiota of cervical HPV-positive and HPV-negative women: a cross-sectional analysis. *BJOG.* 2020 Jan;127(2):182-192. doi: 10.1111/1471-0528.15981.
3. Norenhag J, Du J, Olovsson M, Verstraelen H, Engstrand L, Brusselaers N. The vaginal microbiota, human papillomavirus and cervical dysplasia: a systematic review and network meta-analysis. *BJOG.* 2020 Jan;127(2):171-180. doi: 10.1111/1471-0528.15854.
4. Tachedjian G, Aldunate M, Bradshaw CS, Cone RA. The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Res Microbiol.* 2017 Nov - Dec;168(9-10):782-792. doi: 10.1016/j.resmic.2017.04.001.
5. Anahtar MN, Gootenberg DB, Mitchell CM, Kwon DS. Cervicovaginal Microbiota and Reproductive Health: The Virtue of Simplicity. *Cell Host Microbe.* 2018 Feb 14;23(2):159-168. doi: 10.1016/j.chom.2018.01.013.
6. Tamarelle J, Thiébaud ACM, de Barbeyrac B, Bébéar C, Ravel J, Delarocque-Astagneau E. The vaginal microbiota and its association with human papillomavirus, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Mycoplasma genitalium* infections: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2019 Jan;25(1):35-47. doi: 10.1016/j.cmi.2018.04.019.
7. Brusselaers N, Shrestha S, van de Wijgert J, Verstraelen H. Vaginal dysbiosis and the risk of human papillomavirus and cervical cancer:

- systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2019 Jul;221(1):9-18.e8. doi: 10.1016/j.ajog.2018.12.011.
8. Van de Wijgert JH, Borgdorff H, Verhelst R, Crucitti T, Francis S, Verstraelen H, et al. The vaginal microbiota: what have we learned after a decade of molecular characterization? *PLoS One.* 2014 Aug 22;9(8):e105998. doi:10.1371/journal.pone.0105998.
  9. Reimers LL, Mehta SD, Massad LS, Burk RD, Xie X, Ravel J, et al. The Cervicovaginal Microbiota and Its Associations With Human Papillomavirus Detection in HIV-Infected and HIV-Uninfected Women. *J Infect Dis.* 2016 Nov 1;214(9):1361-1369.
  10. Dareng EO, Ma B, Famooto AO, Adebamowo SN, Offiong RA, Olaniyan O, et al. Prevalent high-risk HPV infection and vaginal microbiota in Nigerian women. *Epidemiol Infect.* 2016 Jan;144(1):123-37. doi: 10.1017/S0950268815000965.
  11. Klein C, Kahesa C, Mwaiselage J, West JT, Wood C, Angeletti PC. How the Cervical Microbiota Contributes to Cervical Cancer Risk in Sub-Saharan Africa. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020 Feb 12;10:23. doi: 10.3389/fcimb.2020.00023.
  12. Godoy-Vitorino F, Romaguera J, Zhao C, Vargas-Robles D, Ortiz-Morales G, Vázquez-Sánchez F, et al. Cervicovaginal Fungi and Bacteria Associated With Cervical Intraepithelial Neoplasia and High-Risk Human Papillomavirus Infections in a Hispanic Population. *Front Microbiol.* 2018 Oct 23;9:2533. doi: 10.3389/fmicb.2018.02533.
  13. Mitra A, MacIntyre DA, Marchesi JR, Lee YS, Bennett PR, Kyrgiou M. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? *Microbiome.* 2016 Nov1;4(1):58.

14. Mitra A, MacIntyre DA, Lee YS, Smith A, Marchesi JR, Lehne B, et al. Cervical intraepithelial neoplasia disease progression is associated with increased vaginal microbiome diversity. *Sci Rep.* 2015 Nov 17;5:16865. doi:10.1038/srep16865.
15. Collins SL, McMillan A, Seney S, van der Veer C, Kort R, Sumarah MW, et al. Promising Prebiotic Candidate Established by Evaluation of Lactitol, Lactulose, Raffinose, and Oligofructose for Maintenance of a Lactobacillus-Dominated Vaginal Microbiota. *Appl Environ Microbiol.* 2018 Feb 14;84(5). pii: e02200-17. doi: 10.1128/AEM.02200-17.
16. Palacios S, Losa F, Dexeus D, Cortés J. Beneficial effects of a *Coriolus versicolor*-based vaginal gel on cervical epithelization, vaginal microbiota and vaginal health: a pilot study in asymptomatic women. *BMC Womens Health.* 2017 Mar 16;17(1):21. doi: 10.1186/s12905-017-0374-2.
17. Palma E, Recine N, Domenici L, Giorgini M, Pierangeli A, Panici PB. Long-term *Lactobacillus rhamnosus* BMX 54 application to restore a balanced vaginal ecosystem: a promising solution against HPV-infection. *BMC Infect Dis.* 2018 Jan 5;18(1):13. doi: 10.1186/s12879-017-2938-z.
18. Kyrgiou M, Mitra A, Moscicki AB. Does the vaginal microbiota play a role in the development of cervical cancer? *Transl Res.* 2017 Jan;179:168-182. doi: 10.1016/j.trsl.2016.07.004.
19. Di Paola M, Sani C, Clemente AM, Iossa A, Perissi E, Castronovo G, et al. Characterization of cervico-vaginal microbiota in women developing persistent high-risk Human Papillomavirus infection. *Sci Rep.* 2017 Aug 31;7(1):10200. doi: 10.1038/s41598-017-09842-6.
20. Kwasniewski W, Wolun-Cholewa M, Kotarski J, Warchol W, Kuzma D, Kwasniewska A, et al. Microbiota dysbiosis is associated with HPV-induced cervical carcinogenesis. *Oncol Lett.* 2018 Dec;16(6):7035-7047. doi: 10.3892/ol.2018.9509.

21. Huang X, Li C, Li F, Zhao J, Wan X, Wang K. Cervicovaginal microbiota composition correlates with the acquisition of high-risk human papillomavirus types. *Int J Cancer*. 2018 Aug 1;143(3):621-634. doi: 10.1002/ijc.31342.

## 10. TABLAS Y FIGURAS

Referencias bibliográficas	Población a estudio	Microbiota vaginal	Vínculo en la salud. Relación con VPH
<b>Mitra A. et al, 2016</b> <sup>(13)</sup>	Mujeres en rango de fertilidad y premenopáusicas con VPH.	- Mayor diversidad y menor proporción de <i>Lactobacillus spp.</i> - <i>A. vaginae</i> , <i>G. vaginalis</i> junto con minoría de <i>L.crispatus</i> .	Mayor riesgo en la prevalencia del VPH y evolución a NIC y cáncer cervical.
<b>Mitra A. et al, 2016</b> <sup>(13)</sup> <b>Kyrgiou M. et al, 2017</b> <sup>(18)</sup> <b>Tamarelle J. et al, 2018</b> <sup>(6)</sup> <b>Brusselaers N. et al, 2018</b> <sup>(7)</sup>	Pacientes sanas.	Aumento de <i>Lactobacillus spp.</i>	Ejerce efectos citotóxicos sobre las células tumorales cervicales e inhibe el crecimiento anaerobio asociado a CST-IV.
<b>Mitra A. et al, 2016</b> <sup>(13)</sup> <b>Kwasniewski W. et al, 2018</b> <sup>(20)</sup> <b>Anahtar MN. et al 2018</b> <sup>(5)</sup>	Mujeres con ausencia de patología ginecológica.	Aumento de <i>L.crispatus</i> .	- Su presencia se asocia con la salud. - Menos probabilidad de contraer ITS.
<b>Mitra A. et al, 2016</b> <sup>(13)</sup>	Mujeres sanas.	Aumento de <i>L. Gasserii</i> .	Eliminación rápida de las infecciones por VPH.

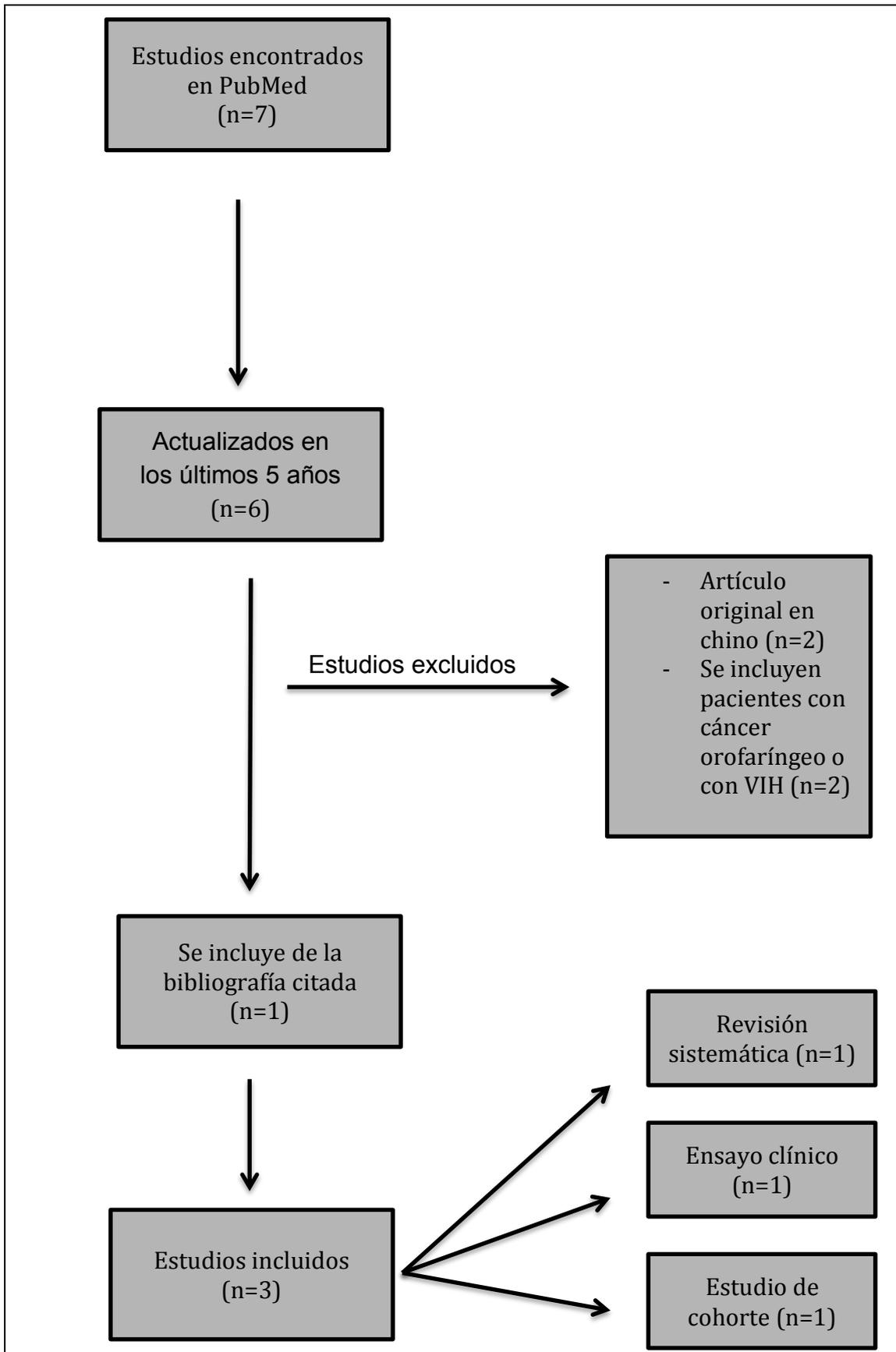
<p><b>Mitra A. et al, 2016<sup>(13)</sup></b>  <b>Torca MG,2019<sup>(1)</sup></b>  <b>Anahtar MN. et al 2018<sup>(5)</sup></b></p>	<p>Mujeres premenopáusicas con o sin infección por VPH.</p>	<p>Aumento de <i>Sneathia spp.</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Se asocia a aborto espontáneo y parto prematuro.</li> <li>- Implicada en la carcinogénesis colorrectal.</li> <li>- Marcador microbiológico para evolución a NIC.</li> </ul>
<p><b>Torca MG,2019<sup>(1)</sup></b>  <b>Di Paola M. et al, 2017<sup>(19)</sup></b>  <b>Anahtar MN. et al 2018<sup>(5)</sup></b>  <b>Tamarelle J. et al, 2018<sup>(6)</sup></b>  <b>Norenhag J. et al, 2019<sup>(3)</sup></b></p>	<p>Mujeres sexualmente activas y premenopáusicas</p>	<p><i>Atopobium, Prevotella, Gardnerella y Megasphaera.</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Se asocian a VB y tasa más baja de eliminación de infecciones</li> <li>- Mayor riesgo de persistencia del VPH</li> <li>- Se considera el género <i>Atopobium</i> y el gen sialidasa de <i>Gardnerella vaginalis</i> marcadores microbianos de persistencia del VPH</li> </ul>
<p><b>Kwasniewski W. et al, 2018<sup>(20)</sup></b>  <b>Kyrgiou M. et al, 2017<sup>(18)</sup></b>  <b>Norenhag J. et al, 2019<sup>(3)</sup></b></p>	<p>Pacientes con VPH.</p>	<p>Abundante <i>G. vaginalis</i> y <i>L. acidophilus</i> con ausencia de <i>L. taiwanensis</i>, <i>L. iners</i> y <i>L. Crispatus</i>.</p>	<p>Alto riesgo de progresión a cáncer de cuello uterino si no se trata.</p>
<p><b>Tabla 1:</b> Resultados obtenidos de los artículos incluidos en la revisión sistemática.</p>			

Autoría	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Torcía MG, 2019<sup>(1)</sup></b>	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+
<b>Norenhag J. et al, 2019<sup>(3)</sup></b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Tachedjian G. et al, 2017<sup>(4)</sup></b>	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+
<b>Anahtar MN. et al 2018<sup>(5)</sup></b>	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-
<b>Tamarelle J. et al, 2018<sup>(6)</sup></b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Brusselaers N. et al, 2018<sup>(7)</sup></b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Mitra A. et al, 2016<sup>(13)</sup></b>	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
<b>*Collins SL. et al, 2017<sup>(15)</sup></b>	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-
<b>*Palacios S. et al, 2017<sup>(16)</sup></b>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
<b>*Palma E. et al, 2018<sup>(17)</sup></b>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
<b>Kyrgiou M. et al, 2017<sup>(18)</sup></b>	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
<b>**Di Paola M. et al, 2017<sup>(19)</sup></b>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+
<b>**Kwasniewski W. et al, 2018<sup>(20)</sup></b>	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+

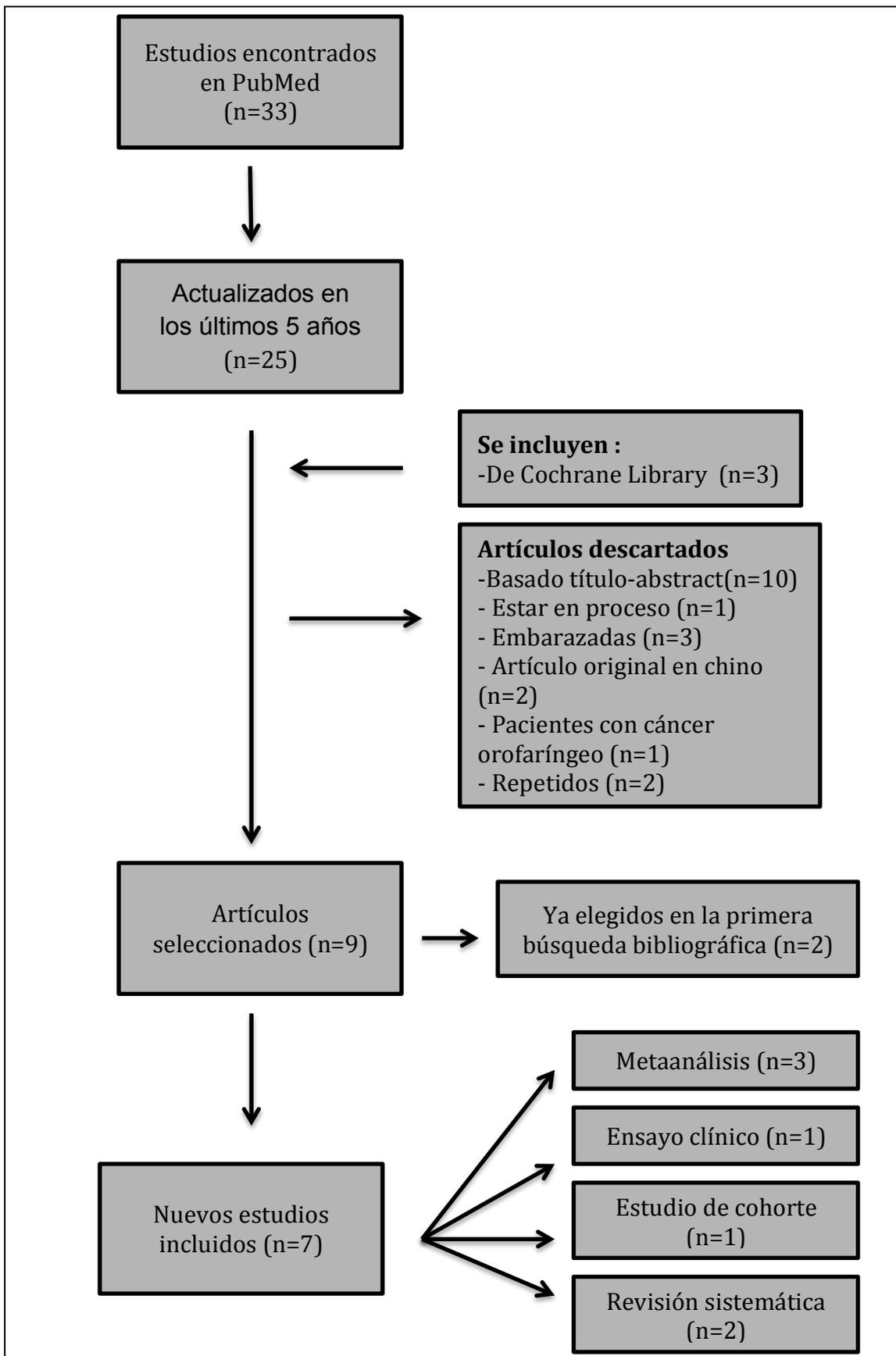
**Tabla 2:** Evaluación metodológica de los artículos incluidos mediante el checklist de SIGN. (\*) Ensayos clínicos (\*\*) Estudios de cohortes

<b>ARTÍCULO</b>	<b>NIVEL DE EVIDENCIA/GRADO DE RECOMENDACIÓN</b>	<b>ESCALA SIGN</b>
<b>Torcia MG, 2019<sup>(1)</sup></b>	Evidencia 3a Recomendación B	6/12
<b>Norehag J. et al, 2019<sup>(3)</sup></b>	Evidencia 1a Recomendación A	12/12
<b>Tachedjian G. et al, 2017<sup>(4)</sup></b>	Evidencia 3a Recomendación B	6/12
<b>Anahtar MN. et al 2018<sup>(5)</sup></b>	Evidencia 3a Recomendación B	6/12
<b>Tamarelle J. et al, 2018<sup>(6)</sup></b>	Evidencia 1a Recomendación A	12/12
<b>Brusselaers N. et al, 2018<sup>(7)</sup></b>	Evidencia 1a Recomendación A	12/12
<b>Mitra A. et al, 2016<sup>(13)</sup></b>	Evidencia 3a Recomendación B	8/12
<b>Collins SL. et al, 2017<sup>(15)</sup></b>	Evidencia 1b Recomendación A	6/12
<b>Palacios S. et al, 2017<sup>(16)</sup></b>	Evidencia 1b Recomendación A	9/12
<b>Palma E. et al, 2018<sup>(17)</sup></b>	Evidencia 1b Recomendación A	9/12
<b>Kyrgiou M. et al, 2017<sup>(18)</sup></b>	Evidencia 3a Recomendación B	8/12
<b>Di Paola M. et al, 2017<sup>(19)</sup></b>	Evidencia 2b Recomendación B	9/12
<b>Kwasniewski W. et al, 2018<sup>(20)</sup></b>	Evidencia 2b Recomendación B	9/12

**Tabla 3:** Evaluación del nivel de evidencia/grado de recomendación (Sackett) y calidad (SIGN) de los artículos incluidos en la revisión.



**Figura 1:** Diagrama de flujo de la primera búsqueda bibliográfica.



**Figura 2:** Diagrama de flujo de la segunda búsqueda bibliográfica.

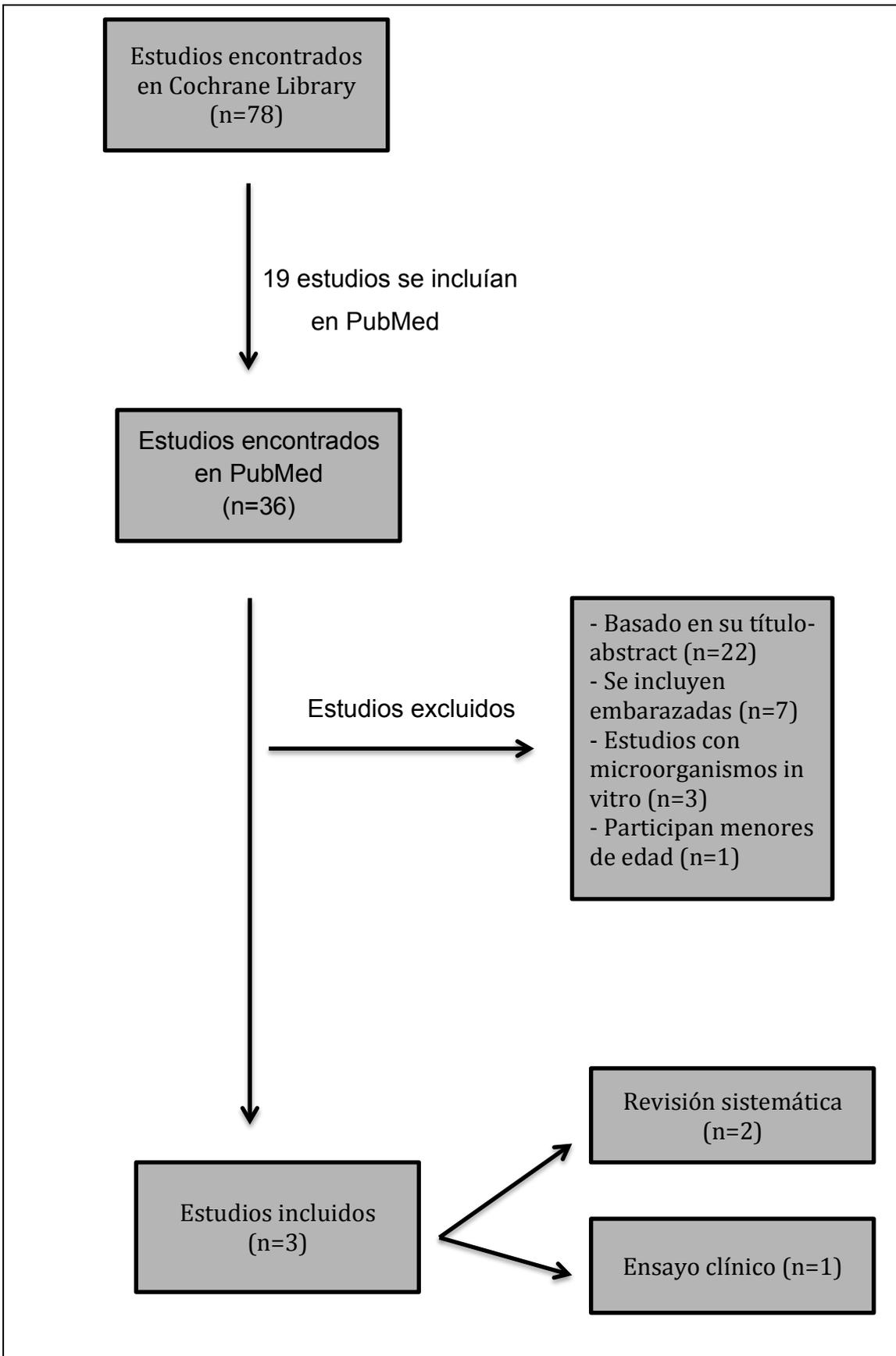


Figura 3: Diagrama de flujo de la tercera búsqueda bibliográfica.









