



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DE  
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

FILIPE OLIVEIRA GINJA

***Microbioma e desfechos obstétricos adversos***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE FISIOPATOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:  
PROFESSORA DOUTORA ANA LUÍSA FIALHO AMARAL DE AREIA  
PROFESSORA DOUTORA ANABELA MOTA PINTO

FEVEREIRO/2021

# ***Microbioma e desfechos obstétricos adversos***

ARTIGO DE REVISÃO

Trabalho final do 6<sup>a</sup> ano do Mestrado Integrado em Medicina, com vista à atribuição do grau de Mestre em Medicina

Filipe Ginja<sup>1</sup>, Professor Doutora Ana Areia<sup>1,2</sup>, Professora Doutora Anabela Mota Pinto<sup>1,3</sup>

1. Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal
2. Professora Auxiliar Convidada da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Portugal
3. Professora Catedrática da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Portugal

Autor correspondente:

Ana Areia

Morada: Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra;

E-mails: aareia@uc.pt

# Índice

|   |    |
|---|----|
| Lista de acrónimos .....                                      | 3  |
| Resumo .....  | 4  |
| <i>Abstract</i> .....   | 6  |
| Introdução .....  | 8  |
| Métodos .....   | 12 |
| 1. Microbioma habitual da mulher saudável .....               | 13 |
| 2. Microbioma numa gravidez normal .....                      | 13 |
| 3. Desfechos obstétricos adversos ligados ao microbioma ..... | 15 |
| A. Aborto espontâneo .....                                    | 16 |
| B. Parto pré-termo .....                                      | 16 |
| C. Rotura prematura de membranas .....                        | 17 |
| D. Pré-eclâmpsia .....  | 18 |
| E. Diabetes Gestacional .....                                 | 20 |
| F. Ganho ponderal excessivo .....                             | 21 |
| G. Depressão .....  | 21 |
| 4. O microbioma do recém-nascido .....                        | 23 |
| 5. Como prevenir as alterações do microbioma? .....           | 25 |
| Conclusão .....   | 28 |
| Agradecimentos .....  | 30 |
| Bibliografia .....  | 31 |

## **Lista de acrónimos**

ADN – Ácido desoxirribonucleico

ARN – Ácido ribonucleico

IMC – Índice de massa corporal

LPS – Lipopolissacarídeo

PTGO – Prova de tolerância à glicose oral

TMAO – Trimetilamina N-óxido

## Resumo

O microbioma é o conjunto de todos os microrganismos existentes num determinado espaço anatómico, sendo este condicionado pelo sexo, idade, alimentação, entre outros aspetos. Nos últimos anos desenvolveram-se técnicas de sequenciação do microbioma que permitiram conhecer a sua constituição com detalhe e através da comparação entre pessoas doentes e saudáveis associar alterações específicas do microbioma à ocorrência de diferentes doenças.

A gravidez, processo extremamente complexo, caracterizado por alterações a inúmeros níveis, provocadas por mudanças a nível hormonal, imunitário e metabólico, é um período particularmente suscetível a alterações patogénicas do microbioma. Por essa razão é importante identificar estas alterações, os fatores subjacentes à sua ocorrência e como as prevenir.

O principal objetivo desta revisão foi caracterizar as alterações do microbioma da grávida associadas a desfechos obstétricos adversos, nomeadamente aborto espontâneo, parto pré-termo, rotura prematura das membranas, pré-eclâmpsia, diabetes gestacional, ganho ponderal excessivo e depressão pós-parto. Para este efeito realizámos uma pesquisa bibliográfica em bases de dados científicas, com critérios de inclusão e exclusão estritos, de forma a encontrar as publicações mais adequadas. Começámos por analisar o microbioma habitual de uma mulher em idade fértil e de uma grávida, bem como identificámos fatores que alteram o microbioma do recém-nascido, indicando comportamentos que as grávidas devem evitar para impedir a ocorrência de alterações do microbioma.

A principal alteração do microbioma encontrada nesta revisão foi a diminuição de bactérias do género *Lactobacillus* no microbioma vaginal da grávida. Esta alteração associa-se a praticamente todos os desfechos obstétricos adversos.

O aborto espontâneo foi associado à presença de bactérias como *Ureaplasma urealyticum* ou *Mycoplasma hominis* no microbioma vaginal. Para além disso pode ser causado por infeções virais, por exemplo pelo papilomavirus, ou por protozoários, como o *Toxoplasma gondii*. A ocorrência de parto pré-termo encontra-se relacionada com alterações no microbioma placentário, nomeadamente pelo aumento de bactérias dos géneros *Capnocytophaga* e *Bergeyella* e alterações do microbioma vaginal, como a presença de *Gardenerella vaginalis* e bactérias do género *Prevotella*.

As principais mudanças no microbioma favorecedoras da pré-eclâmpsia ocorrem no microbioma vaginal, com aumento de bactérias dos géneros *Streptococcus* e *Staphylococcus*, no microbioma placentário, a presença de *Escherichia* e *Salmonella* por exemplo, e no

microbioma do líquido amniótico, que em condições normais é inexistente. A diabetes gestacional está associada à diminuição de bactérias do género *Bifidobacterium* e *Eubacterium* e aumento de *Bacteroides*. A nível do microbioma vaginal identificou-se um aumento de *Escherichia*, *Enterococcus* e *Enterobacter*.

O ganho ponderal excessivo está relacionado com alterações no microbioma intestinal, nomeadamente diminuição da população de *Bacteroidetes* e *Lactobacillus* e aumento de *Firmicutes*. Da mesma forma, a depressão também está associada a alterações do microbioma intestinal, como a diminuição de bactérias do género *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e aumento de *Faecalibacterium*, *Alistipes* e *Oscilibacter*.

As medidas já aconselhadas às grávidas, incluindo uma alimentação equilibrada, evitar consumo de álcool e tabaco e cuidados suplementares com a higiene oral mostraram ser eficazes na prevenção de alterações do microbioma.

**Palavras-Chave:** Gravidez; Complicações da Gravidez; Microbioma; Recém-nascido; Prevenção de Doenças

## Abstract

The microbiome is the set of all microorganisms existing in each anatomical space. It is conditioned by gender, age, diet, among other aspects. In recent years, microbiome sequencing techniques have been developed, which made it possible to know its constitution in detail. By comparing sick and healthy people microbiome it is possible to associate specific microbiome changes to different diseases.

Pregnancy, an extremely complex process, characterized by numerous changes, caused by hormonal, immunitary and metabolic adjustments, is a particularly susceptible period to pathogenic changes in the microbiome. For this reason, it is important to identify these changes, the factors underlying their occurrence and how to prevent them.

The main objective of this review was to characterize changes in the pregnant woman's microbiome associated with poor obstetric outcomes, namely spontaneous abortion, premature birth, preeclampsia, gestational diabetes, excessive weight gain and postpartum depression. For this purpose, we conducted a bibliographic research in scientific databases, with strict inclusion and exclusion criteria, in order to find the most appropriate articles. We started by analysing the microbiome of a woman of childbearing age and of a pregnant woman, as well as identifying factors that alter the new-born's microbiome. We have also indicated behaviours that pregnant women should avoid preventing the occurrence of microbiome changes.

The main microbiome change found in this review was the decrease in bacteria of the genus *Lactobacillus* in the vaginal microbiome of pregnant woman. This change is associated with almost all poor obstetric outcomes.

Spontaneous abortion was associated with the presence of bacteria such as *Ureaplasma urealyticum* or *Mycoplasma hominis* in the vaginal microbiome. In addition, it can be caused by viral infections, for example papillomavirus, or by protozoa, such as *Toxoplasma gondii*. The occurrence of premature birth is related to changes in the placental microbiome, namely an increase in bacteria of the genera *Capnocytophaga* and *Bergeyella*, and changes in the vaginal microbiome, such as the presence of *Gardenerella vaginalis* and bacteria of the genus *Prevotella*.

The main changes in the microbiome that lead to preeclampsia occur in the vaginal microbiome, with an increase in bacteria of the genera *Streptococcus* and *Staphylococcus*, in the placental microbiome, with the presence of *Escherichia* and *Salmonella*, and in the microbiome of the amniotic fluid, which under normal conditions is non-existent. Gestational diabetes is associated with a decrease in bacteria of the genera *Bifidobacterium* and

*Eubacterium* and an increase in *Bacteroides*. In the vaginal microbiome there is an increment in *Escherichia*, *Enterococcus* and *Enterobacter*.

Excessive weight gain is related to changes in the intestinal microbiome, namely a decrease in the population of *Bacteroidetes* and *Lactobacillus* and an increase in *Firmicutes*. Likewise, depression is only associated with changes in the intestinal microbiome as well, such as a decrease in bacteria of the genera *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* and an increase in *Faecalibacterium*, *Alistipes* and *Oscilibacter*.

The measures already advised to pregnant women, including a balanced diet, avoiding alcohol and tobacco consumption and care with their oral hygiene have proven effective in preventing changes in the microbiome.

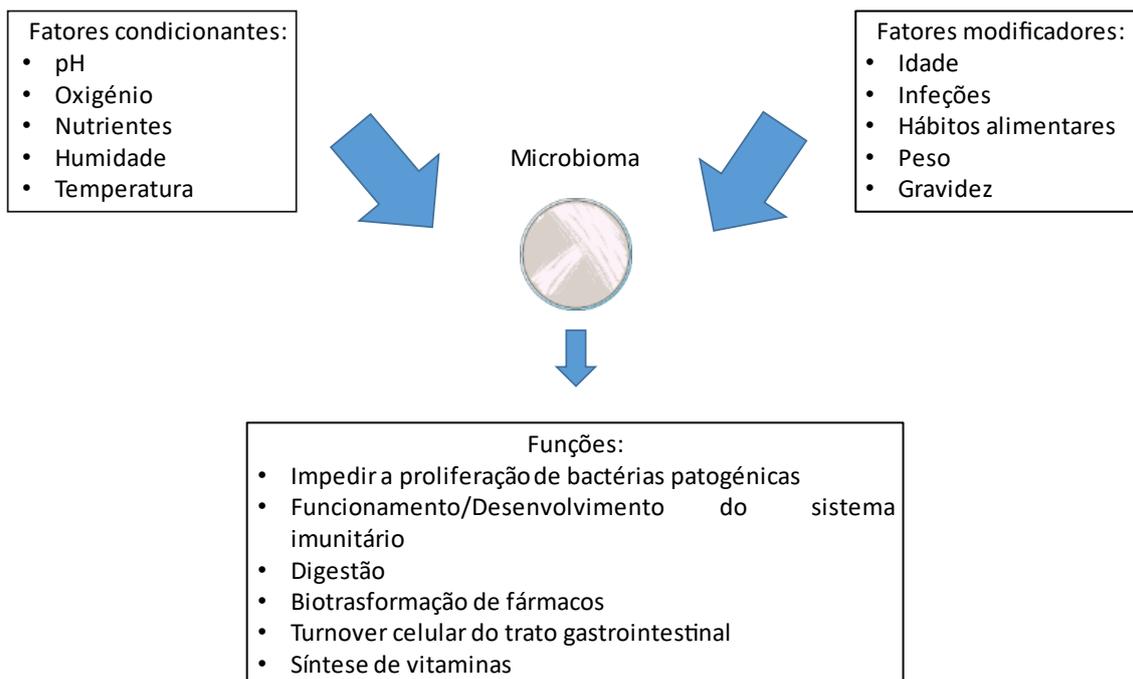
**Key-words:** Pregnancy; Pregnancy complications; Microbiome; New-born; Disease prevention

## Introdução

O microbioma é o conjunto de todos os organismos microscópicos (valorizando-se maioritariamente as bactérias) localizados numa determinada superfície ou espaço anatómico (1). Cada uma destas regiões anatómicas tem um diferente microbioma, uma vez que diferentes valores de pH, oxigénio, nutrientes, humidade e temperatura favorecem o crescimento de diferentes microrganismos (figura 1) (2). Também estão documentadas alterações entre indivíduos da mesma espécie, não existindo duas pessoas com o mesmo microbioma. Como exemplo disso temos o estudo de Cox e Blaser (3), realizado com o objetivo de identificar alterações do microbioma intestinal de acordo com o Índice de Massa Corporal (IMC). Os autores deste estudo concluíram que a população obesa, com uma dieta habitualmente mais calórica, tem por norma um maior número de bactérias no microbioma intestinal, um aumento da população de *Firmicutes* e uma diminuição da população de *Bacteroidetes*.

Apesar de intuitivamente se considerar que as bactérias apenas provocam danos no organismo devido à sua capacidade de causar infeções, o microbioma tem um efeito benéfico e um papel fundamental na manutenção da saúde (4). As suas principais funções são impedir a proliferação de bactérias patogénicas capazes de levar ao aparecimento de infeções e doenças; permitir o correto funcionamento e desenvolvimento do sistema imunitário; auxiliar na digestão dos alimentos e biotransformação de fármacos; renovar as células do epitélio gastrointestinal e ser responsável pela produção de algumas vitaminas, nomeadamente a K, a B12, a tiamina ou a riboflavina, às quais não teríamos acesso de outra forma (figura 1) (4, 5).

Estão descritos vários fatores que alteram o microbioma ou a sua função, como por exemplo a idade, infeções, hábitos alimentares, peso, gravidez, entre outros (figura 1). De acordo com a região anatómica há outros fatores que também podem interferir, por exemplo o microbioma vaginal pode ser alterado pelas relações sexuais ou pela menstruação (6).



**Figura 1** – Fatores condicionantes, modificadores e funções do microbioma. Ilustração retirada de <https://smart.servier.com/>.

Quando ocorrem alterações composicionais e funcionais do microbioma, devido a modificações do meio-ambiente ou do hospedeiro, que ultrapassam a sua capacidade de resistência ocorre disbiose. Na disbiose há proliferação de microrganismos patogênicos, perdendo-se os benefícios do microbioma (7). As principais causas de disbiose são inflamação, dieta com exposição a agentes xenobióticos, genética e transmissão familiar do microbioma. Esta disbiose pode levar ao comprometimento do sistema imunitário e ao aparecimento de doenças auto-imunes, como as Doenças Inflamatórias Intestinais ou a Artrite Reumatoide (8).

Nos últimos anos, o conhecimento sobre o microbioma aumentou consideravelmente, devido ao desenvolvimento das técnicas de colheita de amostras e de sequenciamento do ácido desoxirribonucleico (ADN), nomeadamente o sequenciamento de amplicons de ácido ribonucleico (ARN) bacteriano 16s e da análise metagenômica. Desta forma conseguiu-se compreender melhor a fisiopatologia de certas doenças associadas a modificações no microbioma e desenvolver novas terapêuticas (9, 10). Um dos principais casos de sucesso neste campo foi o tratamento da infecção por *Clostridium difficile* (*C. difficile*), uma bactéria cujo crescimento é controlado pelo microbioma intestinal. Após a administração de antibioterapia que destrua o microbioma intestinal, os esporos resistentes de *C. difficile* conseguem proliferar

e, conseqüentemente, causar infecção. A antibioterapia subsequente era a principal terapêutica disponível, contudo não apresentava bons resultados. Com o estudo do microbioma surgiu uma nova abordagem terapêutica que consiste na realização de transplante fecal, tendo apresentado melhores resultados do que a antibioterapia, visto que se substitui rapidamente o microbioma intestinal (11).

O maior conhecimento do microbioma, favorecido pelo aparecimento de novas técnicas permitiu compreender quais as características e a composição do microbioma de cada local anatómico. Assim passou a ser possível associar certas doenças a alterações do microbioma.

Os principais objetivos deste artigo de revisão são identificar e compreender as repercussões que as alterações do microbioma podem ter no decurso e desfecho da gravidez, tal como no recém-nascido. Para atingir estes objetivos será analisada a constituição normal do microbioma de uma mulher em idade fértil e de uma mulher grávida, comparando-se depois com o microbioma de grávidas com desfechos obstétricos adversos. Para além destes objetivos, pretende-se identificar alguns comportamentos ou hábitos que podem prevenir, ou desencadear, a ocorrência destas alterações.

Para melhor compreender os microrganismos envolvidos nestes processos e as semelhanças entre eles apresenta-se a tabela 1, com a classificação taxonómica de todos os microrganismos importantes para esta revisão.

**Tabela 1 – Classificação taxonómica dos microrganismos referidos.**

| Reino    | Filo           | Classe              | Ordem               | Família              | Género                   | Espécie (exemplos)  |                       |                      |
|----------|----------------|---------------------|---------------------|----------------------|--------------------------|---|-----------------------|----------------------|
| Bacteria | Actinobacteria | Actinobacteria      | Bifidobacteriales   | Bifidobacteriaceae   | <i>Bifidobacterium</i>   | <i>B. bifidum</i>   |                       |                      |
|          |                |                     |                     |                      | <i>Gardnerella</i>       | <i>G. vaginalis</i>   |                       |                      |
|          |                |                     | Propionibacteriales | Propionibacteriaceae | <i>Propionibacterium</i> | <i>P. acnes</i>   |                       |                      |
|          |                | Streptosporangiales | Nocardiopsaceae     | <i>Nocardiopsis</i>  | <i>N. alba</i>           |   |                       |                      |
|          |                | Coriobacteria       | Coriobacteriales    | Coriobacteriaceae    | <i>Atopobium</i>         | <i>A. vaginae</i>   |                       |                      |
|          | Bacteroidetes  | Bacteroidia         | Bacteroidales       | Bacteroidaceae       | <i>Bacteroides</i>       | <i>B. fragilis</i>  |                       |                      |
|          |                |                     |                     | Porphyromonadaceae   | <i>Porphyromonas</i>     | <i>P. gingivalis</i>  |                       |                      |
|          |                |                     |                     | Prevotellaceae       | <i>Prevotella</i>        | <i>P. intermedia</i> , <i>P. tannerae</i> , <i>P. buccalis</i> , <i>P. timonensis</i> |                       |                      |
|          |                |                     |                     | Rikenellaceae        | <i>Alistipes</i>         | <i>A. shahii</i>  |                       |                      |
|          |                |                     |                     | Tannerellaceae       | <i>Parabacteroides</i>   | <i>P. distasonis</i>  |                       |                      |
|          |                |                     |                     |                      | <i>Tannerella</i>        | <i>T. forsythensis</i>  |                       |                      |
|          |                |                     |                     | Flavobacteriia       | Flavobacteriales         | Flavobacteriaceae   | <i>Capnocytophaga</i> | <i>C. gingivalis</i> |
|          |                |                     |                     |                      |                          | Weeksellaceae   | <i>Bergeyella</i>     | <i>B. zoohelcum</i>  |

|                       |                            |                          |                           |                                 |                           |                                   |  |
|-----------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|--|
|                       | <i>Chlamydiae</i>          | <i>Chlamydiia</i>        | <i>Chlamydiales</i>       | <i>Chlamydiaceae</i>            | <i>Chlamydia</i>          | <i>C. trachomatis</i>             |  |
| <i>Fimicutes</i>      | <i>Bacilli</i>             | <i>Bacillales</i>        |                           | <i>Bacillaceae</i>              | <i>Anaerobacillus</i>     | <i>A. alkaliphilus</i>            |  |
|                       |                            |                          |                           |                                 | <i>Bacillus</i>           | <i>B. cereus</i>                  |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Listeriaceae</i>             | <i>Listeria</i>           | <i>L. monocytogenes</i>           |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Staphylococcaceae</i>        | <i>Staphylococcus</i>     | <i>S. aureus, S. haemolyticus</i> |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Lactobacillales</i>          | <i>Enterococcaceae</i>    | <i>Enterococcus</i>               | <i>E. faecalis</i>                         |
|                       |                            |                          |                           |                                 | <i>Lactobacillaceae</i>   | <i>Lactobacillus</i>              | <i>L. crispatus, L. iners, L. jensenii</i> |
|                       |                            | <i>Pediococcus</i>       | <i>P. pentosaceus</i>     |                                 |                           |                                   |  |
|                       |                            | <i>Streptococcaceae</i>  | <i>Streptococcus</i>      |                                 | <i>S. pyogenes</i>        |                                   |  |
|                       |                            | <i>Clostridia</i>        | <i>Clostridiales</i>      | <i>Clostridiaceae</i>           | <i>Clostridium</i>        | <i>C. difficile</i>               |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Eubacteriaceae</i>           | <i>Eubacterium</i>        | <i>E. limosum</i>                 |  |
|                       | <i>Lachnospiraceae</i>     |                          |                           | <i>Roseburia</i>                | <i>R. intestinalis</i>    |                                   |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Shuttleworthia</i>           | <i>S. satelles</i>        |                                   |  |
|                       | <i>Oscillospiraceae</i>    |                          |                           | <i>Oscillibacter</i>            | <i>O. valericigenes</i>   |                                   |  |
|                       | <i>Ruminococcaceae</i>     |                          |                           | <i>Faecalibacterium</i>         | <i>F. prausnitzii</i>     |                                   |  |
|                       | <i>Negativicutes</i>       | <i>Veillonellales</i>    | <i>Veillonellaceae</i>    | <i>Dialister</i>                | <i>D. microaerophilus</i> |                                   |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Megasphaera</i>              | <i>M. hominis</i>         |                                   |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Veillonella</i>              | <i>V. dispar</i>          |                                   |  |
| <i>Tissierellia</i>   | <i>Tissierellales</i>      | <i>Peptoniphilaceae</i>  | <i>Parvimonas</i>         | <i>P. micro</i>                 |                           |                                   |  |
|                       |                            |                          | <i>Peptoniphilus</i>      | <i>P. vaginalis</i>             |                           |                                   |  |
| <i>Fusobacteria</i>   | <i>Fusobacteria</i>        | <i>Fusobacteriales</i>   | <i>Fusobacteriaceae</i>   | <i>Fusobacterium</i>            | <i>F. nucleatum</i>       |                                   |  |
|                       |                            |                          | <i>Leptotrichiaceae</i>   | <i>Leptotrichia</i>             | <i>L. wadei</i>           |                                   |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Sneathia</i>                 | <i>S. amnii</i>           |                                   |  |
| <i>Proteobacteria</i> | <i>Alphaproteobacteria</i> | <i>Rhizobiales</i>       | <i>Brucellaceae</i>       | <i>Brucella</i>                 | <i>B. melitensis</i>      |                                   |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Betaproteobacteria</i>       | <i>Neisseriales</i>       | <i>Neisseriaceae</i>              | <i>Eikenella</i>                           |
|                       | <i>Neisseria</i>           | <i>N. lactamica</i>      |                           |                                 |                           |                                   |  |
|                       | <i>Gammaproteobacteria</i> | <i>Enterobacteriales</i> | <i>Enterobacteriaceae</i> | <i>Enterobacter</i>             | <i>E. cloacae</i>         |                                   |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Escherichia</i>              | <i>E. coli</i>            |                                   |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Klebsiella</i>               | <i>K. variicola</i>       |                                   |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Salmonella</i>               | <i>S. enterica</i>        |                                   |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Shigella</i>                 | <i>S. dysenteriae</i>     |                                   |  |
|                       | <i>Pasteurellales</i>      | <i>Pasteurellaceae</i>   | <i>Aggregatibacter</i>    | <i>A. actinomycetemcomitans</i> |                           |                                   |  |
|                       | <i>Pseudomonadales</i>     | <i>Moraxellaceae</i>     | <i>Acinetobacter</i>      | <i>A. baumannii</i>             |                           |                                   |  |
| <i>Spirochaetes</i>   | <i>Spirochaetia</i>        | <i>Spirochaetales</i>    | <i>Spirochaetaceae</i>    | <i>Treponema</i>                | <i>T. pallidum</i>        |                                   |  |
| <i>Tenericutes</i>    | <i>Mollicutes</i>          | <i>Mycoplasmatales</i>   | <i>Mycoplasmataceae</i>   | <i>Mycoplasma</i>               | <i>M. hominis</i>         |                                   |  |
|                       |                            |                          |                           | <i>Ureaplasma</i>               | <i>U. urealyticum</i>     |                                   |  |
| <i>Fungi</i>          | <i>Ascomycota</i>          | <i>Saccharomycetes</i>   | <i>Saccharomycetales</i>  | <i>Debaryomycetaceae</i>        | <i>Candida</i>            | <i>C. albicans</i>                |  |
| <i>Protista</i>       | <i>Apicomplexa</i>         | <i>Aconoidasida</i>      | <i>Haemosporida</i>       | <i>Plasmodiidae</i>             | <i>Plasmodium</i>         | <i>P. falciparum</i>              |  |
|                       |                            | <i>Conoidasida</i>       | <i>Eucoccidiorida</i>     | <i>Sarcocystidae</i>            | <i>Toxoplasma</i>         | <i>T. gondii</i>                  |  |

## Métodos

Para a elaboração deste trabalho de revisão foi realizada uma pesquisa bibliográfica recorrendo a motores de busca, como a PubMed, o Google Scholar e o ISI Web of Science. Os termos da pesquisa foram: “*microbiome*”, “*pregnancy*”, “*spontaneous abortion and microbiome*”, “*premature birth and microbiome*”, “*preeclampsia and microbiome*”, “*gestational diabetes and microbiome*”, “*postpartum depression and microbiome*”, “*newborn microbiome*” e “*antibiotherapy and pregnancy microbiome*”. Foram ainda consultadas outras publicações identificadas através das referências bibliográficas das anteriores.

Os critérios de inclusão da pesquisa bibliográfica foram: artigos originais ou revisões bibliográficas redigidas na língua inglesa ou portuguesa. Foram excluídas as publicações anteriores a 2010, salvo raras exceções em que tal não foi possível, e publicações que após a leitura do *abstract* mostraram não se enquadrar no tema.

## 1. Microbioma habitual da mulher saudável

O microbioma vaginal de uma mulher saudável em idade fértil é dominado por bactérias do género *Lactobacillus*, nomeadamente *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* e *L. jensenii*. Contudo, um quinto das mulheres apresenta um microbioma vaginal não dominado por *Lactobacillus*, sendo composto por bactérias anaeróbias pertencentes aos géneros *Atopobium*, *Dialister*, *Gardnerella*, *Megasphaera*, *Prevotella* e *Peptoniphilus* (12). As bactérias do género *Lactobacillus* reduzem o pH vaginal, através da síntese de ácido láctico e competem por nutrientes e pelo espaço com outros microrganismos nocivos, impedindo desta forma a sua proliferação (6). Sendo assim, a alteração deste microbioma está associada a parto pré-termo, doença inflamatória pélvica, infeções sexualmente transmissíveis e infertilidade (12).

O microbioma do colo do útero é semelhante ao microbioma vaginal, havendo uma predominância de *Gardnerella vaginalis* e outras bactérias do género *Lactobacillus* (13). O microbioma dos anexos (ovários e trompas uterinas) é composto por bactérias dos géneros *Propionibacterium*, *Streptococcus* e *Lactobacillus* (12).

A nível intestinal, as principais bactérias colonizadoras pertencem aos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, havendo em menor quantidade *Actinobacteria* e *Archaea* (14). O microbioma oral é semelhante ao intestinal, sendo que as bactérias mais comuns pertencem aos filos *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Bacteroidetes* e *Spirochaetes* (15).

## 2. Microbioma numa gravidez normal

A gravidez é um processo fisiologicamente complexo que interfere com o microbioma devido a alterações hormonais, ponderais e do sistema imunitário, essenciais para preservar a saúde da mãe, a gravidez saudável e assim permitir o adequado desenvolvimento do feto (16).

As alterações do microbioma durante a gravidez desencadeadas pelas alterações hormonais, devem-se ao aumento dos níveis séricos de estrogénios e progesterona (figura 2). As modificações do sistema imunitário protegem a mãe e o feto de infeções, previnem a rejeição fetal pelo sistema imunitário materno e permitem o desenvolvimento do sistema imunitário fetal. As alterações metabólicas que ocorrem durante a gravidez são essenciais para o aumento ponderal, resistência à insulina, aumento da glicémia em jejum e inflamação em baixo grau (2, 16).

O microbioma vaginal da grávida, tal como o das mulheres em idade fértil, é dominado por bactérias do género *Lactobacillus*, estando também representados os géneros *Clostridiales*, *Bacteroidales* e *Actinomycetales*. Contudo, na gravidez há uma ainda maior predominância de *Lactobacillus* relativamente ao período pré-concepcional, com o objetivo de reduzir o pH vaginal e, juntamente com o aumento de secreções vaginais, impedir a infeção por bactérias ou vírus. Na gravidez também se verifica uma diminuição da diversidade alfa (menor diversidade de microrganismos numa grávida) e da diversidade beta (menor diversidade de microrganismos entre diferentes grávidas) (2, 17).

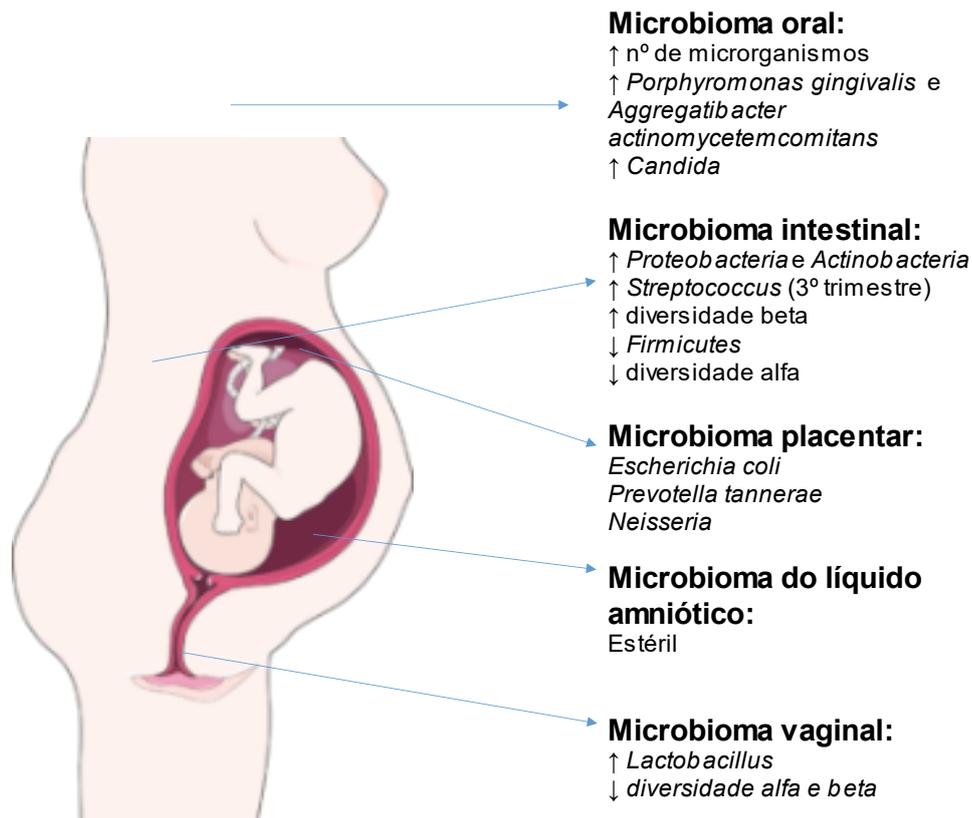
De acordo com o estudo de Koren *et al* (18), acerca das alterações que ocorrem no microbioma intestinal no decorrer de uma gravidez normal, em que foram recolhidas três amostras de fezes (1º e 3º trimestre e um mês pós-parto) e informações sobre a alimentação de 91 grávidas sem doenças conhecidas, a abundância relativa de bactérias dos filos *Proteobacteria* e *Actinobacteria* aumentou e a de *Firmicutes* diminuiu. A diminuição desta bactéria também se identifica em doentes com Doença Inflamatória Intestinal (19). Neste estudo também se verificou uma maior diversidade beta e uma menor diversidade alfa, ou seja, o microbioma intestinal de diferentes grávidas é frequentemente variável. O microbioma intestinal no 3º trimestre também se tornou mais rico em bactérias do género *Streptococcus*, pensando-se que tenha um papel importante na preparação do sistema imunitário do feto para o microbioma futuro. Para além da estimulação do sistema imunitário, estas alterações do microbioma justificam o aumento ponderal, pois aumentam a absorção intestinal de glicose e ácidos gordos (18).

Durante a gravidez regista-se no microbioma oral um aumento do número de microrganismos. As bactérias mais comuns são *Fusobacterium nucleatum* e *Prevotella intermedia*, também comuns nas mulheres não grávidas. Contudo, verifica-se um aumento em relação a mulheres não grávidas de *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (esta última principalmente em mulheres com mais de 35 anos). Na gravidez também se destaca um aumento da prevalência de fungos do género *Candida*. Este fungo, muitas vezes considerado como um agente oportunista, consegue desenvolver-se graças ao comprometimento do sistema imunitário (20).

Até recentemente, pensava-se que a placenta fosse um meio estéril, sem microbioma (2). Contudo, após a sequenciação de amostras de placenta saudáveis considera-se que a placenta tem o seu próprio microbioma, sendo a espécie mais comum a *Escherichia coli*. Para além desta destacam-se espécies presentes no microbioma oral, como por exemplo *Prevotella tanneri* e outras bactérias não patogénicas do género *Neisseria*. Estas semelhanças entre o microbioma oral e placentário sugerem que haja uma ligação entre os

dois, o que pode explicar a maior prevalência de complicações em grávidas com doença periodontal (16, 21). Esta ligação pode ser explicada pelo aumento da permeabilidade gengival durante a gravidez, provocada pelas alterações hormonais, permitindo a translocação das bactérias do microbioma oral e a sua disseminação hematogénea (22).

Ao contrário da placenta, de acordo com os estudos mais recentes, o líquido amniótico numa gravidez sem complicações é estéril até que ocorra a rotura das membranas, estando como tal desprovido de microbioma (23, 24).



**Figura 2** - Alterações do microbioma durante a gravidez. Imagem adaptada de: Nuriel-Ohayon M, Neuman H, Koren O. Microbial Changes during Pregnancy, Birth, and Infancy. Front Microbiol. 2016;7:1031. Ilustração retirada de <https://smart.servier.com/>.

### 3. Desfechos obstétricos adversos ligados ao microbioma

Sabe-se há várias décadas que os microrganismos podem afetar o decurso de uma gravidez saudável, devido principalmente ao seu potencial patogénico. Nos últimos anos tem-se compreendido melhor as funções do microbioma e conclui-se que, caso surja uma

desregulação funcional, pode levar a desfechos obstétricos adversos (25). Os desfechos obstétricos adversos abordados neste trabalho são: aborto espontâneo; parto pré-termo; rotura prematura de membranas; pré-eclâmpsia; diabetes gestacional; ganho ponderal excessivo; depressão ante e pós-parto. Também serão abordados fatores que podem levar a alterações do microbioma fetal (figura 3).

### **A. Aborto espontâneo**

O aborto espontâneo é a complicação obstétrica mais frequente, estimando-se que seja o desfecho de 25% das gravidezes (26). A maior parte destes ocorrem no primeiro trimestre de gestação e o seu risco aumenta exponencialmente com a idade materna. A principal causa de aborto espontâneo são alterações cromossômicas, como a poliploidia ou trissomias. Outras causas possíveis descritas são o consumo de álcool ou tabaco durante a gravidez, a exposição a outros agentes tóxicos e a ocorrência de infeções (27).

De acordo com o estudo de *Al-Memar et al* (26), no qual foi sequenciado o microbioma vaginal de grávidas durante o primeiro trimestre, e acompanhada a gravidez até ao seu desfecho, concluiu-se que a diminuição do número de bactérias do género *Lactobacillus* e o aumento da diversidade bacteriana do microbioma são fatores predisponentes para a ocorrência de aborto espontâneo. O papel protetor dos *Lactobacillus* pode explicar a maior prevalência de aborto espontâneo na sua ausência. A infeção por *Streptococcus* do grupo B, que ocorre mais facilmente por diminuição de *Lactobacillus* está também associada a aborto espontâneo (28).

O aborto espontâneo também foi associado à infeção por outras bactérias (como *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Brucella melitensis*, *Chlamydia trachomatis* e *Treponema pallidum*), por vírus (nomeadamente citomegalovírus, papilomavírus, parvovírus, HIV-1 e 2, rubéola) e por protozoários (como *Plasmodium*, responsáveis pela malária e *Toxoplasma gondii*, agente etiológico da toxoplasmose) (29).

### **B. Parto pré-termo**

Considera-se parto pré-termo aquele que ocorre antes de terem sido completas 37 semanas de gestação. Aproximadamente 5% das gestações terminam em parto pré-termo, podendo ter um impacto negativo na saúde e desenvolvimento do recém-nascido, especialmente nos partos mais precoces (30). Caso o parto ocorra entre as 34 e as 37

semanas considera-se um parto pré-termo tardio e se ocorrer antes das 34 semanas é um parto pré-termo precoce (31).

São fatores de risco para o parto pré-termo a raça negra, extremos de idade reprodutiva, parto pré-termo prévio, consumo de tabaco, álcool ou substâncias ilícitas ou ter outras condições acompanhantes da gravidez, como polihidrâmnios ou placenta prévia. Apesar de serem conhecidos estes fatores de risco é difícil prever com fiabilidade numa determinada grávida a ocorrência de parto pré-termo (30).

Outra etiologia de parto pré-termo conhecida é a infeção por microrganismos. Esta infeção pode ocorrer por duas vias: ascendente, através do trato genitourinário; ou hematogénica. Nesta última os microrganismos disseminam-se pela corrente sanguínea, podendo ter várias origens, como o trato gastrointestinal ou até mesmo a pele (32).

Como já foi referido previamente, o microbioma placentário é muito semelhante ao oral, o que leva a suspeitar que se deva a disseminação hematogénica. As grávidas com doença periodontal têm maior probabilidade de ocorrência de parto pré-termo por corioamnionite e, nestes casos, o agente responsável pela doença periodontal também se identificou no líquido amniótico. Algumas das bactérias associadas a doença periodontal e parto pré-termo pertencem aos géneros *Capnocytophaga* e *Bergeyella* (33).

Quanto ao microbioma vaginal, de acordo com os estudos de *Stout et al* (34) e de *Fettweis et al* (35), realizados com o objetivo de descobrir alterações do microbioma vaginal associadas a parto pré-termo, um aumento da diversidade de microrganismos está associado a parto pré-termo, o que ocorre por exemplo nos casos de vaginose bacteriana. Algumas das bactérias identificadas nestes estudos são *Sneathia amnii*, *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Prevotella timonensis* ou *Prevotella buccalis*. Estes estudos também concluíram que a predominância de *L. crispatus* no microbioma vaginal constitui um fator protetor. Esta bactéria é mais prevalente na população de origem europeia do que na população de origem africana, o que pode servir para explicar a maior prevalência de parto pré-termo nas mulheres de raça negra (34-36).

### **C. Rotura prematura de membranas**

As membranas fetais são compostas pelo âmnios e pelo córion. A primeira é a membrana mais interna, contacta com o líquido amniótico e responde a eventuais alterações que aí ocorram. O córion é a membrana mais externa, encontra-se em contacto com a decídua materna, sendo responsável pela interface entre mãe e feto e pela tolerância imunológica (37).

Ambas as membranas são importantes para proteger o feto, assegurando o seu crescimento e desenvolvimento. Para além da proteção imunológica atuam como barreira mecânica, impedindo a passagem de microrganismos (38).

A rotura prematura de membranas ocorre em cerca de 2% das gestações, sendo responsável por aproximadamente 50% dos partos pré-termo. Os principais fatores de risco conhecidos são a rotura prematura das membranas numa gravidez anterior, hemorragia vaginal durante a gravidez, colo do útero curto, IMC baixo, baixo índice socioeconómico e consumo de tabaco ou substâncias ilícitas durante a gravidez (37, 38).

Em 37% dos casos em que ocorre rotura prematura das membranas verificam-se alterações do microbioma vaginal. As bactérias patogénicas ativam o sistema imunitário desencadeando a cascata inflamatória, que leva a uma reorganização e eventual disrupção das membranas fetais. As alterações do microbioma vaginal associadas à rotura prematura das membranas são semelhantes às associadas ao aborto espontâneo e ao parto pré-termo, isto é, diminuição de bactérias do género *Lactobacillus* e aumento da diversidade de microrganismos (39).

#### **D. Pré-eclâmpsia**

A pré-eclâmpsia é diagnosticada quando se identifica hipertensão arterial pela primeira vez após as 20 semanas de gestação em duas ocasiões distintas, separadas entre quatro a seis horas (pressão arterial sistólica  $\geq 140$ mmHg e/ou pressão arterial diastólica  $\geq 90$ mmHg), associada a proteinúria (perda de 300mg ou mais de proteínas na urina de 24 horas ou relação proteína/creatinina em amostra única de urina  $\geq 0,3$ ). Caso a proteinúria não esteja presente, pode-se diagnosticar pré-eclâmpsia se houver cefaleias, visão turva, dor abdominal, trombocitopenia ( $< 100000/\text{mm}^3$ ), elevação das enzimas hepáticas (transaminases duas vezes superiores ao limite da normalidade), elevação da creatinemia ( $> 1,1$ mg/dL), edema pulmonar ou restrição do crescimento fetal (40, 41). Considera-se que há eclâmpsia quando uma grávida com sinais e sintomas de pré-eclâmpsia entra em coma não relacionado com outros acontecimentos cerebrais ou ocorrem convulsões antes, durante ou até 48 horas após o trabalho de parto (42).

A pré-eclâmpsia tem uma prevalência estimada de 3 a 5% a nível mundial. A sua etiologia ainda não é totalmente conhecida. A teoria mais aceite é que ocorra devido a hipóxia do trofoblasto, que pode ser precipitada por vários fatores, destacando-se a má perfusão. A reoxigenação do trofoblasto pode levar à formação de radicais livres de oxigénio, provocar um estado inflamatório sistémico materno, acelerar a apoptose celular e aumentar a quantidade

de fatores antiangiogénicos, culminando numa disfunção endotelial global. Esta disfunção ocorre através de um espasmo arteriolar, que pode levar à insuficiência de múltiplos órgãos (40, 43).

A presença de bactérias patogénicas no microbioma placentário pode ser o fator precipitante da pré-eclâmpsia. *Amarasekara et al* (44) realizaram um estudo no qual recolhiam amostras de placenta após o parto em grávidas diagnosticadas com pré-eclâmpsia, com o objetivo de identificar bactérias presentes na placenta que pudessem precipitar a pré-eclâmpsia. Na maioria das grávidas com pré-eclâmpsia com cultura bacteriana positiva, foi identificada uma grande diversidade bacteriana, pertencendo aos géneros: *Bacillus*, *Anaerobacillus*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Nocardiosis*, *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Dialister* e *Pediococcus*. Como a maioria destes agentes são comuns aos tratos gastrointestinal e respiratório, a principal via de disseminação pensa-se ser a hematogénica. A intrínseca relação entre o microbioma oral e o placentário encontrada no parto pré-termo também ocorre na pré-eclâmpsia, havendo casos descritos de associação entre doença periodontal e esta doença, sendo os principais agentes neste caso as bactérias *Tannerella forsythensis*, *Eikenella corrodens*, *Porphyromonas gingivalis* e *Parvimonas micra* (45, 46).

A infeção do líquido amniótico, habitualmente estéril, por bactérias dos géneros *Ureaplasma*, *Lactobacillus*, *Leptotrichia*, *Sneathia* ou *Streptococcus* também foi associada ao desenvolvimento de pré-eclâmpsia (45).

Em mulheres com pré-eclâmpsia as principais alterações encontradas no microbioma vaginal são a diminuição de *Lactobacillus* e o aumento da população de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus* e *Streptococcus* beta-hemolíticos, como o *Streptococcus pyogenes* (47).

Quanto ao microbioma intestinal, o estudo de *Wang et al* (48), concluiu que as grávidas diagnosticadas com pré-eclâmpsia apresentam menor diversidade de microrganismos do que as grávidas saudáveis e apresentam maiores quantidades de bactérias dos filos *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* e *Actinobacteria*, enquanto têm diminuição do número de *Firmicutes*. Este mesmo estudo também verificou que as grávidas com pré-eclâmpsia têm aumento da concentração plasmática e fecal de lipopolissacarídeo (LPS) e de trimetilamina N-óxido (TMAO). O LPS está presente na parede celular de bactérias Gram negativas e a TMAO é um metabolito relacionado com o microbioma intestinal, sendo também um marcador de eventos cardíacos, como enfarte agudo do miocárdio ou acidente vascular cerebral, e de doença renal, nomeadamente insuficiência renal crónica (49).

## E. Diabetes gestacional

A diabetes gestacional é uma doença na qual uma grávida sem diagnóstico prévio de diabetes apresenta aumento da glicemia. Tem uma prevalência de aproximadamente 9%, aumentando com a idade materna. Ocorre devido à produção placentária de hormonas que aumentam a resistência à insulina, como a hormona de crescimento, lactogénio placentar humano, progesterona e hormona adenocorticotrófica; para compensar essa insulinoresistência ocorre hiperplasia das células-beta dos ilhéus de Langerhans do pâncreas. Quando a sobreprodução de insulina pela hiperplasia das células-beta não é suficiente para compensar a insulinoresistência desenvolve-se diabetes gestacional (50).

Nem todas as hiperglicemias detetadas na gravidez são consideradas como diabetes gestacional, apenas as que apresentam valores glicémicos intermédios, isto é, é uma diabetes gestacional se a grávida apresentar em jejum uma glicemia entre 92 e 125 mg/dL, ou se na Prova de Tolerância à Glicose Oral (PTGO) tiver uma glicémia de 180 mg/dL após uma hora ou entre 153 e 199 mg/dL após duas horas. Caso apresente glicemias superiores (acima de 126 mg/dL em jejum ou acima de 200 mg/dL na PTGO após duas horas) considera-se como uma Diabetes Prévia à Gravidez (51).

O diagnóstico precoce de diabetes gestacional é fulcral, visto que estas gravidezes necessitam de um acompanhamento mais exaustivo, porque estão associadas a outras complicações, como macrossomia (associada a maior probabilidade de parto distócico e risco de distocia dos ombros do recém-nascido), pré-eclâmpsia, polihidrâmnios, morte fetal e aumento da morbidade neonatal. Após o nascimento, estes recém-nascidos têm maior risco de desenvolver obesidade infantil, tolerância diminuída à glicose e síndrome metabólico. A mãe tem maior risco de desenvolver diabetes tipo II no futuro, podendo mesmo não voltar aos valores normais de glicemia (50).

O microbioma vaginal das doentes com diabetes gestacional, tal como o das outras doenças, apresenta uma diminuição de *Lactobacillus*, havendo uma grande variedade de bactérias, variando de grávida para grávida. Os principais géneros descritos no microbioma vaginal de mulheres com diabetes gestacional foram *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Shuttleworthia* e *Veillonella*. Neste estudo feito por Cortez *et al* (52), no qual estudaram 68 mulheres, não foram encontradas diferenças significativas entre o microbioma oral de grávidas com diabetes gestacional comparativamente ao de grávidas saudáveis.

Também foram detetadas alterações no microbioma placentário de grávidas com diabetes gestacional, havendo um aumento dos filos *Proteobacteria* (ao qual pertence a *Escherichia coli*), *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (53).

De acordo com o estudo de *Kuang et al* (54), no qual se compara o microbioma intestinal de grávidas com diabetes gestacional *versus* grávidas saudáveis, verifica-se um aumento na população de *Parabacteroides distasonis*, *Klebsiella variicola* e de outras bactérias do género *Bacteroides* e uma diminuição de bactérias dos géneros *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Roseburia* e *Alistipes*. Estas alterações do microbioma tinham uma correlação positiva com os valores de glicemia. O LPS sanguíneo também foi doseado, sendo também tanto maior quanto maior o valor da glicemia.

## **F. Ganho ponderal excessivo**

O aumento de peso excessivo durante a gravidez ou a obesidade pré-existente estão associadas a várias patologias obstétricas, nomeadamente pré-eclâmpsia, diabetes gestacional e macrosomia fetal, fator que pode obrigar a recorrer a parto por cesariana (55).

De acordo com o Colégio Americano de Obstetras e Ginecologistas, a definição de ganho ponderal excessivo na gravidez depende do IMC pré-gestacional, sendo que quem tenha obesidade prévia o limite é aproximadamente 9Kg e uma mulher com peso normal pode aumentar até cerca de 16Kg (56).

As principais causas de ganho ponderal excessivo durante a gravidez são a obesidade pré-gestacional, dificuldades económicas (a grávida consome alimentos menos saudáveis) e fatores psicossociais, nomeadamente o stresse, perturbação depressiva ou baixo suporte social (55).

O microbioma intestinal já foi relacionado com o ganho ponderal excessivo, visto que as bactérias presentes no intestino representam um importante papel ao extrair nutrientes e energia dos alimentos ingeridos, produzindo metabolitos essenciais e protegendo de bactérias patogénicas, melhorando as funções do sistema imunitário (57). Tal como já referido anteriormente (3), a população obesa, tal como as grávidas obesas têm habitualmente no seu microbioma uma maior quantidade de bactérias do filo *Firmicutes* e as mais magras *Bacteroidetes*. Nas grávidas, a presença de *Lactobacillus* no microbioma intestinal constitui um fator protetor contra o ganho ponderal excessivo, estando também associada a um menor risco de macrosomia fetal (57).

## **G. Depressão**

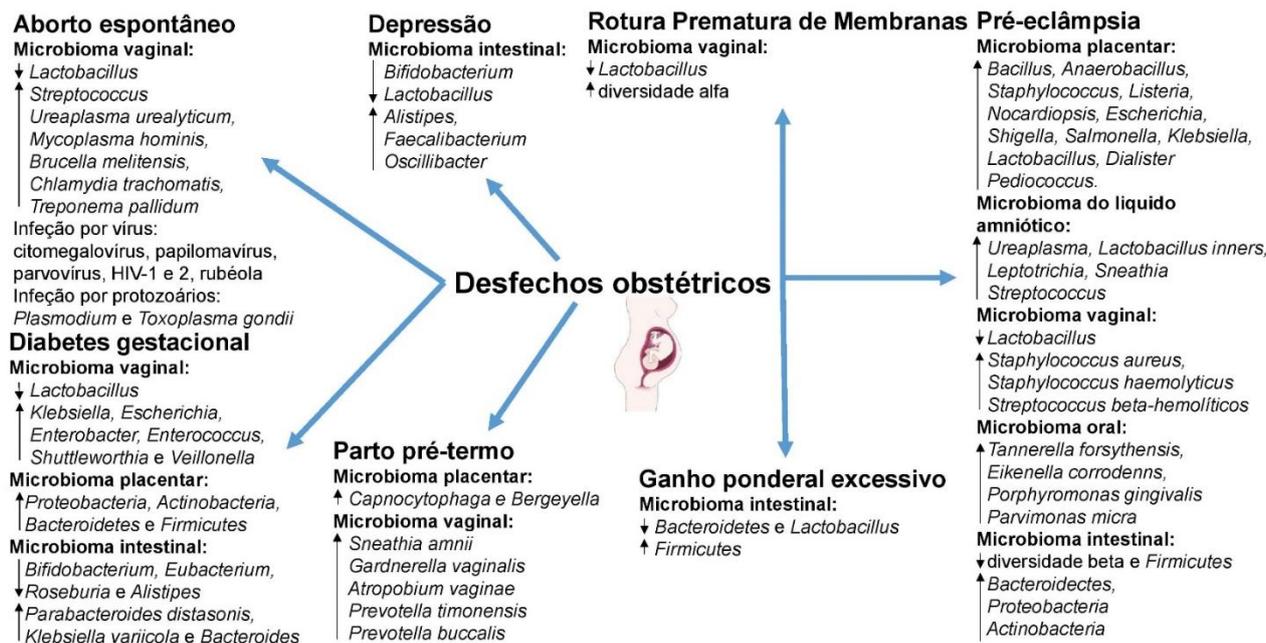
A depressão e outras patologias psiquiátricas (como por exemplo a ansiedade), são comuns durante a gravidez e o período pós-parto (58). São considerados fatores de risco a

história pessoal de perturbação depressiva, a descontinuação da terapêutica antidepressiva no início da gravidez (habitualmente suspensa pelos riscos desta medicação sobre o feto) e fatores sociais, como violência doméstica, acontecimentos negativos da vida ou baixo suporte social (59). A presença destas patologias durante a gravidez está associada a parto pré-termo, restrição do crescimento fetal, pré-eclâmpsia e diabetes gestacional (58).

Considera-se como depressão pós-parto, aquela que surge até quatro semanas após o parto. Os principais sintomas são irritabilidade, ansiedade, perturbação do sono (para além do normal provocado pelo recém-nascido) e uma sensação de preocupação excessiva com o recém-nascido. Mais raramente pode estar presente ideação suicida e receio de provocar dano ao bebé (59).

Pensa-se que grande parte dos casos de depressão pós-parto resulta de alterações induzidas pelo stresse a nível do eixo hipotálamo-hipófise, do sistema nervoso autónomo e do sistema imunitário. O stresse pode ainda favorecer o aumento da permeabilidade da mucosa intestinal, permitindo a transposição de bactérias que podem influenciar a atividade neural e as áreas cerebrais que respondem ao stresse (60).

Apesar de já serem conhecidos os mecanismos que podem justificar o desenvolvimento de depressão nas grávidas e no período após o parto devido a alterações do microbioma, esta é uma área de estudo recente, não sendo ainda conhecidas exatamente as populações bacterianas associadas (61). Alguns estudos referem alterações do microbioma intestinal, nomeadamente um aumento de bactérias dos géneros *Alistipes*, *Faecalibacterium* e *Oscillibacter* e uma diminuição de bactérias dos géneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (62).



**Figura 3** – Alterações do microbioma associadas a cada um dos desfechos obstétricos. Ilustração retirada de <https://smart.servier.com/>.

## 4. O microbioma do recém-nascido

À luz dos conhecimentos atuais sabe-se que a colonização do microbioma dos recém-nascidos ocorre durante a gravidez e não durante o parto, como era pensado anteriormente (16). Por exemplo, o mecónio tem um microbioma diferente do microbioma intestinal do adulto, apresentando menor diversidade de espécies, maior variação entre indivíduos, um aumento de bactérias do filo *Proteobacteria* e uma diminuição de *Bacteroidetes* (63).

O tipo de parto é determinante para o microbioma dos recém-nascidos. Isto está bem comprovado no estudo de *Dominguez-Bello et al* (64), no qual foram comparados o microbioma cutâneo, oral, nasofaríngeo e meconial de recém-nascidos nascidos por parto vaginal e por cesariana, sendo também registado o microbioma vaginal, cutâneo e oral das mães. Os recém-nascidos após o parto apresentaram um microbioma oral, cutâneo e nasofaríngeo semelhantes entre si. A composição do microbioma depende do tipo de parto, sendo que os que nasceram por via vaginal apresentam um microbioma similar ao microbioma vaginal materno, isto é, rico em bactérias dos géneros *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Atopobium* e *Sneathia*. Por outro lado, os nascidos por cesariana apresentavam um microbioma semelhante ao microbioma cutâneo materno, sendo dominado por *Staphylococcus*. O

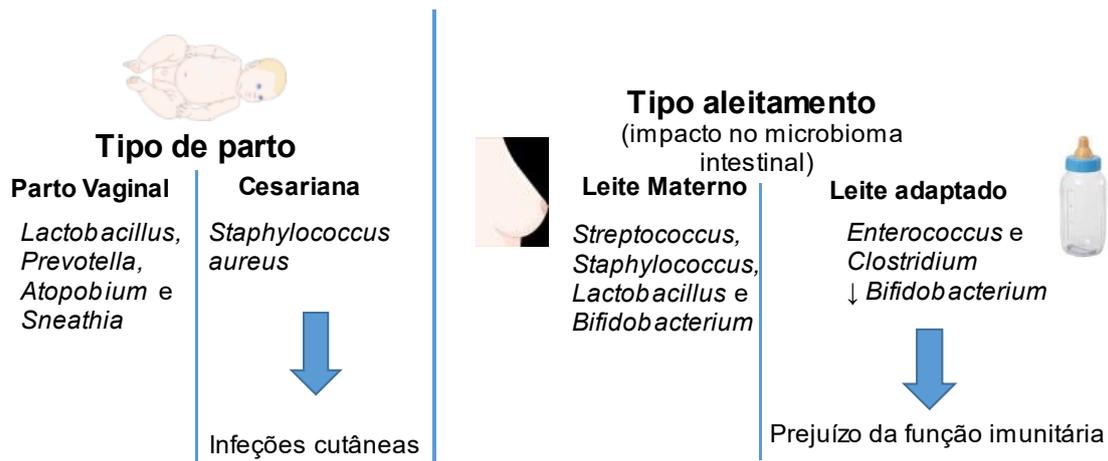
microbioma oral materno não pareceu contribuir para o microbioma do recém-nascido (figura 4).

A maior prevalência de *Staphylococcus aureus* nos recém-nascidos cujo parto foi por cesariana pode explicar a maior incidência de infecções cutâneas por *Staphylococcus aureus* meticilino-resistentes nestas crianças. Também, o facto de não terem *Lactobacillus* no seu microbioma parece ter um papel fulcral (16). A prematuridade também afeta o microbioma do recém-nascido, havendo uma diminuição de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, sendo o microbioma dominado por *Proteobacteria* (57).

Estas diferenças do microbioma entre recém-nascidos vão diminuindo com o crescimento do lactente, sendo que aos 12 meses já são quase inexistentes. Contudo, o microbioma dos nascidos por cesariana mantém-se distinto dos que nasceram por parto vaginal até mais tarde (65).

O leite materno, para além da sua função nutricional, também tem um papel importante no desenvolvimento do sistema imunitário do recém-nascido e do seu microbioma. Tem outros benefícios, como menor incidência de síndrome da morte súbita do lactente, de infecções respiratórias, diarreia e otite média aguda. Além disso, a longo prazo o aleitamento materno está associado a menor prevalência de diabetes mellitus tipo II e obesidade (66). O microbioma do leite materno é maioritariamente constituído por bactérias dos géneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, podendo ser influenciado por fatores genéticos, alterações na dieta, região geográfica, administração de antibióticos, comorbilidades e fatores perinatais, como o tipo de parto (parto vaginal está associado a maior percentagem de *Lactobacillus*), número de semanas de gestação, entre outros (67).

A alimentação com leite adaptado em detrimento de leite materno leva a alterações do microbioma intestinal dos lactentes, havendo predominantemente *Enterococcus* e *Clostridium* em vez de *Bifidobacterium*, uma bactéria conhecida pela sua importância na função imunitária. Também há alterações do microbioma oral, nomeadamente uma diminuição de *Lactobacillus* nos lactentes que se alimentam apenas com leite adaptado (figura 4) (16, 57).



**Figura 4** – Fatores condicionantes e repercussões no microbioma do recém-nascido.  
Ilustração retirada de <https://smart.servier.com/>.

## 5. Como prevenir as alterações do microbioma?

A principal forma de evitar o desenvolvimento de alterações do microbioma que podem conduzir a desfechos obstétricos adversos é atuar sobre fatores modificáveis, nomeadamente a dieta e o consumo de probióticos, stresse e outros comportamentos associados ao estilo de vida (tabela 2) (57).

**Tabela 2** – Cuidados a ter na prevenção de alterações do microbioma durante a gravidez.

### Cuidados a ter na prevenção de alterações do microbioma:

- Consumo de probióticos;
- Dieta equilibrada, rica em vegetais e hidratos de carbono;
- Evitar consumo de tabaco e tabagismo passivo;
- Evitar consumo excessivo de álcool;
- Higiene oral adequada;
- Ponderar a antibioterapia.

O consumo de probióticos, alimentos que têm na sua constituição microrganismos, nomeadamente bactérias que se sabe serem benéficas para o organismo, está associado a uma manutenção do equilíbrio do sistema imunitário, particularmente do trato gastrointestinal, pelo que pode ser uma forma de impedir alterações patológicas do microbioma durante a gravidez (68). De acordo com o estudo de *Brantsaeter et al* (69), no qual se relacionou a incidência de pré-eclâmpsia e parto pré-termo com o consumo ou não de probióticos (nomeadamente leite e derivados ricos em *Lactobacillus*), o consumo de probióticos constituiu um fator protetor contra o desenvolvimento de parto pré-termo espontâneo e pré-eclâmpsia, principalmente dos casos mais graves.

Uma dieta tipicamente ocidental, rica em proteína animal e gorduras saturadas está associada a maior percentagem de bactérias do género *Bacteroides*, que já vimos previamente estarem associadas a Diabetes Gestacional (54). Uma dieta com mais vegetais e hidratos de carbono leva a uma diminuição de *Bacteroides* e um aumento de *Prevotella*, sendo este mais um motivo para se aconselhar sempre uma dieta saudável e equilibrada às grávidas (70).

O consumo de tabaco deve ser abolido, pois também altera o microbioma oral, e, como vimos, o microbioma placentário e oral apresentam uma estreita relação (21). O tabagismo está associado à presença de bactérias do género *Clostridium* e *Bacillus* no microbioma oral. As grávidas que não fumaram no decorrer da sua gravidez, mas estiveram expostas passivamente ao fumo do tabaco também apresentaram alterações semelhantes, apesar de que em menor quantidade (71). A presença de *Bacillus* no microbioma placentário é comum nos casos de pré-eclâmpsia (44).

O consumo de álcool moderado não parece alterar a diversidade do microbioma oral, enquanto o consumo excessivo pode alterar, pelo que deve também ser evitado. Para além disso é frequente as bebidas alcoólicas terem algumas impurezas e contaminantes, adquiridos durante o processo de fabrico, principalmente durante a fermentação e destilação, que podem levar a alterações inesperadas do microbioma (71).

As práticas de higiene oral adequada são fundamentais, para evitar a proliferação de microrganismo patogénicos associados a doença periodontal, ao parto pré-termo por corioamnionite e à pré-eclâmpsia (33, 45). Com este intuito é fundamental que se mantenha o Programa Nacional de Promoção da Saúde Oral, no qual as grávidas são beneficiadas com cheque-dentista (72).

A prescrição de antibióticos durante a gravidez deve ser muito bem ponderada, devendo-se sempre considerar o risco-benefício desta terapêutica. Os principais benefícios

são o tratamento das infecções do trato urinário e de doenças sexualmente transmissíveis, que podem levar a desfechos obstétricos adversos, como aborto espontâneo e a parto pré-termo. Os principais riscos da administração de antibióticos estão relacionados a curto prazo com o aparecimento de malformações fetais e a longo prazo uma maior incidência de obesidade, asma, atopia e doenças neurológicas, como epilepsia nas crianças (73). Pensa-se que as alterações a longo prazo sejam induzidas por alterações do microbioma do recém-nascido, particularmente do gastrointestinal (74).

## Conclusão

Os desenvolvimentos mais recentes das técnicas de colheita de amostras e de sequenciamento de ADN, principalmente de sequenciamento de amplicons de 16s de ARN bacteriano, permitiram analisar e identificar em detalhe o microbioma das mulheres saudáveis em idade fértil, comparando-o com o microbioma das grávidas saudáveis e com desfechos obstétricos adversos. As alterações identificadas permitiram compreender melhor a fisiopatologia dos desfechos obstétricos adversos, justificar a associação entre alguns deles e avaliar a forma como interferem na saúde da grávida e do recém-nascido, bem como propor medidas para as evitar.

A alteração mais encontrada foi a diminuição de bactérias do género *Lactobacillus* no microbioma vaginal, que se associa a aborto espontâneo, pré-eclâmpsia e rotura prematura de membranas. A diminuição de *Lactobacillus* no microbioma intestinal leva a ganho ponderal excessivo e à depressão.

O aborto espontâneo também pode ser despoletado por outras alterações do microbioma vaginal, como a presença de bactérias como *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Brucella melitensis*, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum* e outras do género *Streptococcus*. Alguns vírus também foram associados ao aborto espontâneo, nomeadamente citomegalovírus, papilomavírus, parvovírus, HIV-1 e 2 e rubéola, tal como protozoários, como o *Toxoplasma gondii* e outros do género *Plasmodium*.

O parto pré-termo está associado a alterações do microbioma placentário (presença de *Capnocytophaga* e *Bergeyella*) e do microbioma vaginal (presença de bactérias como *Sneathia amnii*, *Gardnerella vaginalis*, *Atropobium vaginae*, *Prevotella timonensis* e *Prevotella buccalis*).

A rotura prematura de membranas foi apenas associada à diminuição de *Lactobacillus* e a um aumento da diversidade alfa no microbioma vaginal.

A ausência de esterilidade do líquido amniótico, nomeadamente pela colonização com bactérias dos géneros *Ureaplasma*, *Lactobacillus*, *Leptotrichia*, *Sneathia* e *Streptococcus* foi associada a pré-eclâmpsia, tal como a presença de *Staphylococcus* e *Streptococcus* no microbioma vaginal. Para além destas alterações, também se destacam algumas modificações no microbioma placentário, como por exemplo aumento das populações de *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Shigella* ou *Salmonella*, no microbioma oral, com maior presença de *Tannerella forsythensis*, *Eikenella corrodens*, *Porphyromonas gingivalis* e *Parvimonas micra* e no microbioma intestinal, com a diminuição de bactérias do filo *Firmicutes* e aumento de *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* e *Actinobacteria*.

A diabetes gestacional pode ser despoletada por alterações do microbioma intestinal, como diminuição de bactérias dos géneros *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Roseburia* e *Alistipes* e aumento de *Bacteroides*, *Parabacteroides distasonis* e *Klebsiella variicola*. Alterações no microbioma placentário, como aumento de bactérias dos filos *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* e *Firmicutes*, e no microbioma vaginal, como aumento de bactérias dos géneros *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Shuttleworthia* e *Veillonella* também foram associadas ao desenvolvimento de diabetes gestacional.

O desenvolvimento de depressão e de ganho ponderal excessivo foi associado apenas a alterações do microbioma intestinal. Para além da diminuição de *Lactobacillus*, a diminuição de bactérias do filo *Bacteroidetes* e aumento de *Firmicutes* destaca-se no ganho ponderal excessivo e o aumento de bactérias do género *Alistipes*, *Faecalibacterium* e *Oscillibacter* e diminuição de *Bifidobacterium* destaca-se na depressão.

O microbioma do recém-nascido pode ser alterado por vários fatores, nomeadamente o tipo de parto e o tipo de aleitamento. As diferenças do microbioma associadas ao tipo de parto podem-se manter até aos 12 meses, permanecendo até mais tarde nos casos em que o parto é por cesariana. No parto por cesariana há maior prevalência de *Staphylococcus aureus*, o que pode justificar a maior frequência de infeções cutâneas nos recém-nascidos com parto por cesariana. A alimentação com leite adaptado em detrimento de leite materno também induz alterações do microbioma, sendo de destacar a diminuição de bactérias do género *Lactobacillus*, com conhecido papel protetor.

A associação de algumas alterações do microbioma com comportamentos de risco, por exemplo o tabagismo ou uma dieta pouco equilibrada, constituem um fator determinante a favor da importância de um seguimento atento das grávidas, de forma a motivá-las para a adoção de estilos de vida saudáveis. Nesse sentido deve-se acentuar a importância da higiene oral, evicção de álcool e tabaco e no incentivo ao consumo de uma dieta rica em vegetais e hidratos de carbono e pobre em gorduras saturadas. O consumo de probióticos durante a gravidez também mostrou ser um fator protetor, nomeadamente contra a ocorrência de parto pré-termo espontâneo e pré-eclâmpsia.

No futuro, com a diminuição do custo das técnicas de sequenciamento de ADN será possível estudar um maior número de amostras de grávidas, para conhecer em pormenor a associação de cada microrganismo com os desfechos obstétricos adversos. Desta forma poderá ser possível a introdução do estudo do microbioma na prática clínica, constituindo uma nova ferramenta de diagnóstico, permitindo uma diferente abordagem a estas patologias.

## **Agradecimentos**

Agradeço à Professora Doutora Ana Luísa Areia e à Professora Doutora Anabela Mota Pinto pela orientação e todo o apoio prestado para a execução deste trabalho.

À minha família por todo o amor e suporte ao longo do percurso que me trouxe até aqui.

Agradeço à Joana por todo o carinho e ânimo que sempre transmitiu.

## Bibliografia

1. Silbergeld EK. The Microbiome. *Toxicol Pathol.* 2017;45(1):190-4.
2. Neuman H, Koren O. The Pregnancy Microbiome. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser.* 2017;88:1-9.
3. Cox LM, Blaser MJ. Pathways in microbe-induced obesity. *Cell Metab.* 2013;17(6):883-94.
4. Gregory KE. Microbiome aspects of perinatal and neonatal health. *J Perinat Neonatal Nurs.* 2011;25(2):158-64.
5. Hair M, Sharpe J. Fast facts about the human microbiome. The Center for Ecogenetics and Environmental Health. University of Washington. 2014.
6. Huang B, Fettweis JM, Brooks JP, Jefferson KK, Buck GA. The changing landscape of the vaginal microbiome. *Clin Lab Med.* 2014;34(4):747-761.
7. Tiffany CR, Bäumlér AJ. Dysbiosis: from fiction to function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2019;317(5):602-8.
8. Levy M, Kolodziejczyk AA, Thaiss CA, Elinav E. Dysbiosis and the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(4):219-232.
9. Davenport ER, Sanders JG, Song SJ, Amato KR, Clark AG, Knight R. The human microbiome in evolution. *BMC Biol.* 2017;15(1):127.
10. Fricker A, Podlesny D, Fricke W. What is new and relevant for sequencing-based microbiome research? A mini-review. *Journal of Advanced Research.* 2019;19:105-12.
11. Bakken JS, Borody T, Brandt LJ, *et al.* Treating *Clostridium difficile* infection with fecal microbiota transplantation. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2011;9(12):1044-9.
12. Younes JA, Lievens E, Hummelen R, van der Westen R, Reid G, Petrova MI. Women and Their Microbes: The Unexpected Friendship. *Trends Microbiol.* 2018;26(1):16-32.
13. Smith BC, McAndrew T, Chen Z, *et al.* The cervical microbiome over 7 years and a comparison of methodologies for its characterization. *PLoS One.* 2012;7(7):e40425.
14. Schwartz A, Taras D, Schäfer K, *et al.* Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity (Silver Spring).* 2010;18(1):190-5.
15. Verma D, Garg PK, Dubey AK. Insights into the human oral microbiome. *Arch Microbiol.* 2018;200(4):525-540.
16. Nuriel-Ohayon M, Neuman H, Koren O. Microbial Changes during Pregnancy, Birth, and Infancy. *Front Microbiol.* 2016;7:1031.
17. Aagaard K, Riehle K, Ma J, *et al.* A metagenomic approach to characterization of the vaginal microbiome signature in pregnancy. *PLoS One.* 2012;7(6):e36466.
18. Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, *et al.* Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell.* 2012;150(3):470-480.

19. Mukhopadhyaya I, Hansen R, El-Omar EM, Hold GL. IBD-what role do Proteobacteria play?. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2012;9(4):219-30.
20. Fujiwara N, Tsuruda K, Iwamoto Y, *et al*. Significant increase of oral bacteria in the early pregnancy period in Japanese women. *J Investig Clin Dent*. 2017;8(1):10.1111/jicd.12189.
21. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014;6(237):237ra65.
22. Africa C, Kayitenkore J, Bayingana C. Examination of maternal gingival crevicular fluid for the presence of selected periodontopathogens implicated in the pre-term delivery of low birthweight infants. *Virulence*. 2010;1(4):254-9.
23. Rehbinder EM, Lødrup Carlsen KC, Staff AC, *et al*. Is amniotic fluid of women with uncomplicated term pregnancies free of bacteria?. *Am J Obstet Gynecol*. 2018;219(3):289.e1-289.e12.
24. Lim ES, Rodriguez C, Holtz LR. Amniotic fluid from healthy term pregnancies does not harbor a detectable microbial community. *Microbiome*. 2018;6(1):87. doi: 10.1186/s40168-018-0475-7. Erratum in: *Microbiome*. 2019;7(1):22.
25. Chu DM, Seferovic M, Pace RM, Aagaard KM. The microbiome in preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018;52:103-13.
26. Al-Memar M, Bobdiwala S, Fourie H, *et al*. The association between vaginal bacterial composition and miscarriage: a nested case-control study. *BJOG*. 2020;127(2):264-74.
27. Walter MA, Alvarado MS. Clinical Aspects of Miscarriage. *MCN Am J Matern Child Nurs*. 2018;43(1):6-12.
28. Rocchetti TT, Marconi C, Rall VL, Borges VT, Corrente JE, da Silva MG. Group B streptococci colonization in pregnant women: risk factors and evaluation of the vaginal flora. *Arch Gynecol Obstet*. 2011;283(4):717-21.
29. Giakoumelou S, Wheelhouse N, Cuschieri K, Entrican G, Howie SE, Horne AW. The role of infection in miscarriage. *Hum Reprod Update*. 2016;22(1):116-33.
30. Vogel JP, Chawanpaiboon S, Moller AB, Watananirun K, Bonet M, Lumbiganon P. The global epidemiology of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018;52:3-12.
31. Tabatabaei N, Eren AM, Barreiro LB, Yotova V, Dumaine A, Allard C, Fraser WD. Vaginal microbiome in early pregnancy and subsequent risk of spontaneous preterm birth: a case-control study. *BJOG*. 2019;126(3):349-58.
32. Vinturache AE, Gyamfi-Bannerman C, Hwang J, Mysorekar IU, Jacobsson B; Preterm Birth International Collaborative (PREBIC). Maternal microbiome - A pathway to preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2016;21(2):94-9.

33. Fox C, Eichelberger K. Maternal microbiome and pregnancy outcomes. *Fertil Steril*. 2015;104(6):1358-63.
34. Stout MJ, Zhou Y, Wylie KM, Tarr PI, Macones GA, Tuuli MG. Early pregnancy vaginal microbiome trends and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;217(3):356.e1-356.e18.
35. Fettweis JM, Serrano MG, Brooks JP, *et al*. The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat Med*. 2019;25(6):1012-21.
36. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, *et al*. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108:4680-7.
37. Menon R, Richardson LS. Preterm prelabor rupture of the membranes: A disease of the fetal membranes. *Semin Perinatol*. 2017;41(7):409-19.
38. Tsakiridis I, Mamopoulos A, Chalkia-Prapa EM, Athanasiadis A, Dagklis T. Preterm Premature Rupture of Membranes: A Review of 3 National Guidelines. *Obstet Gynecol Surv*. 2018;73(6):368-75.
39. Brown RG, Al-Memmar M, Marchesi JR, *et al*. Establishment of vaginal microbiota composition in early pregnancy and its association with subsequent preterm prelabor rupture of the fetal membranes. *Transl Res*. 2019;207:30-43.
40. Ramos JGL, Sass N, Costa SHM. Preeclampsia. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2017;39(9):496-512.
41. Mol BWJ, Roberts CT, Thangaratinam S, Magee LA, de Groot CJM, Hofmeyr GJ. Preeclampsia. *Lancet*. 2016;387(10022):999-1011.
42. Esike COU, Chukwuemeka UI, Anozie OB, Eze JN, Aluka OC, Twomey DE. Eclampsia in rural Nigeria: The unmitigating catastrophe. *Ann Afr Med*. 2017;16(4):175-80.
43. Phipps E, Prasanna D, Brima W, Jim B. Preeclampsia: Updates in Pathogenesis, Definitions, and Guidelines. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016;11(6):1102-13.
44. Amarasekara R, Jayasekara RW, Senanayake H, Dissanayake VH. Microbiome of the placenta in pre-eclampsia supports the role of bacteria in the multifactorial cause of pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol Res*. 2015;41(5):662-9.
45. Ahmadian E, Rahbar Saadat Y, Hosseiniyan Khatibi SM, *et al*. Pre-Eclampsia: Microbiota possibly playing a role. *Pharmacol Res*. 2020;155:104692.
46. Kunnen A, van Doormaal JJ, Abbas F, Aarnoudse JG, van Pampus MG, Faas MM. Periodontal disease and pre-eclampsia: a systematic review. *J Clin Periodontol*. 2010;37(12):1075-87.
47. Ivankiv VY, Malanchyn IM, Tkachuk NI. Microbiota of vagina and mammary glands skin in the pregnant women with preeclampsia. *Int J Med Med Res*. 2018;4(2):44-9.

48. Wang J, Gu X, Yang J, Wei Y, Zhao Y. Gut Microbiota Dysbiosis and Increased Plasma LPS and TMAO Levels in Patients With Preeclampsia. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019;9:409.
49. Zeisel SH, Warrier M. Trimethylamine N-Oxide, the Microbiome, and Heart and Kidney Disease. *Annu Rev Nutr.* 2017;37:157-81.
50. Mack LR, Tomich PG. Gestational Diabetes: Diagnosis, Classification, and Clinical Care. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2017;44(2):207-17.
51. Almeida M, Dores J, Ruas L, *et al.* Consenso "Diabetes Gestacional": Atualização 2017. *RPD.* 2017;12(1):24-38.
52. Cortez RV, Taddei CR, Sparvoli LG, *et al.* Microbiome and its relation to gestational diabetes. *Endocrine.* 2019;64(2):254-64.
53. Bassols J, Serino M, Carreras-Badosa G, *et al.* Gestational diabetes is associated with changes in placental microbiota and microbiome. *Pediatr Res.* 2016;80(6):777-84.
54. Kuang YS, Lu JH, Li SH, *et al.* Connections between the human gut microbiome and gestational diabetes mellitus. *Gigascience.* 2017;6(8):1-12.
55. McDowell M, Cain MA, Brumley J. Excessive Gestational Weight Gain. *J Midwifery Womens Health.* 2019;64(1):46-54.
56. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Committee opinion no. 548: weight gain during pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2013;121(1):210-212.
57. Dunlop AL, Mulle JG, Ferranti EP, Edwards S, Dunn AB, Corwin EJ. Maternal Microbiome and Pregnancy Outcomes That Impact Infant Health: A Review. *Adv Neonatal Care.* 2015;15(6):377-85.
58. Becker M, Weinberger T, Chandy A, Schmukler S. Depression During Pregnancy and Postpartum. *Curr Psychiatry Rep.* 2016;18(3):32.
59. Stewart DE, Vigod S. Postpartum Depression. *N Engl J Med.* 2016;375(22):2177-86.
60. Redpath N, Rackers HS, Kimmel MC. The Relationship Between Perinatal Mental Health and Stress: a Review of the Microbiome. *Curr Psychiatry Rep.* 2019;21(3):18.
61. Qiu W, Hodges TE, Clark EL, Blankers SA, Galea LAM. Perinatal depression: Heterogeneity of disease and in animal models. *Front Neuroendocrinol.* 2020;59:100854.
62. Peñalver Bernabé B, Maki PM, Dowty SM, *et al.* Precision medicine in perinatal depression in light of the human microbiome. *Psychopharmacology (Berl).* 2020;237(4):915-41.
63. Hu J, Nomura Y, Bashir A, *et al.* Diversified microbiota of meconium is affected by maternal diabetes status. *PLoS One.* 2013;8(11):e78257.

64. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, *et al.* Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(26):11971-5.
65. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, *et al.* Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host Microbe.* 2015;17(5):690-703.
66. Mosca F, Gianni ML. Human milk: composition and health benefits. *Pediatr Med Chir.* 2017;39(2):155.
67. Gomez-Gallego C, Garcia-Mantrana I, Salminen S, Collado MC. The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016;21(6):400-5.
68. Wilkins T, Sequoia J. Probiotics for Gastrointestinal Conditions: A Summary of the Evidence. *Am Fam Physician.* 2017;96(3):170-8.
69. Brantsaeter AL, Myhre R, Haugen M, *et al.* Intake of probiotic food and risk of preeclampsia in primiparous women: the Norwegian Mother and Child Cohort Study. *Am J Epidemiol.* 2011;174(7):807-15.
70. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, *et al.* Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science.* 2011;334(6052):105-8.
71. Jia G, Zhi A, Lai PFH, *et al.* The oral microbiota - a mechanistic role for systemic diseases. *Br Dent J.* 2018;224(6):447-55.
72. Direção Geral de Saúde. Alargamento do Programa Nacional de Promoção da Saúde Oral – grávidas e pessoas idosas - Informações Técnicas. 2008.
73. Bookstaver PB, Bland CM, Griffin B, Stover KR, Eiland LS, McLaughlin M. A Review of Antibiotic Use in Pregnancy. *Pharmacotherapy.* 2015;35(11):1052-62.
74. Kuperman AA, Koren O. Antibiotic use during pregnancy: how bad is it?. *BMC Med.* 2016;14(1):91.