



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Catarina Alexandra Conceição Pereira

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Microbioma: influência na gravidez e/ou infertilidade?” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação do Dr. Armando Alcobia, do Dr. Ricardo Gonçalves e da Professora Doutora Gabriela Silva, e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2020



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Catarina Alexandra Conceição Pereira

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Microbioma: influência na gravidez e/ou infertilidade?” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação do Dr. Armando Alcobia, Dr. Ricardo Gonçalves e Professora Doutora Gabriela Silva, e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2020

Declaração de Honra

Eu, Catarina Alexandra Conceição Pereira, estudante de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2015235331, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo dos documentos Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Microbioma: influência na gravidez e/ou infertilidade?” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 8 de setembro de 2020.

Catarina Alexandra Conceição Pereira

(Catarina Alexandra Conceição Pereira)

Agradecimentos

Aos meus pais, o meu maior exemplo e a minha inspiração.

Ao meu irmão, com quem aprendi a partilhar.

Aos meus avós, pelos ensinamentos e valores transmitidos.

A meu namorado, companheiro de aventuras e desaventuras.

A toda a restante família, por todo o apoio.

Aos amigos, pelas memórias eternas.

A Coimbra, onde cheguei menina e de onde saí mulher.

Um agradecimento especial aos meus orientadores,

Professora Doutora Gabriela Silva, Dr. Armando Alcobia e Dr. Ricardo Gonçalves,

por todo o apoio e atenção.

Índice

Parte I - Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar

Abreviaturas.....	7
1. Introdução	8
2. Hospital Garcia de Orta.....	8
2.1.Serviços Farmacêuticos	9
3. Análise SWOT.....	10
3.1.Pontos Fortes.....	10
3.1.1. Plano de estágio.....	10
3.1.2. Preparação de medicamentos manipulados.....	11
3.1.3. Preparação de misturas estéreis	12
3.1.4. Programa “Pharmacess”	12
3.2.Pontos Fracos	13
3.2.1. Duração do estágio.....	13
3.3.Oportunidades.....	13
3.3.1. Elaboração de um trabalho	13
3.3.2. Acompanhamento de visitas médicas	14
3.3.3. Auxílio na alteração do stock de um serviço.....	14
3.3.4. Ambulatório.....	14
3.4.Ameaças	15
3.4.1. Limitação da aprendizagem devido à escassez de medicamentos	15
4. Conclusão.....	15
5. Bibliografia	17

Parte II - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas.....	19
1. Introdução	20
2. Farmácia da Conchada.....	20
3. Análise SWOT.....	21
3.1.Pontos Fortes.....	21
3.1.1. Integração na equipa da farmácia.....	21
3.1.2. Aprendizagem por etapas.....	22
3.1.3. Atendimento ao público	23
3.1.4. Única estagiária	23
3.2.Pontos Fracos.....	24
3.2.1. Sistema operativo.....	24
3.2.2. Preparação de medicamentos manipulados	24

3.2.3. Nomes Comerciais	25
3.3.Oportunidades	25
3.3.1. Aprendizagem contínua.....	25
3.3.2. Receitas manuais.....	25
3.3.3. Aconselhamento e dispensa de medicamentos	26
3.4.Ameaças.....	27
3.4.1. Desvalorização do estagiário	27
3.4.2. Alteração e suspensão de serviços farmacêuticos.....	27
4. Casos Práticos	28
5. Conclusão.....	29
6. Bibliografia	30

PARTE III - Monografia “Microbioma: influência na gravidez e ou infertilidade?”

Abreviaturas.....	32
Abstract	34
Resumo	36
1. Introdução	38
2. Microbiota do trato reprodutivo feminino	40
2.1.Microbiota do trato reprodutivo inferior	41
2.2.Microbiota do trato reprodutivo superior	43
3. Microbiota e o sistema imunitário	45
4. Impacto da contraceção no microbiota vaginal	47
4.1.Bactérias com atividade espermicida natural.....	48
5. Infecções do trato reprodutivo feminino	49
5.1.Infecções do trato reprodutivo inferior	49
5.2.Infecções do trato reprodutivo superior	51
6. Impacto do microbiota na reprodução.....	52
6.1.Influência do microbiota na gravidez.....	54
6.2.Influência do microbiota na fertilidade e em tratamentos de reprodução assistida.....	59
7. Tratamentos.....	64
8. Conclusão.....	67
9. Bibliografia	69

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar



Abreviaturas

AA: Assistentes Administrativos

AO: Assistentes Operacionais

CHKS: *Caspe Healthcare Knowledge Systems*

EPE: entidade pública empresarial

FFUC: Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

HGO: Hospital Garcia de Orta

LASA: *Look-Alike – Sound-Alike*

MAM: Medicamentos de alerta máximo

MICF: Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SF: Serviços Farmacêuticos

SIDA: Síndrome da imunodeficiência adquirida

SWOT: *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

TDM: *Therapeutic Drug Monitoring*

TDT: Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica

1. Introdução

O presente relatório foi elaborado no âmbito do estágio curricular em Farmácia Hospitalar realizado no Hospital Garcia de Orta (HGO), EPE, inserido no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC).

O farmacêutico, enquanto especialista do medicamento, pode exercer a sua atividade profissional em diversas áreas, sendo uma delas a Farmácia Hospitalar. Enquanto elemento de uma equipa multidisciplinar, o farmacêutico assume um papel preponderante nos Hospitais, estando envolvido em todo o circuito do medicamento.

A escolha de um estágio em Farmácia Hospitalar deveu-se ao grande interesse que sempre possui pela área, considerando a sua importância como um complemento à formação académica e como forma de compreender melhor a realidade da prática farmacêutica em ambiente hospitalar, antes do ingresso no mercado de trabalho. Escolhi o HGO, em Almada, para a realização do estágio, que teve início no dia 6 de janeiro e terminou no dia 21 de fevereiro, com a duração total de 280 horas. Este foi realizado sob a orientação do Dr. Armando Alcobia, diretor dos Serviços Farmacêuticos (SF) do HGO, com a colaboração de toda a equipa de trabalho.

O relatório de estágio irá abordar as atividades desenvolvidas durante o estágio curricular, sob o formato de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), que permite avaliar as forças, fraquezas, oportunidades e ameaças encontradas ao longo do estágio.

2. Hospital Garcia de Orta

O Hospital Garcia de Orta, localizado em Almada, é um Hospital público provido de autonomia administrativa, financeira e patrimonial. Iniciou a sua atividade em setembro de 1991, apresentando desde então um forte desenvolvimento e grau de diferenciação, que culminaram, em 2003, na sua classificação como Hospital Central, sendo atualmente uma entidade pública empresarial (EPE).¹

O HGO presta cuidados de saúde à população dos concelhos de Almada, Seixal e Sesimbra, servindo uma população de aproximadamente 350 mil habitantes.¹ Desenvolve ainda atividades no âmbito da investigação, da formação de profissionais de saúde e atividades de ensino, em colaboração com entidades públicas e privadas.²

2.1. Serviços farmacêuticos

Os serviços farmacêuticos do HGO têm uma ação centrada no âmbito da política e gestão do circuito do medicamento, sendo o seu principal objetivo garantir a disponibilidade do medicamento certo, para o doente certo no momento certo. Neste sentido, a ação dos SF centra-se na racionalização do uso do medicamento, garantindo que as opções terapêuticas são utilizadas de uma forma custo-efetiva, com a melhor aplicação dos recursos financeiros. Os SF garantem ainda a disponibilização de informação e apoio aos serviços clínicos na área do medicamento, bem como a monitorização do uso do medicamento, assegurando uma minimização dos erros e uma maximização da segurança do doente.³ Para isto, os serviços farmacêuticos possuem uma equipa multidisciplinar, constituída por Farmacêuticos, Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica (TDT), Assistentes Operacionais (AO) e Assistentes Administrativos (AA). A equipa de farmacêuticos é formada por 15 profissionais de saúde que, em colaboração com os outros profissionais dos SF, exercem funções nas áreas de:

- Seleção, aquisição e armazenamento de produtos farmacêuticos;
- Informação do medicamento;
- Distribuição;
- Medicamentos experimentais;
- Rádio-farmácia;
- Preparação (farmacotecnia e citostáticos);
- Farmacovigilância;
- Farmacocinética;
- Farmácia clínica.

Os serviços farmacêuticos do HGO localizam-se no piso 2 do hospital, funcionando de segunda-feira a sexta-feira das 8h às 20h e aos sábados das 9h às 17h. Fora do horário de funcionamento, qualquer necessidade é assegurada por um farmacêutico destacado para prevenção.³

Os SF estão estruturados nas seguintes zonas:

1. Zona de receção de encomendas.
2. Armazém.
3. Sala com frigorífico e Kardex de frio.
4. Sala de reembalagem manual e automática.
5. Zona de distribuição, com Kardex de dose unitária e Kardex de reposição de níveis.

6. Sala dos farmacêuticos.
7. Sala de ensaios clínicos.
8. Laboratório de farmacotecnia.
9. Laboratório para preparação de misturas estéreis.
10. Laboratório para preparação de citostáticos.
11. Sala de lavagem do material de laboratório.
12. Sala de armazenamento de estupefacientes e psicotrópicos.
13. Ambulatório.

3. Análise SWOT

A análise SWOT é uma ferramenta de análise que compreende duas dimensões: interna e externa. No âmbito interno são avaliados os pontos fortes e os pontos fracos e no âmbito externo são avaliadas as oportunidades e fraquezas.

Tabela 1: Análise SWOT

Dimensão interna	
Pontos Fortes	Pontos Fracos
Plano de estágio	Duração do estágio
Preparação de medicamentos manipulados	
Preparação de misturas estéreis	
Programa “Pharmacess”	
Dimensão externa	
Oportunidades	Ameaças
Elaboração de um trabalho	Limitação da aprendizagem devido à escassez de medicamentos
Acompanhamento de visitas médicas	
Auxílio na alteração do stock de um serviço	
Ambulatório	

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Plano de estágio

No primeiro dia de estágio foi atribuído um plano de estágio, de forma a garantir a participação dos estagiários nas diferentes atividades desempenhadas nos serviços farmacêuticos. O estágio foi desenvolvido nas seguintes áreas:

- Seleção, Aquisição e Armazenamento de Medicamentos e Produtos Farmacêuticos;
- Distribuição e Informação a Doentes em Regime de Ambulatório;
- Informação, Distribuição e Atividades de Farmácia Clínica;
- Produção e Controlo de Formas Farmacêuticas.

O tempo de permanência em cada uma das áreas foi de duas semanas. A passagem por cada uma destas áreas permitiu uma melhor perceção das atividades desempenhadas em cada sector e do papel do farmacêutico hospitalar nas mesmas. Assim, considerando que esta organização do estágio se trata de um ponto forte.

3.1.2. Preparação de medicamentos manipulados

A preparação de medicamentos manipulados, destinados a doentes internados no Hospital e para dispensa em ambulatório, é realizada diariamente no laboratório de farmacotecnia. A preparação é realizada de acordo com fichas de preparação, as quais são elaboradas pelos SF, sendo todas as etapas do processo controladas e validadas por um farmacêutico, incluindo pesagens efetuadas durante as preparações. Neste caso particular, uma vez que não é possível a presença de um farmacêutico em todas as preparações, que são habitualmente preparadas por um TDT, é efetuado um registo fotográfico das pesagens, que é anexado à ficha de preparação. No final, qualquer manipulado tem que ser validado por um farmacêutico antes da sua cedência.

A preparação de medicamentos manipulados garante uma personalização e individualização da terapêutica, através da preparação de formulações que não estão disponíveis no mercado como, por exemplo, formulações para uso pediátrico ou medicamentos com ajuste de dose para doentes com insuficiência renal. No laboratório de farmacotecnia são preparados vários medicamentos manipulados, dos quais posso destacar a suspensão analgésica para doentes neutropénicos, por ser o medicamento manipulado mais cedido.

Durante o estágio tive a oportunidade de preparar dois medicamentos manipulados de uso exclusivo por um único doente: *rockets* de lidocaína e cápsulas de acetato de zinco. Neste sentido, considero a passagem nesta área muito importante na medida em que me permitiu compreender a sua importância na resposta às necessidades do Hospital, através preparação de formulações não disponíveis no mercado.

3.1.3. Preparação de misturas estéreis

Nos SF do HGO a preparação de formas farmacêuticas estéreis é realizada por técnicos de farmácia, sob a supervisão de um farmacêutico. Todas as prescrições são validadas por um farmacêutico, sendo, de seguida, efetuada a preparação do tabuleiro, na antecâmara, onde são colocados todos os constituintes e materiais necessários à preparação. O tabuleiro é colocado num intercomunicador, com porta dupla, para que possa ser transferido para a câmara, onde é realizada a preparação.

O controlo microbiológico é efetuado em todas as preparações, de forma a garantir a deteção de contaminações bacterianas, usando placas de meio de gelose de sangue. É efetuado o controlo do ar da câmara de fluxo laminar horizontal, colocando duas placas abertas na zona de trabalho, e o controlo das luvas utilizadas pelo operador, no final da preparação.

Durante o estágio tive a oportunidade de auxiliar na preparação de algumas formas farmacêuticas estéreis, das quais destaco:

- Colírios fortificados para o tratamento de afeções oculares;
- Seringas de cefuroxima para administração intracamerular, para profilaxia na cirurgia de catarata;
- Nutrições parentéricas (NP) para adultos, pediatria e neonatologia.

3.1.4. Programa “Pharmacess”

O “*pharmacess*” é um programa desenvolvido pelo ambulatório dos SF do HGO, sendo este o único hospital nacional a realizar esta prática, o que lhe confere uma elevada distinção. É um programa de acessibilidade para doentes com dificuldades físicas e sociais, que permite o envio de medicamentos para outros hospitais e farmácias mais próximos do local de residência destes doentes. Para que um doente possa integrar este programa tem que submeter uma candidatura, sendo posteriormente sujeito a uma avaliação realizada por um assistente social. Atualmente o “*pharmacess*” já se encontra lotado, não sendo possível a inclusão de mais pessoas, existindo já uma lista de espera para doentes que querem integrar o programa.

Considero o contacto com o “*pharmacess*” um ponto forte do meu estágio, uma vez que o Hospital Garcia de Orta é pioneiro neste programa e, desta forma, tive a oportunidade de contactar com uma atividade exclusiva deste Hospital. A existência deste programa demonstra

uma preocupação constante dos SF no cumprimento do seu objetivo principal, que consiste na garantia do medicamento certo, para o doente certo, no momento certo.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Duração do estágio

Apesar de considerar uma oportunidade a realização de um estágio curricular em Farmácia Hospitalar, o seu tempo de duração não é suficiente para um conhecimento sólido das funções desempenhadas pelo farmacêutico hospitalar. A elaboração de um plano de estágio, como referi anteriormente, permitiu-me contactar com os principais setores dos serviços farmacêuticos, tendo-me sido dada a oportunidade de executar muitas das atividades desempenhadas pelos farmacêuticos nestes setores. No entanto, a curta duração do estágio e, conseqüentemente, o tempo de permanência em cada um dos setores, é insuficiente para uma aprendizagem prática, o que faz com que grande parte do estágio seja observacional. Além disto, algumas das áreas de intervenção do farmacêutico no ambiente hospitalar não foram devidamente experienciadas durante o estágio, nomeadamente a área de Ensaio Clínicos, a qual me foi dada a conhecer através de uma breve explicação por parte do farmacêutico responsável.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Elaboração de um trabalho

No primeiro dia de estágio foi solicitada a elaboração de um trabalho, a par com o colega de estágio, baseado num tema de interesse global e com aplicação prática nos SF. O tema foi escolhido pelo diretor dos serviços farmacêuticos, o Dr. Armando Alcobia, juntamente com toda a equipa de farmacêuticos. Neste sentido, realizamos e apresentamos para toda a equipa de farmacêuticos um trabalho sobre “*Therapeutic Drug Monitoring (TDM)* de medicamentos biológicos”, o qual poderá ter impacto na dinâmica dos SF. Considero a realização deste trabalho uma oportunidade, uma vez que a TDM de medicamentos biológicos é uma prática pouco utilizada a nível nacional. Assim, este trabalho permitiu-me demonstrar que a TDM de medicamentos biológicos apresenta diversas vantagens, tanto terapêuticas como económicas, podendo a sua implementação pelos SF do HGO ser uma mais valia para o Hospital e para os seus doentes.

3.3.2. Acompanhamento de visitas médicas

Todas as semanas, o farmacêutico responsável por cada um dos serviços acompanha a visita médica desse serviço, onde é discutido o quadro clínico de cada doente, bem como a terapêutica instituída. O farmacêutico desempenha um papel importante nestas reuniões, na medida em que detém o conhecimento necessário para sugerir alterações à terapêutica e alertar para interações medicamentosas.

Durante o estágio tive a oportunidade de acompanhar as visitas médicas dos serviços de Medicina III e Medicina V, o que me permitiu ter um contacto mais próximo com uma das áreas de intervenção do farmacêutico hospitalar. Além disso, estas visitas permitiram-me olhar para o farmacêutico como um profissional que integra uma equipa multidisciplinar, que trabalha para o mesmo objetivo: o bem-estar do doente.

3.3.3. Auxílio na alteração do stock de um serviço

Durante o estágio foi-me solicitado pela farmacêutica responsável pelo serviço de Neurocirurgia o apoio para a alteração do *stock* de medicamentos deste serviço. Em primeiro lugar foi feita a avaliação do consumo médio anual e semanal de medicamentos, o que permitiu incluir ou eliminar medicamentos do *stock* do serviço, bem como definir um *stock* médio para cada um dos medicamentos. Posteriormente, foi realizada a identificação de fármacos *Look-Alike – Sound-Alike* (LASA), que são medicamentos muito suscetíveis de serem confundidos por terem uma ortografia e/ou fonética semelhantes, bem como de medicamentos de alerta máximo (MAM), que são medicamentos que têm um risco aumentado de provocar danos significativos nos doentes quando ocorrem falhas no seu processo de utilização. Desta forma, considero esta experiência uma oportunidade, uma vez que me permitiu acompanhar de forma próxima o papel determinante que o farmacêutico desempenha na gestão do medicamento dentro do hospital.

3.3.4. Ambulatório

Apesar do tempo de permanência no ambulatório ter sido equivalente ao das outras áreas, considero que este foi o setor de maior aprendizagem durante o meu estágio. No ambulatório é realizada a cedência de medicamentos para o tratamento de hipertensão pulmonar, síndrome

da imunodeficiência adquirida (SIDA), hepatite B, hepatite C e insuficiência renal crónica, bem como de doenças oncológicas e neurológicas.

Durante a minha passagem no ambulatório experienciei de perto a relação farmacêutico-utente, tendo percebido o importante papel que o farmacêutico desempenha na consciencialização para o uso racional do medicamento. Neste setor foi-me dada a oportunidade de desempenhar o papel do farmacêutico de forma completamente autónoma, o que considero uma mais-valia para o meu futuro profissional.

3.4. Ameaças

3.4.1. Limitação da aprendizagem devido à escassez de medicamentos

Durante o meu estágio, o HGO atravessou um período de grande dificuldade devido à escassez de um elevado número de medicamentos. Alguns dos medicamentos esgotados eram insubstituíveis e fundamentais para a sobrevivência dos doentes. Devido a esta situação, a preocupação da equipa de farmacêuticos era constante e as atividades diárias das farmacêuticas responsáveis pela área de gestão e aprovisionamento baseavam-se na procura de soluções para esta problemática. Posto isto, o tempo disponível para o meu ensino e acompanhamento foi limitado, particularmente no setor anteriormente referido. Desta forma, considero que a carência de medicamentos foi uma ameaça ao meu estágio pelo facto de ter comprometido a minha aprendizagem.

4. Conclusão

A realização do estágio em farmácia hospitalar permitiu-me conhecer, em ambiente prático, o funcionamento dos serviços farmacêuticos, bem como as funções de um farmacêutico hospitalar. O farmacêutico hospitalar, enquanto especialista do medicamento, desempenha um papel fundamental em todo o circuito do medicamento, desde a sua aquisição até à sua administração.

O farmacêutico hospitalar integra uma equipa multidisciplinar, na qual todos os profissionais de saúde trabalham para garantir o bem-estar do doente. Apesar da existência deste conceito de equipa, considero que o farmacêutico ainda tem pouco reconhecimento no ambiente hospitalar e que o seu conhecimento nem sempre é valorizado pelos restantes profissionais de saúde.

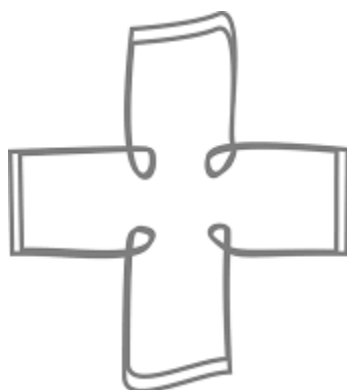
Considero que o estágio nos serviços farmacêuticos do Hospital Garcia de Orta teve um grande contributo para a minha formação. Durante o estágio tive a oportunidade de consolidar e aprofundar os conhecimentos adquiridos ao longo do curso, bem como de adquirir novos conhecimentos, tanto profissionais como pessoais, que serão imprescindíveis para o meu futuro profissional e pessoal. Toda a equipa dos serviços farmacêuticos contribuiu para esta aprendizagem, pelo que terminei o meu estágio com uma grande palavra de agradecimento para com todos os profissionais de saúde. Assim, concluí esta etapa com uma grande sensação de dever cumprido e com a certeza de que o empenho e dedicação que mantive ao longo do estágio foram reconhecidos.

5. Bibliografia

1. Hospital Garcia de Orta – Apresentação. [Acedido a 15 de fevereiro de 2020]. Disponível em: <http://www.hgo.pt/Hospital/Historia.aspx>
2. Hospital Garcia de Orta – Visão, Missão e Valores. [Acedido a 15 de fevereiro de 2020]. Disponível em: <http://www.hgo.pt/Hospital/VisaoMissaoValores.aspx>
3. Hospital Garcia de Orta – Farmácia. [Acedido a 29 de fevereiro de 2020]. Disponível em: <http://www.hgo.pt/Servicos/ApoioTecnico/Farmacia.aspx>

Parte II

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária



FARMÁCIA DA
CONCHADA

Abreviaturas

FFUC: Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

MICF: Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MSRM: Medicamentos sujeitos a receita médica

RCM: Resumo das Características do Medicamento

SWOT: *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

SARS-CoV-2: síndrome respiratória aguda grave 2.

1. Introdução

O presente relatório foi elaborado no âmbito do estágio curricular em Farmácia Comunitária realizado na Farmácia da Conchada, inserido no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC).

O estágio em Farmácia Comunitária oferece-nos a oportunidade de aprofundar e colocar em prática os conhecimentos adquiridos ao longo do curso, estabelecendo uma ponte entre o ensino e a prática profissional. A Farmácia Comunitária é um local que presta diversos serviços de apoio à comunidade, sendo o farmacêutico comunitário um profissional de saúde com uma elevada competência técnico-científica. O farmacêutico comunitário, enquanto especialista do medicamento, tem como principal missão a promoção do uso racional do medicamento. Além disto, por ser um profissional de saúde de proximidade, o farmacêutico comunitário é também responsável pelos seguintes serviços: gestão e otimização da terapêutica, através da realização de um acompanhamento farmacoterapêutico; administração de medicamentos; determinação de parâmetros; identificação de doentes de risco; deteção precoce de diversas patologias; e promoção de estilos de vida mais saudáveis. Assim, o farmacêutico desempenha um papel preponderante na promoção da saúde e bem-estar do doente.¹

A Farmácia da Conchada, em Coimbra, foi o local escolhido para a realização do meu estágio, que teve início no dia 2 de março e terminou no dia 28 de agosto, com a duração total de 681 horas. Devido à pandemia de Covid-19, o estágio esteve suspenso entre o dia 15 de março e o dia 1 de junho. Este foi realizado sob a orientação do Dr. Ricardo Gonçalves, diretor técnico, com a colaboração de toda a equipa de trabalho.

O relatório de estágio irá abordar as atividades desenvolvidas durante o estágio curricular, sob o formato de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), que permite avaliar as forças, fraquezas, oportunidades e ameaças encontradas ao longo do estágio.

2. Farmácia da Conchada

A Farmácia da Conchada situa-se na Rua da Saragoça, na cidade de Coimbra. Foi fundada há mais de 150 anos, estando sob a direção técnica do Dr. Ricardo Gonçalves desde 2018. A farmácia funciona de segunda-feira a sexta-feira das 8h30 às 20h e aos sábados das 9h às 13h.

A equipa técnica da Farmácia da Conchada é constituída por cinco profissionais de saúde: três farmacêuticos, uma técnica de farmácia e um técnico auxiliar de farmácia. Estes profissionais de saúde desempenham diversos serviços, estando a sua ação centrada na promoção da saúde e bem-estar dos utentes.

A farmácia faz parte do grupo Coimbra, o qual é constituído por 55 farmácias da região norte-centro.

3. Análise SWOT

A análise SWOT é uma ferramenta de análise que compreende duas dimensões: interna e externa. No âmbito interno são avaliados os pontos fortes e os pontos fracos e no âmbito externo são avaliadas as oportunidades e fraquezas.

Tabela I: Análise SWOT

Dimensão interna	
Pontos Fortes	Pontos Fracos
Integração na equipa da farmácia	Sistema operativo
Aprendizagem por etapas	Preparação de medicamentos manipulados
Atendimento ao público	Nomes Comerciais
Estagiária Única	
Dimensão externa	
Oportunidades	Ameaças
Aprendizagem contínua	Desvalorização do estagiário
Receitas manuais	Alteração e suspensão de serviços farmacêuticos
Dispensa e aconselhamento de medicamentos	

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Integração na equipa da farmácia

A equipa da Farmácia da Conchada é formada por cinco profissionais de saúde: três farmacêuticos (um dos quais o diretor técnico), uma técnica de farmácia e um técnico auxiliar de farmácia. É uma equipa jovem e dinâmica, dotada de um enorme profissionalismo. A simpatia com que me receberam contribuiu para um bom ambiente de trabalho, o qual

influenciou de forma muito positiva o meu desempenho. A disponibilidade e recetividade demonstradas desde o primeiro dia permitiram que me sentisse à vontade para expor qualquer questão. Além disto, a confiança que demonstraram nas minhas competências foi essencial para uma maior confiança e segurança na aplicação dos meus conhecimentos e desempenho nas atividades solicitadas.

Desta forma, considero a minha integração na equipa da farmácia um ponto forte, uma vez que foi uma grande motivação para o meu desempenho ao longo do estágio.

3.1.2. Aprendizagem por etapas

O papel do farmacêutico comunitário envolve a realização de diversos serviços, pelo que a minha aprendizagem foi realizada por etapas de forma a garantir a participação nas diferentes atividades desempenhadas.

Durante o primeiro mês de estágio executei apenas tarefas de *BackOffice*, tendo iniciado o atendimento ao público mais tarde. As principais atividades desempenhadas no *BackOffice* incluíram: a receção de encomendas, a arrumação de produtos farmacêuticos e a gestão de reservas. A receção de encomendas inclui a avaliação da conformidade dos produtos rececionados, através da confirmação dos seguintes parâmetros: quantidade rececionada, preço, prazo de validade e estado de acondicionamento. Após a receção dos produtos, é realizada a gestão das reservas, sendo feita a separação dos produtos reservados. Posteriormente, procede-se ao armazenamento dos produtos por ordem alfabética e segundo o princípio “*first-in, first-out*”. As atividades referidas anteriormente foram fundamentais para todo o estágio, uma vez que me permitiram contactar com a grande diversidade de produtos disponíveis na farmácia. Estas proporcionaram ainda a familiarização com nomes comerciais e dosagens disponíveis, bem como com a localização dos produtos na farmácia, o que se tornou uma grande vantagem durante o atendimento.

A aprendizagem sequencial das atividades desempenhadas foi fundamental para um maior aproveitamento, pelo que considero este planeamento um ponto forte.

3.1.3. Atendimento ao público

Antes de iniciar o atendimento ao público, pude assistir a vários atendimentos realizados por profissionais da equipa técnica. Este acompanhamento permitiu-me uma aprendizagem e consolidação gradual de conhecimentos, que foram fundamentais quando iniciei o atendimento.

Numa primeira fase, os atendimentos foram realizados sob a supervisão de uma farmacêutica. A sua presença oferecia-me uma maior confiança, uma vez que me podia ajudar caso surgisse qualquer questão ao nível de atendimento ou de aconselhamento farmacêutico. Ao longo do tempo fui adquirindo competências necessárias para a realização do atendimento de forma autónoma. A mecanização do procedimento informático de atendimento e a familiarização com os moldes das receitas foram fundamentais para permitir um atendimento mais competente.

Os diversos atendimentos realizados permitiram-me contactar com situações práticas nas quais pude aplicar conhecimentos adquiridos ao longo do curso. O utente e as suas necessidades foram o foco de cada um dos atendimentos que realizei, tendo esta sido uma das principais bases que adquiri durante o MICF. Desta forma, tive a oportunidade de experienciar o papel fundamental do farmacêutico na sociedade enquanto agente de saúde.

Neste sentido, considero o atendimento ao público como um ponto forte, uma vez que foi uma das experiências mais gratificantes do meu estágio devido à relação de proximidade com o utente.

3.1.4. Única estagiária

A Farmácia da Conchada tem como política interna a aceitação de um único estagiário, de forma a garantir uma aprendizagem individualizada e personalizada.

Por se tratar de uma farmácia pequena, com uma equipa formada por poucos profissionais de saúde, a existência de mais do que um estagiário poderia tornar-se uma limitação à aprendizagem. O facto de ter sido a única estagiária permitiu que a minha aprendizagem fosse adaptada às minhas necessidades. Além disso, deu-me ainda oportunidade de realizar de forma mais intensiva as diversas atividades que são da competência do farmacêutico.

Este fator teve um forte contributo para a escolha desta farmácia como local de estágio, constituindo um ponto forte do mesmo.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Sistema operativo

A Farmácia da Conchada tem como sistema operativo o programa SPharm[®], um *software* da SoftReis. É um programa muito completo e de extrema importância na prática profissional, uma vez que diminui grande parte dos erros e facilita o desempenho, o que resulta num aumento da produtividade. Apesar de simples e algo intuitivo, é um programa que apresenta uma grande variedade de funcionalidades, pelo que não tive a oportunidades de explorar algumas destas durante o estágio.

A maior dificuldade prendeu-se com o facto de ser um programa muito diferente do SIFARMA[®], sistema operativo explorado durante a formação do MICF. Desta forma, demorei algum tempo a adaptar-me ao sistema operativo da farmácia, tendo que, por vezes, pedir auxílio a um dos membros da equipa técnica.

3.2.2. Preparação de medicamentos manipulados

As farmácias eram, até há uns anos, designadas de Farmácias de Oficina, uma vez que os farmacêuticos centravam as suas funções na preparação oficial de medicamentos ou substâncias medicamentosas. Devido ao contínuo desenvolvimento da Indústria Farmacêutica, a necessidade de preparação de manipulados é cada vez mais escassa. Assim, os farmacêuticos começaram a centrar as suas funções na comunidade, passando as farmácias a designar-se Farmácias Comunitárias.²

Apesar de pouco frequente, a preparação de medicamentos manipulados ainda é necessária em algumas situações. Os medicamentos manipulados garantem uma personalização e individualização da terapêutica, através da preparação de formulações que não estão disponíveis no mercado como, por exemplo, formulações para uso pediátrico.

Durante o estágio não tive a oportunidade de preparar nenhum medicamento manipulado, pelo que não pude aplicar na prática alguns dos conhecimentos adquiridos ao longo da minha formação académica.

3.2.3. Nomes Comerciais

Ao longo do MICF, a aprendizagem dos vários fármacos é realizada através da Denominação Comum Internacional (DCI). Por outro lado, na prática farmacêutica, a maioria dos utentes conhece os medicamentos através do seu nome comercial. Neste sentido, uma das principais dificuldades sentida durante o estágio foi a associação entre nomes comerciais e respetiva DCI.

Foram vários os atendimentos em que os utentes levantaram questões sobre um determinado medicamento, referindo-se a este através do nome comercial. Na maioria dos casos não tinha a capacidade de associar o nome comercial ao princípio ativo, o que me impedia de dar uma resposta imediata. Apesar da dificuldade sentida, em todas estas situações procurei esclarecer o utente sem que este se apercebesse da minha dificuldade. Considero que isto era fundamental para que a confiança do utente não fosse comprometida.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Aprendizagem contínua

O estágio curricular em Farmácia Comunitária constitui uma oportunidade de consolidação dos conceitos adquiridos ao longo do MICF, bem como de novas aprendizagens. Este oferece-nos a possibilidade de aplicar na prática todos esses conceitos, funcionando como um momento de transição entre o ensino e a prática profissional. Além disto, o estágio permite-nos ainda desenvolver competências fundamentais à prática profissional, entre as quais: comunicação, empatia e trabalho em equipa.

Assim, considero a realização do estágio uma oportunidade na minha formação académica, sendo este fundamental para a formação de profissionais de excelência.

3.3.2. Receitas Manuais

As receitas manuais ainda são uma realidade presente nas farmácias portuguesas, apesar da proporcionalidade face às receitas eletrónicas ser muito mais baixa.

O processamento de receitas manuais permitiu-me conhecer os vários campos da receita, os quais têm que ser verificados para confirmar a validade da mesma. A validação de uma

receita manual requer da confirmação dos seguintes campos: identificação do utente, identificação da entidade responsável, número de beneficiário, assinatura e vinheta do médico prescriptor, exceção para a prescrição manual e validade da receita. Além disto, é ainda importante compreender e distinguir os planos de participação.

O conhecimento do processamento de receitas manuais é importante, uma vez que ainda existem situações de impossibilidade de prescrição de receitas eletrónicas, pelo que o receituário continuará a existir. Desta forma, considero o contacto com as receitas manuais uma oportunidade do meu estágio.

3.3.3. Aconselhamento e dispensa de medicamentos

As farmácias são, em muitos casos, a primeira linha de apoio dos utentes, devido à sua disponibilidade e facilidade de acesso. Neste sentido, o farmacêutico é um profissional de saúde de proximidade que deve procurar centrar as suas funções no utente.

Durante a realização do meu estágio procurei sempre realizar um atendimento personalizado e adequado a cada utente. Tive a oportunidade de realizar alguns atendimentos em que me foi solicitado aconselhamento farmacêutico. Nestas situações procurei sempre ouvir atentamente o utente e levantar as questões adequadas para o correto entendimento da situação e das necessidades do mesmo. Posteriormente, recomendava as medidas farmacológicas e/ou não farmacológicas que considerava mais indicadas para o utente.

Em situações de atendimentos mediante a apresentação de uma receita médica, procedia a uma análise crítica da situação. Primeiramente, confirmava com o utente ou na sua ficha, caso este fosse utente habitual da farmácia, se era a primeira vez que o medicamento prescrito ia ser tomado. Se fosse o caso, tal como em situações de dispensa de medicamentos destinados a terapêuticas de curta duração, como antibióticos ou anti-inflamatórios, procurava perceber se o utente tinha conhecimento da forma como devia tomar o medicamento. Em todo o caso, questionava sempre o utente se era necessário escrever a posologia na embalagem, procurando assim promover a correta adesão à terapêutica.

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de realizar a dispensa ativa de medicamentos, o que considero uma oportunidade na minha formação.

3.4. Ameaças

3.4.1. Desvalorização do estagiário

A apreensão demonstrada por alguns utentes durante o atendimento ou a preferência de atendimento por outro elemento da equipa da farmácia, demonstram a falta de confiança que alguns utentes têm nos estagiários. Apesar de compreensível, devido à pouca experiência, a postura destes utentes reflete uma desvalorização do conhecimento que o estagiário tem. Isto pode constituir uma limitação à aprendizagem, uma vez que a experiência é uma das bases da formação.

3.4.2. Alteração e suspensão de serviços farmacêuticos

Duas semanas após ter iniciado o estágio na Farmácia da Conchada, fui forçada a suspender o mesmo devido à pandemia Covid-19. A Covid-19 é a doença respiratória aguda causada pelo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2). Os primeiros casos da doença surgiram, em Portugal, no início de março, tendo sido decretado estado de emergência nacional no dia 18 de março. Dois dias antes, já o meu estágio tinha sido suspenso, por decisão minha e da farmácia, tendo esta iniciado o atendimento pelo postigo nesse mesmo dia.

Durante a realização do estágio não efetuei atendimento pelo postigo, uma vez que quando reiniciei o estágio, dia 1 de junho, a farmácia já se encontrava a funcionar de portas abertas, ainda que com muitas restrições. Todos os serviços de determinação de parâmetros fisiológicos e bioquímicos, bem como de administração de medicamentos foram suspensos. Neste sentido, apenas tive a oportunidade de realizar dois serviços de medição da pressão arterial, uma vez que se tratavam de casos excecionais de utentes que se estavam a sentir mal. Durante a realização destes serviços procurei sempre aconselhar ao utente medidas não farmacológicas adaptadas às suas necessidades.

Apesar da suspensão destes serviços constituir uma limitação à minha aprendizagem, impedindo que colocasse em prática alguns dos conceitos adquiridos, procurei sempre realizar um aconselhamento ativo. Além disso, procurei transmitir sempre ao utente que, apesar das alterações sentidas, a farmácia continuava a ser um local de promoção de saúde e, como tal, estaria sempre disponível para qualquer necessidade.

4. Casos Práticos

Caso I – Um senhor, com aproximadamente 80 anos, utente habitual, dirigiu-se à farmácia para solicitar Struxart[®], um medicamento que tomava habitualmente. Após a cedência do medicamento, o utente mostrou-me uma lista escrita manualmente e pediu-me que verificasse a mesma. A lista continha os medicamentos que o utente tomava diariamente, com a respetiva posologia, estando dividida em: pequeno-almoço, almoço, lanche e jantar. Da terapêutica faziam parte os seguintes medicamentos: Omeprazol 20mg, Losartan + Hidroclorotiazida 50+12,5mg, Tansulosina 0,4mg, Atorvastatina 20mg, Donepezilo 5mg, Alprazolam 0,5mg. Procedi à revisão da terapêutica, constatando que o medicamento Donepezilo 5mg, indicado para o tratamento da doença de Alzheimer, estava a ser tomado em duplicado, ao almoço e ao jantar, o que me alertou para um possível erro. Posto isto, verifiquei o Resumo das Características do Medicamento (RCM), para confirmação da posologia recomendada. O RCM mencionava que a dose diária do medicamento pode ser de 5mg/dia ou 10mg/dia, numa única toma diária.³ Confirmei ainda na ficha clínica do utente a posologia prescrita pelo médico, através da consulta de uma receita já cedida, a qual indicava a toma de um comprimido ao jantar. Neste sentido, procurei confirmar o erro detetado com as farmacêuticas, que voltaram a avaliar a situação e confirmaram a incorreta toma do medicamento. Antes de informar o utente, tentei esclarecer com o mesmo como tomava o medicamento, para ter a certeza que não se tratava de um erro durante a elaboração da lista. Este confirmou que estava a realizar a toma do medicamento como tinha na lista, ou seja, duas vezes por dia. Por fim, expliquei ao doente a posologia de toda a terapêutica medicamentosa e procedi à elaboração de uma tabela terapêutica, de forma a garantir uma correta adesão à terapêutica.

Caso II – Uma senhora, com aproximadamente 50 anos, dirigiu-se à farmácia para solicitar “algo” para o tratamento de uma queimadura solar “em carne viva”, segundo a mesma. Questionei a utente sobre a localização da queimadura, bem como sintomatologia associada, nomeadamente sensação de calor no local da queimadura ou febre. A utente negou qualquer um destes sintomas e indicou ter a queimadura na perna, a qual tinha envolvida com um lenço utilizado habitualmente como acessório. Posto isto, recomendei a lavagem da queimadura com água tépida, com posterior desinfeção com clorohexidina, para prevenção de uma possível infeção, e aplicação de Biafine[®]. Sugeri ainda a proteção da zona afetada com uma gaze gorda e um penso e a não exposição solar da queimadura até uma completa cicatrização. Alerttei ainda a utente para a necessidade de utilização de protetor solar, o qual deve ser reaplicado a

cada duas horas, e para a não exposição solar nas horas de maior calor. No final do atendimento, a utente questionou-me sobre o momento em que deveria fazer o tratamento da queimadura, uma vez que iria para a praia naquele dia. Nesse momento pude constatar a falta de consciência que ainda existe relativamente aos malefícios da exposição solar. Consciente do papel ativo que o farmacêutico deve desempenhar nestas situações, voltei a reforçar os conselhos anteriormente mencionados.

5. Conclusão

O estágio em Farmácia Comunitário representa o culminar de um longo percurso académico. A realização deste estágio permitiu-me conhecer, num ambiente prático, o funcionamento de uma farmácia, bem como as funções de um farmacêutico comunitário.

O farmacêutico comunitário é um profissional de saúde de proximidade, que desempenha vários serviços fundamentais para a saúde e bem-estar do utente. Apesar de especialista do medicamento, o farmacêutico deve ter como principal foco o utente.

Durante a realização do estágio na Farmácia da Conchada tive a oportunidade de consolidar e aprofundar conhecimentos adquiridos ao longo do curso. Além disso, este estágio permitiu-me adquirir novos conhecimentos, que considero fundamentais para o meu futuro profissional e pessoal. A equipa técnica da farmácia teve um papel muito importante na minha formação, transmitindo-me valores e competências de extrema importância para o alcance do sucesso enquanto farmacêutica e pessoa. Assim, concluí esta etapa com uma palavra de agradecimento para com todos estes profissionais e com a certeza de que a dedicação e empenho que mantive ao longo do estágio foram reconhecidos.

6. Bibliografia

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – A Farmácia Comunitária. [Acedido a 18 de julho de 2020]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. Medicamentos manipulados. [Acedido a 29 de agosto de 2020]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos/medicamentos-manipulados>
3. INFARMED – **Resumo das Características do Medicamentos Donepezilo 5mg comprimidos revestidos por película** [Acedido a 15 de agosto]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>

Parte III

Monografia

Microbioma: influência na gravidez e/ou infertilidade?

Abreviaturas

A. vaginae: *Atopobium vaginae*

AMP: peptídeos antimicrobianos, do inglês *antimicrobial peptides*

C. trachomatis: *Chlamydia trachomatis*

CST: do inglês, *Community state types*

DIP: doença inflamatória pélvica

DIU: dispositivo intrauterino

E. coli: *Escherichia coli*

FCEV: fator de crescimento endotelial vascular

FIV: fertilização *in vitro*

G. vaginalis: *Gardnerella vaginalis*

H₂O₂: peróxido de hidrogénio

HMP: Projeto Microbioma Humano, do inglês *Human Microbiome Project*

ICSI: injeção intracitoplasmática de espermatozoides, do inglês *intracytoplasmic sperm injection*

IgA: imunoglobulina A

IgG: imunoglobulina G

IL-10: interleucina-10

IL-6: interleucina-6

IL-8: interleucina-8

IL-1 α : interleucina-1 α

IL-1 β : interleucina-1 β

L. crispatus: *Lactobacillus crispatus*

L. gasseri: *Lactobacillus gasseri*

L. iners: *Lactobacillus iners*

L. jensenii: *Lactobacillus jensenii*

MDL: microbiota dominado por *Lactobacillus*

MNDL: microbiota não dominado por *Lactobacillus*

N. gonorrhoeae: *Neisseria gonorrhoeae*

NK: do inglês *natural killers*

PAMP: padrões moleculares associados a patógenos, do inglês *pathogen-associated molecular patterns*

PCR: do inglês, *Polymerase Chain Reaction*

PRR: recetores de reconhecimento de padrões, do inglês *pattern-recognition receptors*

S. aureus: *Staphylococcus aureus*

T. vaginalis: *Trichomonas vaginalis*

TNF: fator de necrose tumoral, do inglês *tumor necrosis factor*

TRA: tratamentos de reprodução assistida

T_{regs}: células T reguladoras

TRF: trato reprodutivo feminino

TRI: trato reprodutivo inferior

TRS: trato reprodutivo superior

UFC: unidades formadoras de colónias

VG: vaginoses bacterianas

Abstract

In the last years the technical and scientific advances have allowed a better comprehension of the female reproductive tract microbiome, as well as its importance in the reproductive health. This system has been one the main focus of the studies, which have demonstrated that different organs of the female reproductive tract are inhabit for microbiome communities specific of each site. Although there are more studies targeting the lower reproductive tract microbiota than the upper reproductive tract microbiota, both have demonstrated a relationship with the reproductive results.

The reproductive health is dependent on a symbiotic relationship between the microbiome and the immune system, where the microbiome has the ability to modulate the immune system and vice-versa. Although the female reproductive tract microbiome changes during a woman's lifetime, related either with endogenous or exogenous factors, its composition remains relatively stable between puberty and menopause. The microbiota of healthy women in reproductive age has, generally, a low bacterial diversity and it is dominated by *Lactobacillus* species, which play a protective role for the reproductive environment by preventing the growth of pathogens.

The success of pregnancy is dependent on a set of anatomical and physiological changes, as well as on the microbiota composition. However, not all changes are beneficial to the reproductive health. Microbiota changes that result in an increase in bacterial diversity, that is, dysbiosis, are associated with the development of diseases such as bacterial vaginosis, pelvic inflammatory disease and endometrioses. These changes seem to have an influence on fertility, during pregnancy and on the results of assisted reproductive treatments. Thus, changing the microbiota composition to a more stable and protective composition for the reproductive environment seems to be the key to prevent and treating dysbiosis and, thus, improving reproductive health. In this sense, the investigation of new therapeutic approaches is gaining strength, particularly the use of probiotics and microbiota transplantation.

This review intends to approach the female reproductive tract microbiome and analyze its influence on reproduction. The different factors that may be in the origin of microbiota changes will also be explored, as well as the way these changes may be the cause of pathologies, negative results during pregnancy, infertility cases and failure of assisted reproductive treatments. In addition, this review will also address the microbiota as a possible target for improving reproductive health, with new therapeutic approaches for modulating the composition of the female reproductive tract microbiota.

Keywords: microbiome, microbiota, female reproductive tract, immune system, pregnancy, infertility, assisted reproductive treatments.

Resumo

Nos últimos anos, os avanços técnicos e científicos têm permitido uma melhor compreensão do microbioma do trato reprodutivo feminino, bem como da sua importância na saúde reprodutiva. Este sistema tem sido um dos grandes focos de estudos realizados, os quais têm demonstrado que os diferentes órgãos do trato reprodutivo feminino são habitados por comunidades microbianas específicas de cada local. Apesar de existirem mais estudos direcionados para o microbiota do trato reprodutivo inferior do que o microbiota do trato reprodutivo superior, ambos têm demonstrado uma relação com os resultados reprodutivos.

A saúde reprodutiva está dependente de uma relação simbiótica entre o microbioma e o sistema imunitário, tendo o microbioma a capacidade de modular o sistema imunitário e vice-versa. Apesar do microbiota do trato reprodutivo feminino sofrer alterações ao longo da vida, relacionadas com diversos fatores endógenos e exógenos, a sua composição a partir da puberdade até à menopausa é relativamente estável. O microbiota de mulheres saudáveis em idade reprodutiva apresenta, geralmente, uma baixa diversidade bacteriana, sendo dominado por espécies de *Lactobacillus*, as quais apresentam um papel protetor para o ambiente reprodutivo ao impedirem o crescimento de agentes patogénicos.

O sucesso da gravidez está dependente de um conjunto de alterações anatómicas e fisiológicas, bem como ao nível da composição do microbiota. No entanto, nem todas as alterações são benéficas para a saúde reprodutiva. Alterações no microbiota que resultem num aumento da diversidade bacteriana, ou seja, disbioses, estão associadas ao desenvolvimento de doenças como vaginose bacteriana, doença inflamatória pélvica e endometriose, entre outras. Estas alterações parecem ter influência na fertilidade, durante a gravidez e nos resultados dos tratamentos de reprodução assistida. Assim, a alteração da composição do microbiota para uma composição mais estável e protetora para o ambiente reprodutivo parece ser a chave para a prevenção e tratamento de disbioses e melhoria da saúde reprodutiva. Neste sentido, a investigação de novas abordagens terapêuticas está a ganhar força, particularmente o uso de probióticos e o transplante de microbiota.

A presente revisão pretende abordar o microbioma do trato reprodutivo feminino e analisar a sua influência na reprodução. Os diferentes fatores que podem estar na origem da alteração do microbiota também vão ser explorados, bem como a forma como estas alterações podem estar na origem de patologias, resultados negativos durante a gravidez, casos de infertilidade e insucesso dos tratamentos de reprodução assistida. Além disto, esta revisão irá também abordar o microbiota como um possível alvo para a melhoria da saúde reprodutiva,

sendo apresentadas novas abordagens terapêuticas para a modulação da composição do microbiota do trato reprodutivo feminino.

Palavras-chave: microbioma, microbiota, trato reprodutivo feminino, sistema imunitário, gravidez, infertilidade, tratamentos de reprodução assistida.

I. Introdução

O corpo humano é habitado por vários microrganismos, desde bactérias, fungos, vírus e protozoários. À totalidade de microrganismos, juntamente com o seu genoma, que habitam o corpo humano dá-se o nome de microbioma.¹ Este conceito é muitas vezes confundido com o conceito de microbiota, que é definido como o conjunto de microrganismos que habitam o corpo humano. Os microrganismos encontram-se distribuídos por diferentes locais do corpo, formando comunidades microbianas, sendo a composição qualitativa e quantitativa destas comunidades diferentes consoante a localização no corpo. Esta variabilidade intraindividual, juntamente com o facto de o microbioma apresentar uma composição diferente entre indivíduos, ou seja, variabilidade interindividual, faz com que o microbioma humano seja muito complexo.^{2,3}

A composição do microbiota pode sofrer pequenas alterações ao longo da vida, existindo períodos de grande estabilidade e períodos de grande variação. São vários os fatores que influenciam a composição e a estabilidade do microbiota, entre os quais: o estilo de vida, a presença de patologias e/ou intervenções terapêuticas como, por exemplo, a toma de antibióticos. O ambiente e a dieta iniciais são os fatores que mais influenciam a composição do microbiota nos primeiros anos de vida, sendo o tipo de parto o primeiro fator influente. No caso de bebés nascidos por parto normal, estes apresentam um microbiota com uma composição semelhante ao microbiota vaginal da mãe, enquanto que bebés nascidos por cesariana apresentam um microbiota com uma composição semelhante ao microbiota da pele da mãe. O tipo de alimentação também tem um papel determinante na composição do microbiota, sendo que bebés alimentados por leite materno apresentam um microbiota com uma composição diferente de bebés alimentados com fórmulas infantis.³⁻⁷ Apesar de tipo de parto ser um dos fatores que influencia a composição do microbiota do recém-nascido, rapidamente ocorre uma alteração na composição para espécies que são específicas dos diferentes locais do corpo humano.⁸

Ao longo dos últimos anos têm sido realizados vários estudos sobre o microbioma humano, o que tem permitido aumentar o conhecimento sobre o microbioma, bem como sobre a sua influência na saúde dos indivíduos. Apesar da maioria dos estudos se focarem no microbioma intestinal, local onde se encontram a maioria dos microrganismos, também outros locais do corpo têm sido estudados, nomeadamente o trato genitourinário. Estes estudos têm demonstrado que o microbioma de diferentes locais do corpo desempenha um papel fundamental na manutenção da homeostase, estando a manutenção de um estado de saúde

saudável dependente de uma relação simbiótica entre o hospedeiro e o microbioma.^{3,9} Esta relação pode incluir diferentes tipos de interações: mutualismo, parasitismo e comensalismo. O mutualismo é um tipo de interação em que ambas as espécies são beneficiadas, enquanto que o parasitismo é um tipo de interação em que uma das espécies prejudica a outra. A maioria dos microrganismos que compõe o microbioma humano são organismos comensais, ou seja, mantêm uma interação com o hospedeiro da qual beneficiam sem o prejudicar. O tipo de interação estabelecido entre o microbioma e o hospedeiro depende de vários fatores, particularmente do estado nutricional.¹⁰⁻¹²

As disbioses são perturbações do microbioma humano, que podem alterar as interações entre o microbioma e o hospedeiro, podendo estar associadas ao desenvolvimento de patologias severas como doenças inflamatórias, obesidade, diabetes, cancro, vaginoses bacterianas (VB), entre outras.⁹ No caso do microbioma do trato geniturinário, que representa, aproximadamente, 9% do microbioma humano, este desempenha um papel fundamental na manutenção da saúde reprodutiva, prevenindo o crescimento de agentes patogénicos que podem estar na origem de condições como, por exemplo, vaginoses bacterianas, infeções do trato urinário, infeções sexualmente transmissíveis e parto prematuro.^{2,3,13,14}

O desenvolvimento e utilização de novas técnicas moleculares para estudar o microbioma têm permitido compreender melhor o seu papel nos processos fisiológicos e fisiopatológicos. Este desenvolvimento tem sido fundamental, uma vez que as técnicas tradicionais não permitiam a deteção de muitos agentes patogénicos, subestimando assim a diversidade do microbioma humano.¹ Em 2007, foi iniciado o *Projeto Microbioma Humano* (HMP), com o objetivo de identificar e caracterizar as comunidades microbianas que compõem o microbiota de diferentes locais do corpo, de forma a compreender melhor o comportamento e funções do microbioma, bem como o seu impacto na saúde do hospedeiro. Nos estudos realizados foram utilizadas técnicas como, por exemplo, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), para a sequenciação do gene RNA ribossomal 16S. Este gene é específico de bactérias e contém um número de regiões hipervariáveis que permitem a identificação de um género ou espécie bacteriana. Um dos focos do projeto foi o trato reprodutivo feminino (TRF), uma vez que muitos estudos já tinham demonstrado que a composição do microbiota vaginal podia influenciar a suscetibilidade de desenvolvimento de infeções e ter impacto nos resultados reprodutivos. Os estudos realizados no HMP incluíram métodos moleculares e métodos de cultura, sendo importante a combinação dos dois métodos para garantir informação tanto sobre as espécies que compõem as comunidades bacterianas como a abundância em que estão

presentes, de forma a compreender melhor a influência de cada espécie na saúde reprodutiva.^{2,6,10,15-17} Apesar de há muito se saber que o TRF tem um microbioma ativo, este desenvolvimento técnico e científico permitiu descobrir que locais do corpo que se pensava serem estéreis são, afinal, habitados por microrganismos. É o caso da cavidade uterina e das trompas de Falópio, por exemplo, ambos habitados por pequenas comunidades microbianas. Desta forma, percebeu-se que pequenas alterações no microbiota de qualquer um destes locais podem ter implicações importantes nos resultados reprodutivos.^{18,19}

A presente revisão pretende rever a relação entre o microbioma do trato reprodutivo feminino e a reprodução, com o objetivo de avaliar a influência do microbioma na fertilidade e nos resultados reprodutivos.

2. Microbiota do trato reprodutivo feminino

O trato reprodutivo feminino pode ser dividido em dois sistemas: trato reprodutivo inferior (TRI), que inclui a vagina e o cérvix, e trato reprodutivo superior (TRS), que inclui o útero, as trompas de Falópio e os ovários. Atualmente sabe-se que todos estes órgãos são habitados por microrganismos, no entanto as espécies bacterianas e a sua abundância varia entre diferentes locais do TRF, apesar do género *Lactobacillus* ser o mais abundante. O microbiota vaginal é o mais estudado, devido à facilidade de obtenção de amostras deste local.^{12,20}

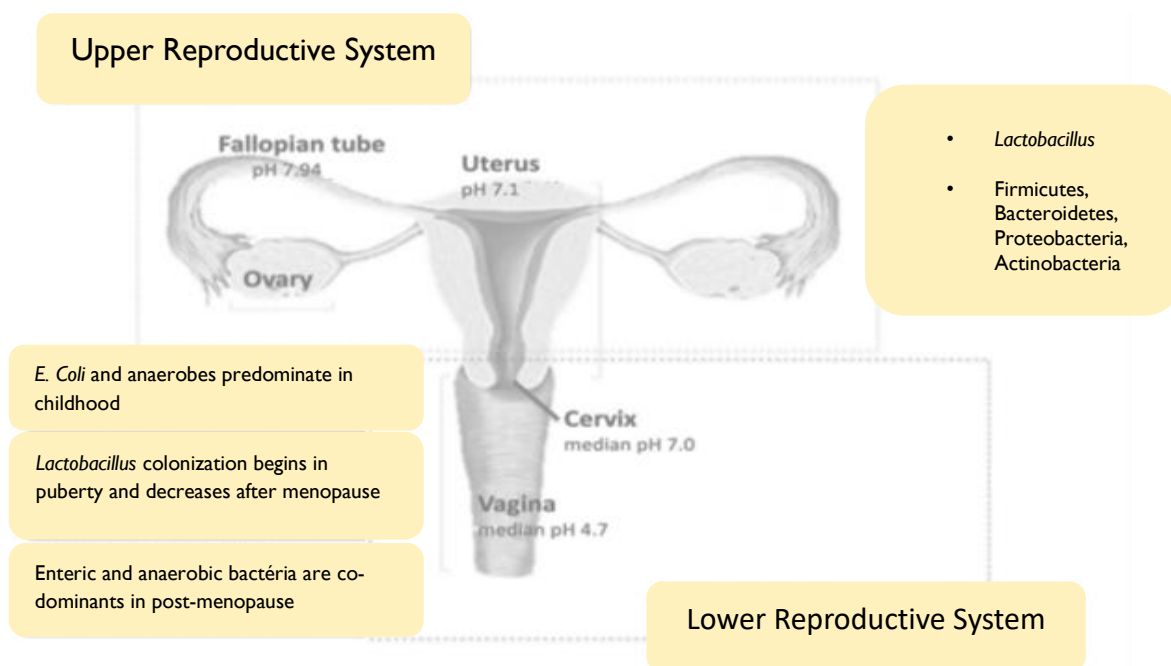


Figura 1: Composição do microbiota do trato reprodutivo superior e do trato reprodutivo inferior, em diferentes fases da vida. (Adaptado de ²⁰)

2.1. Microbiota do trato reprodutivo inferior

Recentemente tem sido estabelecida uma relação entre o microbiota vaginal e a fisiologia, defesa e função do trato reprodutivo feminino.²¹ Mulheres saudáveis e em idade reprodutiva apresentam, geralmente, um microbiota vaginal caracterizado por uma baixa diversidade bacteriana, dominado por espécies de *Lactobacillus* com, aproximadamente, 10^7 a 10^9 unidades formadoras de colónias (UFC) por grama de fluido vaginal.^{2,22} Estas espécies desempenham um papel importante na prevenção de infeções vaginais, uma vez que produzem ácido láctico, uma substância que: permite manter um pH vaginal ácido (pH vaginal <4.5); induz a transcrição genética e a reparação do DNA, através do bloqueio de histonas deacetilases, enzimas que impedem a transcrição genética; e induz a autofagia nas células epiteliais, promovendo a degradação de microrganismos intracelulares. O ácido láctico tem ainda a capacidade de inibir o desenvolvimento de bactérias da espécie *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), bem como de microrganismos associados a vaginoses bacterianas. As bactérias do género *Lactobacillus* também produzem peróxido de hidrogénio (H_2O_2), que inibe o crescimento de bactérias catalase-negativas, e bacteriocinas, toxinas com capacidade de inibir o crescimento de outras bactérias. Estas espécies bacterianas têm ainda a capacidade de aderir ao epitélio vaginal, inibindo a ligação de outras bactérias às células epiteliais e eliminando-as por exclusão, bem como a capacidade de utilizar os nutrientes disponíveis, o que lhes confere vantagem competitiva.^{10,12,23-26} O domínio destas espécies é favorecido pela produção de estrogénio e progesterona, durante a idade reprodutiva, uma vez que estas hormonas estimulam a proliferação do epitélio vaginal e a produção e depósito de glicogénio nas células epiteliais. O glicogénio é usado como substrato destas bactérias para a produção de ácido láctico, sendo este composto previamente metabolizado em maltose e glucose.^{22,27} Desta forma, o início da idade reprodutiva está associado a um favorecimento do domínio do microbiota vaginal por espécies de *Lactobacillus*.

O microbiota vaginal tem uma das menores diversidades alfa e beta comparativamente com outros locais do corpo humano, como a pele e a boca. A diversidade alfa é avaliada pela comparação de amostras do mesmo paciente e a diversidade beta é avaliada através da comparação de amostras de pacientes diferentes.^{1,18} Até à data não existem estudos que expliquem o facto do microbiota vaginal humano ser dominado por *Lactobacillus* spp., contrariamente ao que acontece com outros mamíferos. Assim, o ser humano é o único mamífero que apresenta um pH vaginal ácido, com um pH~4.5, enquanto que os outros mamíferos apresentam um pH vaginal menos ácido, com um pH entre 5.4-7.8. As diferenças a

nível da composição do microbiota vaginal entre mamíferos podem estar associadas a fatores como a alimentação e exposições ambientais diferentes.^{22,23}

Como já referido anteriormente, os avanços a nível científico e tecnológico têm permitido o desenvolvimento de técnicas que garantem uma melhor caracterização da composição e estrutura do microbiota.²² Apesar de existirem centenas de espécies de *Lactobacillus* e de já terem sido identificadas dezenas delas no microbiota vaginal, este é, geralmente, dominado por apenas uma a duas espécies deste género, sendo *Lactobacillus crispatus* (*L. crispatus*), *Lactobacillus gasseri* (*L. gasseri*), *Lactobacillus jensenii* (*L. jensenii*) e *Lactobacillus iners* (*L. iners*) as espécies mais frequentes. Assim, foram identificados cinco tipos de microbiota vaginal, denominados de *Community state types* (CST), definidos pela presença ou ausência de espécies de *Lactobacillus* dominantes:

- CST I: microbiota vaginal dominado por *Lactobacillus crispatus*;
- CST II: microbiota vaginal dominado por *Lactobacillus gasseri*;
- CST III: microbiota vaginal dominado por *Lactobacillus iners*;
- CST IV: microbiota vaginal sem espécies de *Lactobacillus* dominantes, com uma grande variedade de bactérias anaeróbias estritas e facultativas, incluindo espécies dos géneros *Aerococcus*, *Atopobium*, *Gardnerella*, *Mobiluncus*, *Megasphaera*, *Prevotella*;
- CST V: microbiota vaginal dominado por *Lactobacillus jensenii*.

No caso do microbiota vaginal do tipo IV, este foi dividido em dois subgrupos: CST IV-A e CST IV-B. O subgrupo IV-A contém quantidades moderadas de *Lactobacillus* spp., geralmente da espécie *L. iners*, e algumas bactérias anaeróbias estritas, nomeadamente do género *Corynebacterium*, enquanto que o subgrupo IV-B contém uma grande abundância de espécies associadas a vaginoses bacterianas.^{2,22,27,28}

O tipo de microbiota do trato reprodutivo feminino parece estar relacionado com as origens étnicas e geográficas. Estas diferenças podem estar associadas a diferentes práticas de higiene, ao uso de contraceptivos, bem como a diferentes hábitos alimentares e comportamentos sexuais. A grande maioria das mulheres caucasianas (90%) e das mulheres asiáticas (80%) apresentam um microbiota vaginal dominado por *Lactobacillus* spp., sendo o CST I o mais dominante nas mulheres caucasianas. Por outro lado, o CST IV é mais comum em mulheres hispânicas e africanas, em que apenas 60% das mulheres apresentam um microbiota vaginal dominado por *Lactobacillus* spp. O microbiota vaginal destas mulheres é habitualmente caracterizado pela presença de bactérias dos géneros *Atopobium*, *Gardnerella*, *Megasphaera*, *Prevotella* e *Sneathia*, algumas delas associadas a VB.^{10,21,23}

Apesar desta caracterização, o microbiota vaginal é muito dinâmico. Atualmente sabe-se que um microbiota dominado por espécies de *Lactobacillus* não é considerado o único estado normal. Este sofre alterações ao longo da vida, entre a infância e a puberdade, desde a puberdade à menopausa e durante a gravidez, sendo também influenciado pelas práticas e atividades diárias.^{10,21,29} Na infância, o microbiota vaginal é caracterizado pela presença de bactérias aeróbias e anaeróbias, como espécies dos gêneros *Enterobacteria*, *Prevotella*, *Streptococcus* e *Staphylococcus*. No início da puberdade, devido ao aumento dos níveis de estrogênio e progesterona, há um aumento da abundância de espécies de *Lactobacillus*, uma vez que o aumento destas hormonas resulta num aumento dos níveis de glicogênio circulante e depositado nas células epiteliais vaginais. O glicogênio é um polissacarídeo que é metabolizado por *Lactobacillus spp.*, o que resulta num aumento da abundância destas espécies.^{1,20,28} Durante a idade reprodutiva, a composição e a estabilidade do microbiota vaginal são também influenciadas pela fase do ciclo menstrual. Durante a ovulação, quando é atingido o pico de estrogênio, a estabilidade é maior, enquanto que na fase de menstruação se verifica uma menor estabilidade, com uma diminuição da abundância de todas as espécies de *Lactobacillus*, com exceção da espécie *L. iners*.^{10,19,22} As alterações na composição do microbiota vaginal durante a menstruação dependem do tipo de microbiota inicial, bem como de outros fatores, como o uso de pensos menstruais ou de tampões. Estudos realizados observaram que algumas mulheres em idade reprodutiva sofrem alterações nas suas comunidades microbianas vaginais ao longo do tempo. O tempo de permanência em cada um dos CST varia de forma individual, havendo mulheres que apresentam um microbiota vaginal relativamente estável, ao passo que outras sofrem transições entre tipos de microbiota vaginal, transitando com maior frequência para o CST IV.²² A composição do microbiota vaginal pode sofrer alterações relacionadas com práticas de higiene íntima e o uso de produtos íntimos, com a composição da roupa interior, bem como com os comportamento sexuais e uso de lubrificantes.^{14,19,21} Durante a menopausa, devido à diminuição dos níveis de estrogênio, há uma diminuição da abundância de espécies de *Lactobacillus*, particularmente da espécie *L. crispatus*.^{10,20}

2.2. Microbiota do trato reprodutivo superior

Atualmente ainda existem poucos estudos sobre o microbiota do TRS, uma vez que é mais difícil obter amostras deste local. Apesar disso, já foi demonstrada a presença de pequenas comunidades bacterianas em diferentes locais do TRS, incluindo ovários, trompas de Falópio e cavidade uterina. No microbiota uterino, o género *Lactobacillus* é o que está

presente em maior abundância, à semelhança do microbiota vaginal, seguindo-se os géneros *Atopobium*, *Gardnerella*, *Megasphaera*, *Prevotella*, *Sneathia* e *Streptococcus*.³⁰⁻³³ Assim, foi possível concluir que a cavidade uterina não tem um ambiente estéril, contrariamente ao que se pensava, possuindo um microbiota único constituído por pequenas comunidades microbianas.

Até ao momento foram identificadas poucas bactérias no TRS, no entanto já foi possível concluir que a sua composição qualitativa e quantitativa é ligeiramente diferente do microbiota do TRI, sendo a abundância de bactérias no útero muito inferior à da vagina.^{1,33} Isto leva a concluir que as bactérias que colonizam a cavidade uterina não resultam, exclusivamente, da ascensão bacteriana desde a vagina até ao útero. As explicações para esta diferença de composição entre o microbiota do TRI e o microbiota do TRS podem ser várias. Por um lado, a presença do muco cervical, que apresenta um efeito barreira, devido à presença de componentes que eliminam os agentes patogénicos e impedem a sua ascensão até ao útero. Por outro lado, uma resposta imunitária específica ao nível da cavidade uterina. O tecido endometrial apresenta uma abundância de leucócitos muito superior comparativamente a outros locais do TRF, nomeadamente a vagina e as trompas de Falópio, o que garante uma maior eficácia na eliminação dos agentes patogénicos que tentam ascender até ao TRS. É ainda possível que os dois mecanismos ocorram em simultâneo.^{20,28,30,31}

Apesar do microbiota uterino não ser exatamente igual ao microbiota vaginal, o facto de ainda existir alguma semelhança entre as bactérias que compõem estes microbiotas sugere que, apesar do efeito protetor oferecido pelo muco cervical e da resposta imunitária específica, algumas bactérias mantêm a capacidade de ascender desde a vagina até ao útero.³⁰ Uma possível explicação para isto poderá ser o facto de o muco cervical funcionar não como uma barreira, mas como um filtro que permite a passagem de parte das bactérias que compõem o microbiota vaginal. Uma outra explicação possível poderá ser a capacidade do sistema imunitário em eliminar apenas parte das bactérias que ascendem até à cavidade uterina, o que pode estar relacionado com a formação de biofilmes que aumentam a resistência das bactérias à eliminação. Estes dois mecanismos poderão ocorrer ainda em simultâneo.¹⁸ A presença de algumas bactérias está também relacionada com a sua capacidade de ligação aos espermatozoides, utilizando-os como um meio de transporte até ao TRS. A presença de comunidades microbianas no TRS pode ainda estar relacionada com outras vias de colonização, entre as quais: disseminação bacteriana desde as trompas de Falópio; disseminação hematogénica de bactérias que fazem parte da composição do microbiota oral e/ou intestinal; e/ou contaminação durante a realização de procedimentos ginecológicos invasivos.^{16,33,34}

O microbiota uterino da maioria das mulheres saudáveis em idade reprodutiva, à semelhança do microbiota vaginal, é dominado por espécies de *Lactobacillus*. No entanto, existem vários casos de mulheres saudáveis e assintomáticas que apresentam um microbiota uterino não dominado por espécies de *Lactobacillus*.²⁰

3. Microbiota e o sistema imunitário

As interações entre o microbiota e o sistema imunitário do hospedeiro são um conceito muito estudado ao nível do intestino e que, nos últimos anos, tem vindo a ser estudado ao nível de outros locais, particularmente ao nível do trato reprodutivo feminino.

O microbiota tem a capacidade de regular a resposta imunitária tanto a nível local como a nível sistémico. As espécies do género *Lactobacillus*, através da produção de ácido láctico, têm a capacidade de induzir a diferenciação de células T reguladoras (T_{regs}), a nível intestinal. Estas células promovem a libertação de citocinas anti-inflamatórias como, por exemplo, interleucina-10 (IL-10), e inibem a libertação de citocinas pró-inflamatórias como, por exemplo, interleucina-6 (IL-6) e interleucina-8 (IL-8), o que assegura um estado inflamatório baixo no hospedeiro. Esta capacidade de modulação do sistema imunitário do hospedeiro pelo microbiota intestinal tem sido considerada pela comunidade científica na investigação do microbiota do TRF, que parece apresentar mecanismos semelhantes. Curiosamente, as células T_{regs} desempenham um papel determinante na defesa do TRF, bem como na implantação do embrião, para que ocorra a gravidez. Isto porque asseguram a tolerância materna fetal necessária para o sucesso da gravidez.^{23,26,31}

O TRF contém várias barreiras imunológicas que impedem a invasão dos tecidos pelas bactérias, o que assegura uma relação simbiótica entre o microbioma e o sistema imunitário. As células epiteliais do TRF formam uma barreira, com *tight junctions*, que limita a exposição do sistema imunitário aos agentes patogénicos. Além disso, o epitélio do TRF contém na sua superfície componentes do sistema imunitário, nomeadamente peptídeos antimicrobianos (AMP), que são produzidos pelas células epiteliais e por neutrófilos na presença de microrganismos.^{4,34,35} Os AMP têm a capacidade de modular o sistema imunitário, ativando a resposta imunitária inata na presença de agentes patogénicos, o que estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias como, por exemplo, interleucina 1- α (IL-1 α), interleucina 1- β (IL-1 β), IL-6 e IL-8, e do fator de necrose tumoral α (TNF- α). Estes peptídeos revestem maioritariamente o TRI, protegendo assim o TRS da colonização por agentes patogénicos que

poderiam ascender desde a vagina. No entanto, também estão presentes na cavidade uterina, o que garante a defesa contra agentes patogênicos ao nível do TRS. As células epiteliais do TRF expressam ainda na sua superfície recetores de reconhecimento de padrões (PRR), que reconhecem padrões moleculares associados a patógenos (PAMP), o que garante o reconhecimento de agentes patogênicos invasores e a ativação de mecanismos para a sua eliminação.^{4,34,36} O TRF contém ainda células apresentadores de antígenos, como macrófagos e células dendríticas, que garantem a ajuda na defesa contra agentes patogênicos. Além disto, a presença de um muco, entre a vagina e o útero, funciona como uma barreira imune inata, impedindo a ascensão dos agentes patogênicos até à cavidade uterina. O muco cervical contém na sua composição anticorpos do tipo imunoglobulina A (IgA) e imunoglobulina G (IgG), que neutralizam e eliminam os agentes patogênicos, impedindo a sua adesão às células epiteliais vaginais e, conseqüentemente, a sua ascensão até ao TRS.^{23,26,35} Desta forma, o sistema imunitário tem a capacidade de limitar o crescimento de agentes patogênicos, influenciando assim a composição do microbiota do TRF.

De forma recíproca, o microbiota do TRF também tem a capacidade de influenciar o sistema imunitário. Um microbiota dominado por espécies de *Lactobacillus*, particularmente por *L. crispatus*, está associado a um estado inflamatório baixo. A produção de ácido láctico por *Lactobacillus spp.*, que mantém um pH ácido, bem como de H₂O₂ e bacteriocinas, garante um ambiente que não é favorável ao crescimento de algumas bactérias potencialmente patogênicas. Estas espécies bacterianas têm ainda a capacidade de aderir às células do epitélio vaginal, formando uma barreira física que protege contra a invasão por agentes patogênicos. Por outro lado, em situações de disbioses há uma diminuição da abundância de espécies de *Lactobacillus*, o que permite um crescimento excessivo de alguns agentes patogênicos. Alguns destes patógenos, particularmente dos géneros *Prevotella* e *Gardnerella*, têm a capacidade de produzir sialidases e sulfatases, enzimas que degradam o muco, bem como proteases de imunoglobulina A (IgA), que neutralizam esta imunoglobulina produzida pelo sistema imunitário. Esta capacidade facilita a ascensão dos agentes patogênicos desde a vagina até à cavidade uterina. Isto conduz a uma resposta inflamatória, com ativação de células especializadas, como células *natural killer* (NK), macrófagos e células T, particularmente células T CD4+.^{23,26} Assim, a composição do microbiota vaginal tem um papel determinante na defesa do hospedeiro, sendo que um microbiota vaginal dominado por *Lactobacillus spp.*, principalmente por *L. crispatus*, a espécie que origina uma maior acidez vaginal, está associado a um estado inflamatório baixo ao nível do TRF e, deste modo, a resultados reprodutivos positivos.^{23,25}

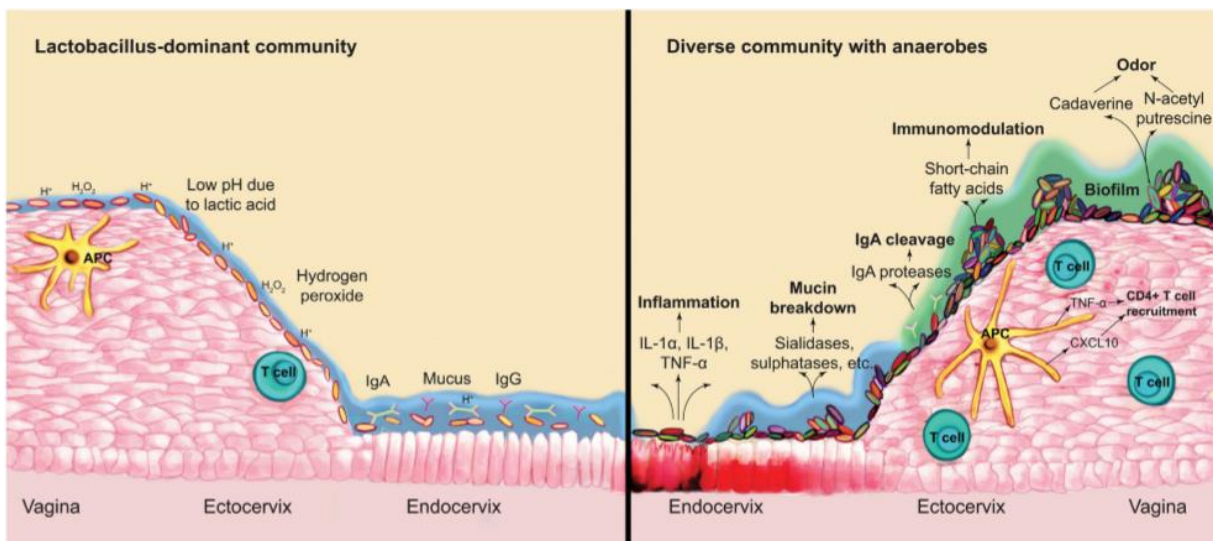


Figura 2: Modulação do sistema imunitário pela composição do microbiota do trato reprodutivo feminino. (Adaptado de ²³)

4. Impacto da contraceção no microbiota vaginal

A estabilidade e a composição do microbiota do TRF estão associadas ao ciclo de estrogénio, sendo, por isso, os métodos contraceptivos um dos fatores que influenciam o microbiota vaginal.²² Estes métodos incluem: dispositivo intrauterino (DIU), métodos barreira, esterilização e contraceção hormonal, tanto oral como injetável. Apesar de todos os métodos serem largamente utilizados, principalmente pelo facto de serem eficazes na prevenção de gravidez, o seu uso está associado à ocorrência de efeitos adversos. No caso dos métodos contraceptivos hormonais, os que são mais utilizados e que apresentam maior eficácia, os efeitos adversos mais frequentes são: hemorragias irregulares, aumento de peso, náuseas e alterações de humor. O DIU, o método menos utilizado, além de ter uma aplicação dolorosa, pode provocar infeções, estando associado a um sangramento menstrual intenso e dismenorria. Os métodos barreira como, por exemplo, o anel vaginal, têm como principais efeitos adversos: reações alérgicas ao látex ou poliuretano, irritação vaginal, erosão cervical, infeções do trato urinário e síndrome do choque tóxico, apesar deste último ser um efeito adverso raro.³⁷

Apesar de ainda existirem poucos estudos sobre impacto dos métodos contraceptivos no microbiota vaginal, já foi possível perceber que o DIU está associado a um aumento da colonização vaginal por espécies associadas a vaginose bacterianas, particularmente *Atopobium vaginae* (*A. vaginae*) e *Gardnerella vaginalis* (*G. vaginalis*), aumentando assim a incidência desta

condição. O oposto ocorre com a contraceção oral combinada, a vulgar pílula combinada, que tem na sua composição estrogénio e progesterona, estando a sua utilização associada a um aumento da colonização de espécies de *Lactobacillus* e a uma diminuição da colonização por *Escherichia coli* (*E. Coli*) e por bactérias associadas a VB. Isto poderá estar relacionado com o facto de o estrogénio aumentar os níveis de glicogénio no epitélio vaginal e, conseqüentemente, aumentar a abundância de espécies de *Lactobacillus*. No caso das formulações contraceptivas vaginais com atividade espermicida, que contêm na sua composição surfactantes não-iónicos que imobilizam de forma irreversível os espermatozoides, estas podem alterar o microbiota vaginal quando utilizadas de forma frequente, aumentando a colonização por *E. Coli* e por bactérias anaeróbicas Gram-negativo.^{2,22,38}

4.1. Bactérias com atividade espermicida natural

Até ao momento já foram identificados vários agentes patogénicos com capacidade de imobilização ou aglutinação dos espermatozoides, como, por exemplo, *E. coli*, *C. trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Candida albicans*. Muitos destes microrganismos, também responsáveis por infeções do trato geniturinário, têm a capacidade de alterar a morfologia dos espermatozoides e reduzir a sua mobilidade. O mecanismo através do qual estas bactérias alteram ou imobilizam os espermatozoides ainda não está bem evidenciado, tendo sido propostos vários mecanismos até ao momento. Estudos realizados recentemente confirmaram a capacidade de aglutinação de espermatozoides por *Staphylococcus warneri*, através do isolamento e identificação de várias proteínas com capacidade de ligação a recetores glicoproteicos localizados na superfície dos espermatozoides, o que resulta na sua aglutinação. Foram identificadas duas vias de interação de *Staphylococcus warneri* com os espermatozoides: através de proteínas localizadas na superfície das células ou através de proteínas intracelulares que são libertadas quando ocorre a lise desta espécie bacteriana. Uma vez que foi demonstrado que a aglutinação do esperma ocorre nas orientações cabeça-cabeça, cabeça-cauda e cauda-cauda, é possível concluir que existem recetores glicoproteicos em toda a superfície dos espermatozoides. As alterações nos espermatozoides são induzidas de forma rápida e eficaz.^{13,37,39}

Apesar do efeito espermicida destes microrganismos estar a ser investigado para o desenvolvimento de novos contraceptivos naturais, também é importante direcionar a investigação no sentido de avaliar a sua influência nos resultados reprodutivos, uma vez que grande parte destes agentes patogénicos já foram isolados do TRF de mulheres com

infertilidade inexplicável. Os parâmetros que determinam o potencial de fertilização dos espermatozoides são: a morfologia, a mobilidade e a integridade do acrossoma. Qualquer alteração nestes parâmetros pode comprometer a capacidade de fertilização dos espermatozoides. A mobilidade dos espermatozoides é a característica mais importante no processo de fertilização, bem como o estado do acrossoma, que é uma estrutura localizada na cabeça dos espermatozoides que contém enzimas fundamentais no processo de fertilização. Se estas enzimas forem libertadas prematuramente na vagina ou no cérvix, os espermatozoides perdem a sua capacidade de fertilização, o que pode levar a situações de infertilidade. Assim, o facto de algumas bactérias que fazem parte da composição do TRF terem a capacidade de alterar estes parâmetros pode estar na origem de casos de infertilidade.^{13,37}

5. Infecções do trato reprodutivo feminino

5.1. Infecções do trato reprodutivo inferior

As disbioses vaginais resultam da alteração da composição do microbiota vaginal, com uma diminuição da abundância de espécies de *Lactobacillus*. A alteração do microbiota vaginal está associada a um aumento do risco de infeções sexualmente transmissíveis, bem como de desenvolvimento de doenças, muitas delas relacionadas com resultados reprodutivos negativos. Vaginose bacteriana, vaginite aeróbica, candidíase vaginal e tricomoníase são exemplos de disbioses vaginais. O primeiro exemplo é o mais comum e o mais bem estudado até ao momento.^{2,14,40}

Vaginose bacteriana é uma disbiose definida, do ponto de vista microbiológico, como um estado polimicrobiano. Esta condição é caracterizada por uma redução da abundância de espécies de *Lactobacillus* no microbiota vaginal e por um crescimento excessivo de bactérias anaeróbias e anaeróbias facultativas como, por exemplo, *A. vaginae*, *G. vaginalis*, *Mobiluncus curtisii* e *Mycoplasma hominis*, bem como de bactérias dos géneros *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Streptococcus* e *Veillonella*. Estas bactérias têm a capacidade de formar biofilmes, o que dificulta a sua eliminação e aumenta a incidência de VB.^{14,16,26,41-43} A transmissão destas bactérias associadas a VB pode ocorrer por transmissão vertical, durante o parto, ou por via sexual, através de sexo peniano ou de sexo oral vulvovaginal, sendo a prevalência de VB superior em mulheres que apresentam múltiplos parceiros sexuais.^{2, 22} A prevalência desta condição é também superior em mulheres com anovulação, ou seja, com ausência de libertação de óvulo pelo ovário durante o ciclo menstrual. Isto porque, como já foi referido anteriormente, um dos fatores que influencia a composição e estabilidade do

microbiota vaginal é o ciclo menstrual, devido à alteração dos níveis de estrogénio, sendo a fase de ovulação a que garante uma maior estabilidade do microbiota.^{18,30,42}

Aproximadamente metade das mulheres com VB são assintomáticas, o que dificulta o diagnóstico desta condição e, conseqüentemente, o seu tratamento. Assim, apenas os casos sintomáticos são diagnosticados e tratados. Um dos primeiros sintomas desta condição é o aparecimento de um corrimento vaginal com mau odor, devido à produção bacteriana de substâncias químicas como cadaverina e putrescina. A produção bacteriana de proteases de IgA, enzimas que clivam estas imunoglobulinas, bem como de sialidasas e sulfatases, enzimas que destroem o muco, facilita a ascensão das bactérias até ao TRS. As bactérias responsáveis por esta condição também produzem ácidos gordos de cadeia curta, que facilitam a sua adesão às células epiteliais, formando um biofilme que dificulta a sua eliminação e aumenta a incidência desta VB. A adesão ao epitélio vaginal leva ainda à formação de *clue-cells*, células com bordos granulados, que são específicas desta condição e permitem, juntamente com outros sinais e sintomas, o seu diagnóstico.^{23,27,28} O diagnóstico de vaginose bacteriana pode ser realizado com base em critérios clínicos, os critérios de *Amsel*, ou com base em critérios laboratoriais, através da determinação do *Nugent score*. O diagnóstico através dos critérios de *Amsel* é realizado com base na presença de, no mínimo, três das quatro seguintes condições clínicas: corrimento vaginal esbranquiçado, pH vaginal >4.5, corrimento vaginal com odor a peixe e/ou presença de *clue-cells* no exame microscópio. No caso do diagnóstico realizado através de critérios laboratoriais, este tem por base a técnica de coloração de Gram. Neste tipo de diagnóstico é realizada uma avaliação microscópica da proporção de três tipos de bactérias: bacilos Gram-positivo, bacilos Gram-negativo e cocobacilos Gram-negativo. Com base na proporção destes tipos de bactérias é determinado um *score*, através da soma das pontuações atribuídas a cada um dos tipos bacterianos. Assim, um *score* entre 0-3 indica um microbiota normal, um *score* entre 4-6 representava um microbiota intermédio e um *score* entre 7-10 permite o diagnóstico de vaginose bacteriana.^{2,10,26,40,44} Atualmente, o diagnóstico desta condição pode ser realizado com base em técnicas moleculares que permitem identificar espécies bacterianas típicas desta condição.⁴³⁻⁴⁵

O aumento da diversidade bacteriana, como acontece em situações de vaginose bacteriana e outras disbioses, está associado a um aumento do risco de infeções genitourinárias, nomeadamente de infeções causadas por *C. trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*) e *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*). No entanto, ainda não se sabe se é o aumento da abundância de algumas bactérias que aumenta o risco de infeção pelas mesmas ou se é a alteração na composição do microbiota vaginal que aumenta o risco de infeções devido

à diminuição da proteção contra os agentes patogénicos. Apesar da incerteza, sabe-se que em mulheres com VB há um risco aumentado de tricomoníase, ou seja, de infeção por *T. vaginalis*.^{10,30}

5.2. Infeções do trato reprodutivo superior

Atualmente sabe-se que o TRS não tem um ambiente estéril, sendo constituído por pequenas comunidades microbianas. Desta forma, a presença de bactérias no TRS não está associada, exclusivamente, a doenças, uma vez que muitos destes microrganismos são fundamentais na manutenção da saúde reprodutiva. Alterações no microbiota do TRF, particularmente no microbiota vaginal, podem afetar a saúde deste sistema, aumentando o risco de desenvolvimento de infeções do TRS como, por exemplo, doença inflamatória pélvica (DIP), bem como de outras infeções sexualmente transmissíveis.^{10,14}

A DIP é uma infeção, geralmente transmitida por via sexual, caracterizada pela inflamação de órgãos do TRS, causada por bactérias que ascendem desde a vagina. Dependendo do(s) órgão(s) atingido(s), a DIP inclui: endometrite (inflamação do endométrio), ovarite (inflamação dos ovários) e salpingite (inflamação das trompas de Falópio). As principais bactérias associadas a esta infeção são *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae*, bem como outras espécies bacterianas associadas a vaginose bacteriana.^{14,40} Assim, mulheres com VB recorrentes têm um risco aumentado de desenvolvimento de DIP, devido à ascensão dos agentes patogénicos envolvidos desde a vagina até ao TRS. Apenas uma pequena percentagem das mulheres com DIP apresenta sintomas e, por isso, é diagnosticada, sendo a maioria dos casos assintomáticos. Este fator impede um diagnóstico precoce, pelo que, a longo prazo, esta condição pode causar sequelas graves como, por exemplo, infertilidade, dor pélvica crónica e gravidez ectópica. Este último exemplo consiste numa gravidez anormal que resulta da implantação do óvulo fertilizado fora do útero.^{10,40}

Atualmente acredita-se que possa existir uma relação entre a composição do microbiota do trato reprodutivo feminino e a incidência de endometriose, apesar da causa desta doença ainda ser desconhecida. A endometriose é uma doença inflamatória caracterizada pelo desenvolvimento de lesões de tecido semelhante ao do endométrio fora do útero. Esta doença afeta, maioritariamente, mulheres em idade reprodutiva, sendo uma das causas de infertilidade. A endometriose pode ainda causar dismenorria, dor pélvica crónica, dispareunia profunda, ou seja, dor durante a relação sexual, e disquúzia, isto é, dor ao evacuar. Apesar disto, não

existe uma relação entre a sintomatologia e o estado da doença, sendo que mulheres com endometriose podem ser assintomáticas. Vários estudos já demonstraram que esta condição parece estar associada a um aumento da abundância de bactérias como *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *E. coli*, *Fusobacterium*, *Gardnerella*, *Prevotella*, *Proteobacteria*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Estes estudos detectaram ainda a presença de endotoxinas em mulheres com endometriose, particularmente lipopolissacarídeos, presentes na parede celular de bactérias Gram-negativo, que se ligam aos receptores *Toll-like*, ativando uma resposta imunológica e promovendo a produção de citocinas pró-inflamatórias. Assim, a presença destes agentes patogênicos pode desencadear uma reação inflamatória crônica no útero, que promove a regeneração das células endometriais e, conseqüentemente, induz a formação de lesões associadas a endometriose. Além disto, algumas bactérias produzem β -glucuronidases e β -glucosidases, enzimas que têm a capacidade de metabolizar o estrogênio, o que resulta num aumento dos níveis desta hormona. Desta forma, considerando que a endometriose é uma condição dominante em estrogênio, pode concluir-se que as disbioses, devido ao aumento da abundância de bactérias que promovem a metabolização do estrogênio, podem promover a progressão de endometriose.^{18,20,33,34,47,48}

Apesar de até ao momento ainda existirem poucos estudos sobre o TRS, já foi possível confirmar a existência de algumas espécies bacterianas associadas a condições, como vaginose bacteriana, nas comunidades microbianas. A identificação destes agentes patogênicos é fundamental para compreender a patogênese das doenças, bem como para desenvolver terapêuticas alternativas aos tratamentos convencionais em casos de resistência.¹⁰

6. Influência do microbiota na reprodução

O microbiota do trato reprodutivo feminino apresenta um papel muito importante na fisiologia e fisiopatologia da reprodução humana. A composição do microbiota do TRF parece influenciar os resultados reprodutivos, no entanto a relação entre estes dois conceitos é muito complexa, uma vez que a reprodução não está só dependente da presença ou ausência de espécies bacterianas.^{18,20,30} A interação entre as hormonas, o sistema imunitário e o microbiota é um conceito que está a começar a ter muita atenção por parte dos investigadores, uma vez que o microbiota parece desempenhar um papel fundamental na preparação do útero para a gravidez e, durante o período de gravidez, as alterações na sua composição parecem ser fundamentais para a manutenção da homeostase e para o sucesso da gestação. Apesar disto,

nem todas as alterações na composição do microbiota são benéficas, podendo também resultar em doenças e em resultados reprodutivos negativos.^{35,49}

O sucesso da gravidez está dependente de um conjunto de alterações anatómicas, fisiológicas, hormonais e imunológicas no corpo humano. A implantação do embrião é uma das etapas mais importantes na gravidez, sendo que o sucesso desta etapa está dependente da receptividade do endométrio. A progesterona e o estrogênio são hormonas fundamentais no sucesso da implantação do embrião, uma vez que têm a capacidade de modular o sistema imunitário, através da regulação da produção de citocinas e fatores de crescimento, preparando o endométrio para a implantação do embrião, ao assegurar um ambiente mais receptivo.^{16,35} Após a implantação do embrião, começa a ser produzida a hormona gonadotrofina coriônica humana, que induz, gradualmente, o aumento da produção de estrogênio e progesterona. Estas hormonas têm a capacidade de induzir o crescimento de algumas bactérias e limitar o crescimento de outras, bem como de fortalecer a função barreira do epitélio do TRF, influenciando assim a composição do microbiota. Uma vez que a produção destas hormonas aumenta ao longo da gravidez, atingindo o pico no 3º trimestre de gestação, há uma tendência para uma diminuição da diversidade microbiana e um aumento do domínio por espécies de *Lactobacillus* durante a gravidez. Isto é muito importante porque sugere que a composição do microbiota tem tendência a ser alterada para uma composição mais saudável e mais estável ao longo da gravidez. Assim, as alterações hormonais e imunológicas que ocorrem durante a gravidez têm a capacidade de influenciar a composição e a estabilidade do microbiota do TRF, com o objetivo de aumentar as taxas de gravidez e reduzir resultados reprodutivos negativos durante a gestação.^{8,49} Por outro lado, uma vez que o microbiota do trato reprodutivo feminino também tem a capacidade de modular o sistema imunitário, a presença de algumas bactérias pode influenciar a receptividade do endométrio à implantação do embrião, o que pode resultar numa diminuição das taxas de gravidez e num aumento dos resultados reprodutivos negativos.

As espécies de *Lactobacillus* apresentam um papel protetor ao nível do TRF, no entanto um domínio do microbiota vaginal por diferentes espécies de *Lactobacillus* tem uma influência diferente nos resultados reprodutivos, podendo algumas destas espécies conduzir a alterações no microbiota vaginal. Um microbiota vaginal dominado por *L. crispatus* apresenta uma maior estabilidade do que um microbiota dominado por *L. iners*, *L. gasseri* ou por várias espécies de *Lactobacillus*, uma vez que a espécie *L. crispatus* tem a capacidade de manter um pH vaginal mais ácido. O domínio por *L. iners* é frequente em situações de vaginoses bacterianas, o que pode ter duas justificações: por um lado, o domínio por esta espécie bacteriana pode aumentar o

risco de desenvolvimento de VB ou, por outro lado, esta espécie bacteriana pode apresentar uma maior capacidade de tolerar o ambiente que caracteriza esta condição.^{10,50} A incidência de VB não tem efeitos patogênicos exclusivamente ao nível TRI, como já foi referido, estando esta condição associada a um aumento do risco de desenvolvimento de doenças, como DIP, e a resultados reprodutivos negativos, nomeadamente infertilidade ou complicações durante a gravidez.^{29,42}

A alteração do microbiota do TRF, com diminuição do domínio por espécies de *Lactobacillus* e aumento da diversidade bacteriana, está associada a um aumento do risco de desenvolvimento de infeções. Uma vez que as bactérias do género *Lactobacillus* apresentam um papel protetor, a diminuição da sua abundância leva a um crescimento excessivo de outros agentes patogênicos, que desencadeiam uma resposta inflamatória, induzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento pelas células do sistema imunitário. Esta situação pode ter implicações na função reprodutiva, uma vez que a regulação do sistema imunitário é fundamental para a implantação do embrião no endométrio, no entanto ainda não há um conhecimento pormenorizado dos mecanismos associados. Assim, as disbioses, particularmente disbioses endometriais, são uma das causas de falha na implantação do embrião e, conseqüentemente, diminuição da taxa de gravidez.^{18,25,26,33,51} Como já foi referido anteriormente, o sucesso da gravidez está dependente de uma interação entre hormonas, o sistema imunitário e o microbiota, no entanto não existe ainda um conhecimento pormenorizado da forma como estas interações ocorrem. Neste sentido, têm sido realizados vários estudos com o objetivo de identificar a composição de um microbiota saudável, numa tentativa de entender a sua influência na reprodução humana.^{8,20}

6.1. Influência do microbiota na gravidez

A composição e estabilidade do microbiota é diferente entre mulheres grávidas e mulheres não grávidas, o que justifica a sua influência nos resultados reprodutivos.¹⁴

Durante a gravidez verifica-se uma diminuição da diversidade do microbiota vaginal e um aumento da abundância de espécies *Lactobacillus*, devido à ausência de menstruação e ao aumento dos níveis de estrogénio e progesterona. A diversidade mínima é atingida no final da gravidez, quando é atingido o pico destas hormonas.^{8,22} O 1º trimestre de gravidez é aquele em que se verifica uma maior diversidade bacteriana, devido às variações nas concentrações de estrogénio e de progesterona, hormonas que estão envolvidas na estabilidade do

microbiota vaginal. A presença de *L. crispatus* numa fase precoce da gravidez garante uma maior estabilidade do microbiota, enquanto que a presença das espécies *L. gasseri* e *L. iners* não representa um papel tão protetor, permitindo o crescimento excessivo de outras bactérias. A presença de *L. iners* no 3º trimestre de gravidez está associada a um maior risco de parto prematuro. Curiosamente, a estabilidade do microbiota durante a gravidez não se verifica unicamente a nível vaginal, mas também noutras partes do corpo, como ao nível do microbiota intestinal, da boca e da pele. O oposto ocorre após o parto, em que se verifica uma diminuição da abundância de *Lactobacillus spp.* e um aumento da diversidade microbiana, o que pode justificar complicações pós-parto, como sepsis.²² Assim, existe uma grande diferença entre o microbiota vaginal durante a gestação e depois do parto.

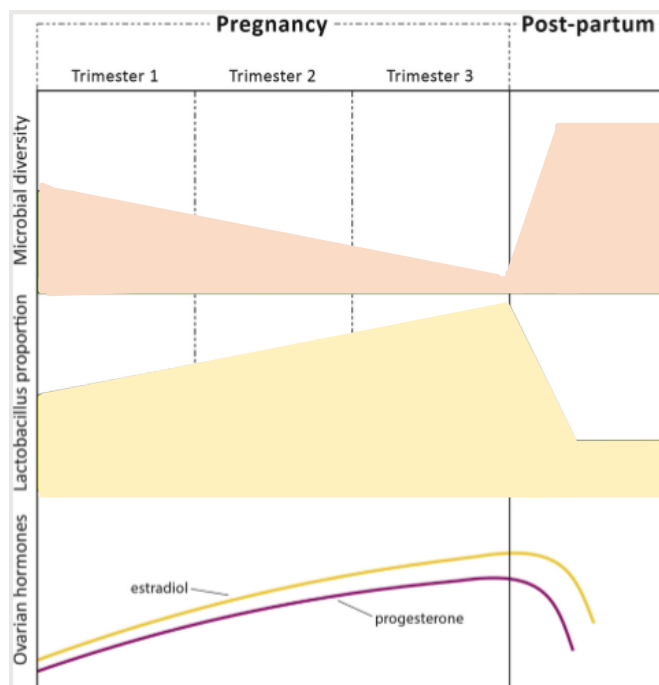


Figura 3: Relação entre o nível de hormonas e a composição do microbiota do trato reprodutivo feminino durante a gravidez e pós-parto. (Adaptado de ²²)

Um microbiota vaginal dominado por espécies de *Lactobacillus* está associado a benefícios durante a gravidez, uma vez que estas espécies apresentam um papel protetor contra agentes patogénicos que têm a capacidade de ascender da vagina até ao útero e colocar em risco a gestação.^{23,30} Este papel protetor deve-se à capacidade destas espécies bacterianas manterem um ambiente que não é favorável ao crescimento de alguns agentes patogénicos, através da produção de ácido láctico, que garante um pH vaginal ácido, de H₂O₂ e bacteriocinas, bem como à sua capacidade de modulação do sistema imunitário, mantendo um ambiente

inflamatório baixo. Assim, um domínio do microbiota vaginal por *Lactobacillus* spp. está associado a menos complicações durante a gravidez. Apesar disto, algumas espécies têm um papel mais protetor do que outras, principalmente na fase pós-parto. Se por um lado a espécie *L. crispatus* impede o crescimento de agentes patogênicos, mantendo um microbiota vaginal normal, por outro a espécie *L. iners* aumenta a predisposição para o crescimento excessivo de bactérias potencialmente patogênicas, aumentando o risco de desenvolvimento de doenças.²⁹

Alterações na composição do microbiota vaginal e/ou do microbiota uterino durante a gravidez, ou seja, disbioses, podem levar à ocorrência de resultados reprodutivos negativos.¹^{10,14} Por exemplo, as vaginoses bacterianas estão associadas a resultados negativos durante a gravidez, como aborto espontâneo e parto prematuro.^{36,12} O parto prematuro é definido como o nascimento antes da 37ª semana de gravidez e atinge 7% a 15% das gestações a nível mundial, sendo a principal causa de morbidade e mortalidade de recém-nascidos no mundo inteiro. Uma percentagem considerável dos partos prematuros, entre 25% a 40%, é causada por infecções bacterianas intrauterinas, geralmente causadas por bactérias encontradas num microbiota do tipo IV, ou seja, com uma elevada diversidade bacteriana. O parto prematuro tem uma maior probabilidade de ocorrer em mulheres com VB durante os 2º ou 3º trimestres de gravidez.^{23,26,30,40} Esta complicação é comum em mulheres grávidas que apresentam uma baixa abundância de espécies de *Lactobacillus*, particularmente da espécie *L. crispatus*, e um domínio de *L. iners* ou uma elevada diversidade bacteriana, com uma abundância das bactérias *E. coli*, *G. vaginalis* e *Sneathia sanguinegens*, bem como de espécies dos gêneros *Bacteroides*, *Mycoplasma*, *Streptococcus* e *Ureaplasma*.^{22,40} O parto prematuro ocorre devido à produção de citocinas pro-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6, IL-8 e de TNF- α , bem como de prostaglandinas que induzem contrações uterinas, com simultânea ativação bacteriana de metaloproteinases da matriz e de hialuronidases que quebram a barreira epitelial cervical, induzindo o parto.³⁰ Desta forma, alterações na composição do microbiota vaginal, com diminuição da abundância de espécies de *Lactobacillus* e crescimento de agentes patogênicos, que têm a capacidade de ascender desde a vagina até ao útero, desencadeiam uma resposta imunitária, o que pode resultar em parto prematuro.⁵²

Está assim demonstrado que, durante a gravidez, algumas bactérias têm a capacidade de causar infecções intrauterinas, através da colonização dos compartimentos materno-fetais e da cavidade amniótica, aumentando o risco de resultados reprodutivos negativos. A presença de bactérias no fluido amniótico pode ser utilizada como um indicador de elevado risco de parto prematuro e o microbiota materno-fetal pode ser analisado para prever a probabilidade de ocorrência de resultados negativos durante a gravidez.^{23,30} Além disto, já foram identificados

alguns biomarcadores de parto prematuro: um comprimento cervical reduzido na 24^a semana de gravidez e/ou a presença de fibronectina fetal no fluido cervicovaginal entre as 22^a e 35^a semanas de gravidez. A fibronectina fetal é uma glicoproteína responsável pela adesão das membranas fetais ao tecido uterino, detetada nas secreções cérvico-vaginais durante as primeiras vinte e duas semanas de gravidez, sendo que a sua deteção depois deste período de gestação está associada a um risco elevado de parto prematuro. Assim, a avaliação do comprimento do colo do útero e a realização do teste para avaliação da presença de fibronectina fetal permitem identificar grávidas com elevado risco de parto prematuro, o que é fundamental para que possa ser realizada uma intervenção precoce e adequada. As principais intervenções são: cerclagem cervical, uma técnica que consiste na sutura do colo do útero, devendo esta ser realizada até à 14^a semana de gestação, ou tratamento com progesterona por via vaginal.⁴⁰

Uma outra complicação que pode ocorrer durante a gravidez é a corioamnionite, uma inflamação das membranas fetais e do líquido amniótico causada por infeção bacteriana. Esta infeção intra-amniótica é, habitualmente, causada pelas espécies *Streptococcus agalactiae*, *Fusobacterium nucleatum* ou *Ureaplasma parvum*. No caso da corioamnionite grave, esta condição está relacionada com a colonização pelas espécies *E. coli*, *Peptostreptococcus magnus*, *Prevotella bivia* e por espécies dos géneros *Corynebacterium* e *Streptococcus*. A maioria destes agentes patogénicos ascendem desde a vagina e colonizam a cavidade intrauterina e os compartimentos fetais, o que leva ao desenvolvimento de uma resposta inflamatória que pode conduzir à rutura prematura das membranas. Assim, apesar da corioamnionite ser uma complicação pouco frequente durante a gestação, é uma das principais causas de parto prematuro. Nestas situações o uso de antibióticos é muito eficaz.³⁰

Pré-eclâmpsia é uma outra complicação que pode ocorrer durante a gravidez, a partir da 20^a semana, sendo caracterizada por um aumento da pressão arterial e por proteinúria. Em alguns estudos realizados foram detetadas na placenta de mulheres com pré-eclâmpsia bactérias associadas a infeções gastrointestinais (*Bacillus spp.*, *Escherichia*, *Listeria* e *Salmonella*), respiratórias (*Anoxybacillus* e *Klebsiella pneumoniae*) e periodontais (*Dialister*, *Porphyromonas*, *Prevotella* e *Variovorax*), bem como bactérias geralmente presentes na cavidade oral (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis* e *Treponema denticola*). Recentemente foi estabelecida uma associação entre esta complicação e a presença de infeção bacteriana, uma vez que a presença de agentes patogénicos leva à ativação das vias inflamatória e anti-

angiogénica, o que afeta a função endotelial, conduzindo assim a um aumento da pressão arterial.^{30,33}

O microbiota do TRF também está envolvido no desenvolvimento de infeções neonatais, como doença neonatal de início precoce e doença neonatal de início tardio. A doença neonatal de início precoce pode ocorrer durante a primeira semana de vida e é uma infeção causada por bactérias que são transmitidas antes ou durante o parto. A doença neonatal de início tardio pode ocorrer entre a primeira semana e o terceiro mês de vida e é uma infeção causada por bactérias que podem, ou não, ser transmitidas durante o parto. O principal agente patogénico responsável por estas infeções é *Streptococcus agalactiae*, no entanto também já foi feita a associação com outras bactérias como *E. Coli* e *S. aureus*, bem como com espécies dos géneros *Klebsiella* e *Acinetobacter*. Numa tentativa de reduzir a incidência destas infeções tem sido realizada uma profilaxia antibiótica em mulheres colonizadas por *Streptococcus agalactiae*, o que tem resultado na diminuição da taxa de incidência de doença neonatal de início precoce. No entanto, até ao momento ainda não se verificou qualquer alteração na taxa de incidência de doença neonatal de início tardio, o que pode sugerir que esta infeção é, na maioria dos casos, causada por bactérias cuja transmissão não ocorre durante o parto.⁴⁰

Até ao momento foram identificadas três vias de colonização da cavidade amniótica: ascensão desde a vagina até ao útero; disseminação hematogénica entre a cavidade oral e a placenta; e uma terceira via que ainda não está bem descrita, mas que está relacionada com populações bacterianas que fazem parte do microbiota vaginal e do microbiota intestinal. Esta última via de colonização pode ser associada, por exemplo, a uma inoculação acidental durante procedimentos invasivos. A principal via de colonização é a ascensão desde a vagina até ao útero que ocorre, principalmente, durante os 2º e 3º trimestres de gravidez. Independentemente da via de colonização, a transferência de bactérias entre a mãe e o feto não tem apenas impactos negativos, apresentando também benefícios, uma vez que algumas bactérias são essenciais na manutenção da gravidez, no desenvolvimento fetal e na preparação do microbiota fetal para um pós-parto saudável, por exemplo, através da preparação do intestino neonatal para a nutrição. É por esta razão que a administração de antibióticos como profilaxia durante o 2º e 3º trimestres de gravidez não reduz o risco de parto prematuro, apesar de reduzir o risco de infeções. Isto porque os antibióticos têm a capacidade de eliminar tanto bactérias patogénicas como bactérias que podem ser benéficas para o ambiente reprodutivo.^{2,30}

6.2. Influência do microbiota na fertilidade e em tratamentos de reprodução assistida (TRA)

Aproximadamente 10% a 15% dos casais têm dificuldade em engravidar. Nestes casos de infertilidade, definida como um ano de relações sexuais desprotegidas sem conseguir engravidar, poderá ser necessária a realização de uma avaliação médica ao casal, homem e mulher. Esta, serve para determinar se há indicação para a realização de tratamentos de reprodução assistida, uma vez que nem todos os casos de infertilidade beneficiam destes tratamentos.^{20,24,25} Existem dois tipos de infertilidade: infertilidade primária e infertilidade secundária, que se distinguem pela existência ou não, respetivamente, de uma gestação anterior. As causas de infertilidade são diversas, podendo esta condição estar associada a problemas num dos parceiros do casal, ou em ambos, existindo também situações de infertilidade inexplicável, denominada infertilidade idiopática. Os casais com infertilidade idiopática, que representam aproximadamente 30% dos casos de infertilidade, não têm indicação para a realização de TRA, uma vez que têm uma grande probabilidade de conseguir engravidar espontaneamente no futuro.^{25,50} No caso de casais com indicação para a realização de TRA é fundamental avaliar a causa de infertilidade para garantir um tratamento adequado e eficaz.²⁴ O principal procedimento utilizado nos TRA é a fertilização in vitro (FIV), podendo este procedimento incluir a técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), utilizada em casos de infertilidade masculina. Nestes casos, é feita a recolha de uma amostra de sémen e são selecionados os espermatozoides de melhor qualidade para a fertilização dos óvulos.^{25,53}

A idade da mulher e a qualidade do esperma são, entre outros, fatores que influenciam a fertilidade e os resultados dos TRA. A composição do microbiota do trato reprodutivo feminino também é um fator influente, uma vez que as comunidades microbianas interagem com o meio do hospedeiro, através da modulação do sistema imunitário. Esta relação pode ter impacto nos resultados reprodutivos, uma vez que é necessária uma estrita regulação dos mediadores inflamatórios para que a implantação do embrião ocorra com sucesso, sendo esta etapa fundamental para o sucesso da gravidez. No caso de procedimentos de FIV, o sucesso da implantação endometrial do embrião é o fator mais importante para o sucesso do tratamento. Um microbiota do TRF dominado por espécies de *Lactobacillus* e com uma baixa diversidade bacteriana representa o meio ótimo para que a implantação do embrião ocorra com sucesso.^{2,4,18,23,25,54} Assim, a colonização do TRF por algumas bactérias como, por exemplo, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* e *Mycoplasma tuberculosis*, está associada a menores taxas de gravidez. Estes agentes patogénicos têm a capacidade de causar alterações

subclínicas, na maioria dos casos assintomáticas, que podem estar na origem de situações de infertilidade. É o caso de mulheres com endometriose, condição que está na origem de situações de infertilidade. Isto poderá estar relacionado com o facto de a endometriose ser uma doença inflamatória, o que pode influenciar a recetividade do endométrio e, consequentemente, a implantação do embrião. No caso de mulheres com vaginoses bacterianas recorrentes, esta condição é também um fator de risco de infertilidade, uma vez que estas mulheres têm um risco aumentado de desenvolver infeções do trato reprodutivo superior, devido à ascensão vaginal dos agentes patogénicos, o que pode conduzir a uma diminuição da fertilidade. As VB, além de estarem associadas a situações de infertilidade, têm uma incidência significativamente superior em mulheres inférteis. Esta incidência é ainda superior em mulheres com infertilidade causada por doença tubária, uma patologia provocada por lesões nas trompas de Falópio, e com infertilidade idiopática comparativamente com mulheres férteis ou com mulheres com infertilidade associada a outras causas.^{16,19,20,22,24,26,42,43,44,47}

A infeção por *C. trachomatis* está associada a uma redução da taxa de gravidez. Neste sentido, foi realizado um estudo na Malásia com o objetivo de avaliar a relação entre a infeção por *C. trachomatis* e os resultados reprodutivos. O risco desta infeção está aumentado em situações de elevada diversidade bacteriana, tendo uma elevada prevalência neste país. O estudo analisou o microbiota do TRF de 70 mulheres em idade reprodutiva, dividindo a população em dois grupos, em função da fertilidade, tendo sido posteriormente realizados testes para diagnóstico de infeção por *C. trachomatis*. Das 34 mulheres que constituíam o grupo infértil, 30 foram diagnosticadas com infeção por *C. trachomatis* (88%), enquanto que das 36 mulheres que pertenciam ao grupo fértil, apenas 10 foram diagnosticadas com a mesma infeção (28%). O grupo infértil incluía mulheres com infertilidade primária e secundária e também mulheres que sofreram aborto espontâneo, tendo sido detetada infeção por *C. trachomatis* em todas as mulheres com infertilidade primária e secundária. Nas mulheres diagnosticadas com infeção por *C. trachomatis* verificou-se um aumento da colonização cervicovaginal por microrganismos anaeróbios e anaeróbios facultativos, com uma elevada abundância de bactérias dos géneros *Cloacibacterium*, *Delftia*, *Lactobacillus*, *Megasphaera*, *Prevotella*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Streptococcus*, *Ureaplasma* e *Veillonella*, a maioria relacionadas com VB. Algumas destas bactérias são constituintes naturais do microbiota vaginal, como é o exemplo da espécie *Delftia tsuruhatensis*, no entanto a sua presença no fluido amniótico foi associada à ocorrência de resultados reprodutivos negativos. Assim, este estudo concluiu que existe uma relação entre a infeção por *C. trachomatis* e a infertilidade, tal como já tinha sido demonstrado

noutros estudos, tendo sido descoberta a capacidade desta espécie bacteriana de potenciar infertilidade tubária, através da indução da cicatrização nas trompas de Falópio.⁴¹

A composição do microbiota do TRF também parece influenciar os resultados de TRA, como já foi referido. Um estudo realizado em Espanha, entre 2017 e 2018, analisou um grupo de 31 mulheres diagnosticadas com infertilidade a realizar TRA. O objetivo foi avaliar a influência da composição do microbiota vaginal nos resultados dos tratamentos de FIV. Neste estudo não foram incluídas mulheres com fatores conhecidos relacionados com falha na implantação do embrião, sendo esta considerada após a transferência de, no mínimo, três embriões de boa qualidade durante, pelo menos, dois ciclos de tratamento. O protocolo habitual de TRA foi cumprido, com hiperestimulação ovárica controlada, um passo fundamental para o sucesso do tratamento de reprodução assistida, e utilizando a técnica de ICSI. Apenas foram escolhidos embriões euploides para implantação, ou seja, embriões sem alterações genéticas, tendo estes sido selecionados por análise, através de técnicas genéticas que avaliam a quantidade de material genético dentro dos embriões. Antes da transferência do embrião euploide foi realizada uma terapêutica para reposição dos níveis de estrogénio e de progesterona. Na semana seguinte à transferência do embrião foi realizado o teste de gravidez, através da análise da concentração sanguínea de gonadotrofina coriónica humana. Este estudo concluiu que, de facto, o microbiota vaginal pode influenciar os resultados dos TRA, sendo as taxas de gravidez superiores em mulheres que apresentam um microbiota dominado por espécies de *Lactobacillus*. Durante o estudo também foi avaliada a estabilidade do microbiota vaginal, através da análise da diversidade alfa, concluindo-se que existe uma relação entre a estabilidade do microbiota e a gravidez, sendo que quanto menor a diversidade alfa, ou seja, quanto maior a estabilidade, maior a probabilidade de gravidez. Apesar do microbiota vaginal apresentar, geralmente, uma baixa diversidade microbiana, foi identificada alguma diversidade entre diferentes zonas da vagina.^{24,55}

Apesar das espécies de *Lactobacillus* desempenharem um papel protetor no TRF, algumas espécies oferecem maior proteção do que outras. Este papel protetor está relacionado com a capacidade que estas espécies têm em manter um ambiente não favorável ao crescimento de alguns agentes patogénicos, particularmente através da produção de ácido láctico que permite manter um pH vaginal ácido. Além disto, a sua capacidade de modulação do sistema imunitário do hospedeiro, estimulando a produção de citocinas anti-inflamatórias e inibindo a produção de citocinas pro-inflamatórias, garante um ambiente benéfico para a saúde reprodutivo. A espécie *L. crispatus* tem ainda a capacidade de reduzir o risco de infeção por *C. trachomatis*, não só pela produção de ácido láctico, mas também através da estimulação da

produção do fator de crescimento endotelial vascular (FCEV), que promove a regeneração das células epiteliais vaginais lesadas, reduzindo assim o risco de desenvolvimento de infecções. Por outro lado, a espécie *L. iners* tem sido associada a resultados reprodutivos negativos. A sua presença em quantidades elevadas representa um fator de risco de vaginose bacteriana, sendo que um microbiota vaginal dominado por esta espécie está também associado a um aumento do risco de desenvolvimento de infecção por *C. trachomatis*.⁴¹

A avaliação do microbiota do TRS no dia da transferência do embrião permite prever a probabilidade de gravidez. Para isso, é feita a cultura da ponta do cateter usado na transferência do embrião, que é introduzido através da vagina até à cavidade uterina, onde é feita a implantação do embrião. Antes da introdução do cateter utilizado para a transferência do embrião é introduzido um cateter externo, através do cérvix, de forma a reduzir a probabilidade de contaminação no TRI.^{18,23} Quanto menor a diversidade bacteriana, com domínio de espécies de *Lactobacillus*, maior a probabilidade de gravidez, sendo a taxa de gravidez superior em mulheres com espécies de *Lactobacillus* isoladas da ponta do cateter.^{24,19} A abundância de outras espécies bacterianas na cavidade uterina como, por exemplo, *E. Coli*, *G. vaginalis* e *A. vaginae*, bem como espécies dos géneros *Klebsiella*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*, está fortemente relacionada com uma diminuição das taxas de implantação do embrião e gravidez, no entanto ainda não é conhecido o mecanismo através do qual estas bactérias influenciam o sucesso da implantação do embrião.^{1,18,20} Apesar disso, isto comprova que a presença de bactérias associadas a vaginoses bacterianas em mulheres a realizar TRA está associada a taxas de gravidez mais baixas, sendo que esta condição aumenta o risco de aborto espontâneo. Isto parece estar relacionado com o facto de as bactérias associadas a VB terem a capacidade de ascender desde a vagina até ao útero, induzindo uma resposta inflamatória, o que diminui a receptividade do endométrio e impede a implantação do embrião. Assim, é possível concluir que quanto menor a diversidade bacteriana do microbiota vaginal, melhores os resultados reprodutivos, uma vez que a composição do microbiota vaginal parece influenciar a composição do microbiota do TRS, devido à ascensão bacteriana desde a vagina.^{22,30,43,44}

Até ao momento ainda existindo poucos estudos do microbiota uterino, contrariamente ao que acontece com o microbiota vaginal. Uma das explicações para esta situação é o facto de as amostras vaginais serem mais facilmente obtidas do que as amostras endometriais.²⁵ Desta forma, a investigação do microbiota uterino deve continuar a aumentar, bem como o estudo da sua relação com os resultados reprodutivos, uma vez que a implantação do embrião ocorre no endométrio. Os estudos realizados até ao momento demonstraram que a cavidade

uterina é habitada por pequenas comunidades microbianas e que o microbiota uterino influencia os resultados reprodutivos, tendo um impacto importante no sucesso da implantação do embrião. À semelhança do microbiota vaginal, o microbiota uterino pode ser classificado, em função da abundância *Lactobacillus spp*, em: microbiota dominado por *Lactobacillus* (MDL), quando apresenta uma abundância relativa de espécies de *Lactobacillus* $\geq 90\%$, ou microbiota não dominado por *Lactobacillus* (MNDL), quando apresenta uma abundância relativa destas espécies $< 90\%$.^{1,28,55} Esta é a grande variável que permite prever os resultados reprodutivos, sendo que um MDL está habitualmente associado a maiores taxas de implantação do embrião e de gravidez. Por outro lado, um MNDL está associado a resultados reprodutivos negativos, com menores taxas de gravidez e maiores taxas de aborto.^{24,33,55} Esta relação é ainda mais evidente em mulheres cujas comunidades microbianas do TRS contêm na sua composição as espécies *Atopobium vaginae*, *E. coli*, *G. vaginalis*, bem como espécies dos géneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*, estando estas bactérias associadas a menores taxas de gravidez e maiores taxas de aborto após a transferência do embrião. Uma possível explicação para as baixas taxas de gravidez em mulheres com um MNDL pode ser o facto de este microbiota desencadear uma resposta inflamatória na cavidade uterina, o que pode comprometer a implantação do embrião no endométrio, uma vez que, como já foi referido, para que a implantação do embrião ocorra com sucesso é fundamental que os mediadores inflamatórios sejam altamente regulados.^{12,14,25}

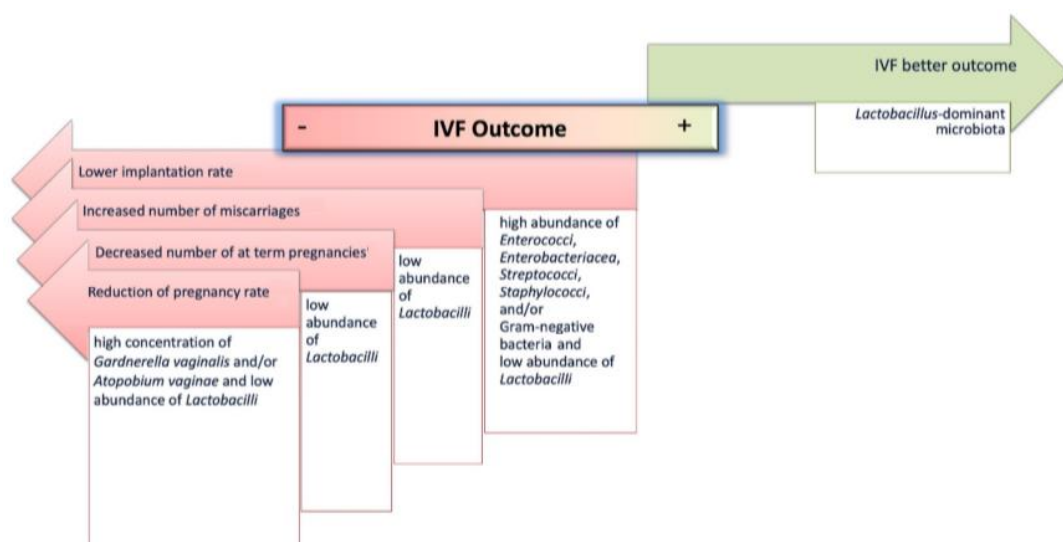


Figura 4: Influência da composição do microbiota do trato reprodutivo feminino nos resultados de tratamentos de fertilização in vitro. (Adaptado de ²⁰)

7. Tratamentos

Considerando que o microbiota do trato reprodutivo feminino parece ter influência nos resultados reprodutivos, torna-se fundamental desenvolver estratégias que alterem a composição do microbiota para uma composição benéfica para o ambiente reprodutivo. O desenvolvimento de novas terapêuticas farmacológicas, que poderão ser utilizadas isoladamente ou em simultâneo, poderá ser importante na melhoria dos resultados reprodutivos.^{2,6,51}

O uso de antibióticos é uma prática comum e já muito antiga, quer no tratamento de disbioses e doenças do trato reprodutivo feminino, quer como profilaxia em mulheres a realizar tratamentos de reprodução assistida. No que diz respeito à sua utilização como tratamento, os antibióticos são utilizados frequentemente no tratamento de vaginose bacterianas, uma das disbioses mais comuns, podendo a sua escolha ser feita de forma empírica ou após a realização de um teste de diagnóstico. Um estudo realizado recentemente, demonstrou que a utilização de metronidazol no tratamento de endometriose está associada a uma diminuição do tamanho das lesões e a uma redução da inflamação, prevenindo o aparecimento de novas lesões.^{23,40,47} No que diz respeito à utilização dos antibióticos de forma profilática em mulheres a realizar TRA, o objetivo da sua utilização é a eliminação de agentes patogénicos que colonizam o TRF e que podem comprometer o sucesso dos tratamentos. A administração oral de antibióticos como, por exemplo, metronidazol e doxiciclina, é realizada antes da transferência do embrião, tanto em tratamentos de FIV como em tratamentos de ICSI, com o objetivo de diminuir a colonização do TRS por agentes patogénicos, de forma a aumentar as taxas de implantação e gravidez. Um dos maiores problemas associados a este tipo de terapêutica farmacológica é o desenvolvimento de resistências bacterianas, pelo que têm sido desenvolvidos e testados novos antibióticos. Um outro problema é o facto de os antibióticos não terem a capacidade de eliminar completamente as bactérias que colonizam o TRF, devido à capacidade de formação de um biofilme que aumenta a resistência dos agentes patogénicos à eliminação.^{2,18,40,54}

Apesar dos antibióticos diminuírem a abundância de bactérias no TRF, a sua eficácia a nível clínico ainda é limitada, uma vez que ainda não foi possível estabelecer uma relação entre a sua utilização e a melhoria dos resultados reprodutivos. Ou seja, até ao momento ainda não foi demonstrado que a administração de antibióticos antes e durante os TRA diminui os resultados negativos durante a gravidez, como parto prematuro, ou aumenta as taxas de implantação e gravidez. Esta ausência de evidência pode ser justificada pelo facto de os

antibióticos não eliminarem completamente os agentes patogénicos, podendo a carga bacteriana remanescente continuar a modular o sistema imunitário e comprometer, assim, o sucesso dos resultados reprodutivos. Além deste facto, a composição do microbiota vaginal também poderá ser influenciada pelo sémen, uma vez que este poderá ser uma fonte de transmissão de agentes patogénicos. Por isso, a administração de antibióticos de forma profilática deverá também ser considerada em homens, antes da recolha do esperma. Apesar da utilização de antibióticos já ser realizada em alguns procedimentos de FIV, é fundamental avaliar, em todos os casos, se há indicação e necessidade de administração destes medicamentos.^{2,18,23}

Uma alternativa aos antibióticos poderá ser a administração de prebióticos e probióticos. Os probióticos são bactérias vivas e os prebióticos são ingredientes alimentares funcionais que estimulam o crescimento ou a atividade de microrganismos específicos. Estas formulações já são utilizadas no tratamento de VB, bem como de outras disbioses. Se, por um lado, os antibióticos atuam por eliminação de agentes patogénicos, por outro lado, os prebióticos e probióticos têm a capacidade de restabelecer o microbiota, oferecendo benefícios para a saúde do hospedeiro e, neste caso em particular, para o ambiente reprodutivo.^{27,34} Atualmente está demonstrado que a administração de probióticos com *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum* e *Lactobacillus reuteri* na sua composição estimula o crescimento de outras espécies de *Lactobacillus* que fazem parte da composição de um microbiota vaginal saudável, como *Lactobacillus crispatus* e *Lactobacillus iners*, diminuindo a incidência de disbioses vaginais. O uso destas formulações é seguro e as taxas de colonização são elevadas, apesar de serem inferiores em mulheres que praticam atividade sexual na semana seguinte ao tratamento. No caso dos probióticos, as taxas de colonização são inferiores em mulheres que apresentam outras espécies de *Lactobacillus* no início do tratamento, o que sugere que há uma competição entre espécies do mesmo género para a colonização. Apesar da eficácia relativamente elevada dos probióticos direcionados para uma colonização vaginal, estudos realizados demonstraram que os probióticos direcionados para uma colonização retal garantem alterações no microbiota vaginal durante mais tempo, oferecendo uma maior proteção contra VB. Apesar disto, a eficácia destas formulações é limitada porque não se conhece o seu impacto a nível clínico, uma vez que os modelos usados no desenvolvimento destas formulações não permitem reproduzir a complexidade do ambiente do TRF, nomeadamente o ciclo menstrual e o muco. Em muitas situações estas formulações são utilizadas concomitantemente com terapêutica antimicrobiana, principalmente no tratamento de VB, sendo uma prática clínica cada vez mais utilizada, uma vez que tem apresentado resultados favoráveis. Os suplementos com

Lactobacillus podem ser utilizados durante longos períodos de tempo, principalmente em mulheres que apresentam disbioses recorrentes, sendo que a sua utilização poderá, enquanto alternativa aos antibióticos, melhorar os resultados reprodutivos e aumentar o sucesso dos TRA, através da modulação da composição do microbiota do TRF. Neste sentido, os simbióticos, uma combinação de probióticos e prebióticos, poderão contribuir significativamente para a melhoria da saúde reprodutiva, ao atuarem de forma sinérgica, garantindo os efeitos benéficos dos probióticos e dos prebióticos em simultâneo.^{2,18,23,27,34,56}

A administração intrauterina de fármacos, nomeadamente antibióticos, probióticos e/ou prebióticos, é uma abordagem que está a ser investigada para a alteração da composição do microbiota uterino. A libertação e absorção destes fármacos é influenciada por vários fatores, entre os quais: pH, temperatura, composição do fluido uterino, viscosidade, metabolismo e clearance. Assim, estes fatores devem ser investigados para permitir o desenvolvimento de fármacos com uma elevada eficácia e efetividade.³⁴ Por outro lado, considerando que o sucesso da implantação do embrião está dependente dos níveis de progesterona, uma vez que esta hormona garante um ambiente favorável à implantação, a suplementação com progesterona poderá ser vantajosa durante os TRA, aumentando as taxas de implantação e gravidez.¹⁶

O transplante de microbiota fecal é uma abordagem que está a ser cada vez mais utilizada para a alteração da composição do microbiota, consistindo na inoculação do microbiota fecal no intestino. Neste momento ainda só existe evidência clínica sobre a eficácia desta abordagem na indicação de tratamento de colite pseudomembranosa recorrente, uma infeção causada por *Clostridioides difficile*. No entanto, este procedimento é utilizado em várias outras indicações. Um dos problemas da transferência de microbiota fecal é o elevado risco de complicações depois do transplante, nomeadamente septicemia, uma vez que o rastreio dos dadores nem sempre é realizado de forma adequada devido à ausência de protocolos definidos. Neste sentido, esta abordagem deve continuar a ser investigada de forma a aumentar a segurança da sua utilização. Curiosamente, a utilização desta abordagem já foi proposta para o tratamento de doenças do TRF, uma vez que uma das vias de colonização do TRS é a disseminação hematogénica de bactérias do microbiota intestinal. Outros conceitos de transplante de microbiota também estão a surgir como, por exemplo, o transplante de microbiota vaginal, que consiste na inoculação de fluido vaginal de um dador saudável na vagina de um paciente, e o transplante de microbiota uterino. Assim, os transplantes de microbiota são uma abordagem muito promissora na modulação da composição do microbiota do TRF e na melhoria da saúde reprodutiva.^{34,50}

Todas estas opções terapêuticas podem ser consideradas em casos de mulheres que apresentam um microbiota do TRF não saudável. No entanto, ainda não existem recomendações clínicas para a sua utilização, uma vez que ainda não está definida a composição de um microbiota saudável, não sendo, por isso, possível diagnosticar um microbiota anormal. Apesar destas alternativas garantirem resultados mais rápidos na alteração da composição do microbiota, também se pode aguardar por uma alteração espontânea, uma vez que o microbiota do TRF é dinâmico.²⁵ As formulações desenvolvidas, apesar de eficazes, não são suficientes para garantir um microbiota do TRF saudável. Assim, também é fundamental a adoção de comportamentos que contribuam para um microbiota saudável, principalmente ao nível das práticas de higiene íntima e dos comportamentos sexuais. Neste último caso, está comprovado que a atividade sexual diminui a abundância de espécies de *Lactobacillus* e aumenta o risco de disbioses, particularmente vaginose bacteriana. O uso de preservativo é uma medida fundamental para garantir um microbiota vaginal dominado por *Lactobacillus* spp.. O objetivo principal é garantir um microbiota vaginal ótimo, eliminando espécies patogênicas, de forma a assegurar um ambiente adequado à reprodução.^{1,23,42}

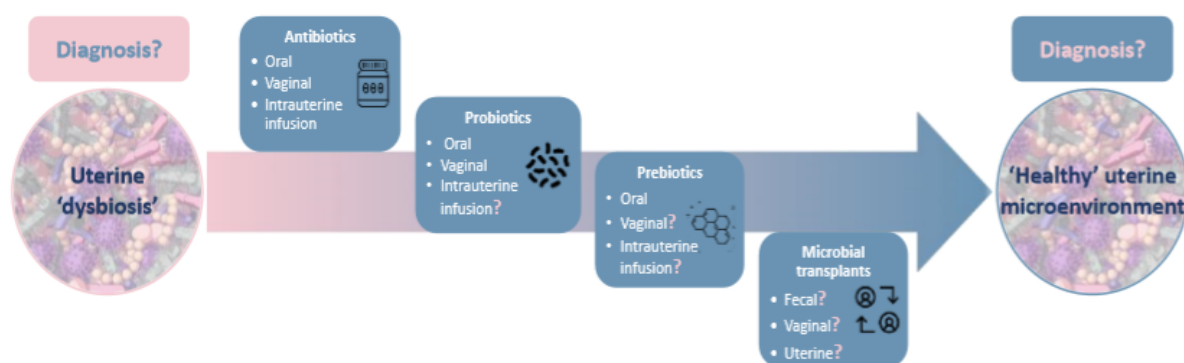


Figura 5: Tratamentos utilizados e em investigação para a modificação da composição do microbiota do trato reprodutivo feminino. (Adaptado de ³⁴)

8. Conclusão

Um microbiota do trato reprodutivo feminino saudável é, habitualmente, dominado por espécies de *Lactobacillus*. O microbiota vaginal pode ser classificado em cinco tipos, em função da presença ou ausência de espécies de *Lactobacillus* dominantes. No entanto, este é muito dinâmico e sofre alterações na sua composição qualitativa e quantitativa ao longo da vida. O domínio do microbiota vaginal por espécies de *Lactobacillus* oferece um papel protetor ao trato reprodutivo feminino, ao inibir o crescimento de bactérias potencialmente patogênicas que podem ascender desde a vagina até à cavidade uterina.^{2,24} O microbiota uterino apresenta uma

composição qualitativa e quantitativa ligeiramente diferente do microbiota vaginal, o que permite concluir que a colonização da cavidade uterina não resulta, exclusivamente, da ascensão de bactérias desde a vagina. Apesar disto, algumas bactérias mantêm a capacidade de ascender desde a vagina até ao útero.^{1,18,28} Assim, é fundamental manter um microbiota vaginal saudável, de forma a garantir um microbiota uterino saudável e, conseqüentemente, um ambiente reprodutivo saudável, uma vez que parece existir uma relação entre o microbiota e os resultados reprodutivos.

A composição do microbiota do trato reprodutivo feminino parece influenciar a fertilidade e os resultados reprodutivos durante a gravidez. O que se sabe até ao momento é que um microbiota vaginal dominado por espécies de *Lactobacillus*, particularmente por *L. crispatus*, está associado a um ambiente reprodutivo saudável, enquanto que um microbiota não dominado por espécies de *Lactobacillus* está, geralmente, associado a resultados reprodutivos negativos. O domínio do microbiota vaginal por *L. iners* está também associado a resultados reprodutivos negativos, o que permite concluir que algumas espécies de *Lactobacillus* oferecem maior proteção do que outras.^{23,26,31,50} Assim, um microbiota não dominado por *Lactobacillus* spp. está associado a um risco aumentado de resultados negativos durante a gravidez como, por exemplo, aborto espontâneo e parto prematuro, bem como a situações de infertilidade e a uma diminuição do sucesso de tratamentos de reprodução assistida, particularmente de procedimentos de fertilização *in vitro*.

Apesar de vários estudos já terem demonstrado que o microbioma do trato reprodutivo feminino desempenha um papel muito importante na fisiologia e fisiopatologia da reprodução humana, a compreensão da relação entre o microbioma e a reprodução ainda está numa fase muito inicial. Até ao momento já foi demonstrado que a composição e a estabilidade do microbiota do trato reprodutivo feminino influenciam a fertilidade e os resultados reprodutivos. Assim, a alteração da composição do microbiota para uma composição mais estável, que ofereça maior proteção, poderá ser a chave para prevenir e tratar disbioses e, deste modo, melhorar a saúde reprodutiva. Deste modo, a relação entre o microbioma e resultados reprodutivos deve continuar a ser investigada, no sentido de melhorar diagnósticos e desenvolver tratamentos que promovam a saúde reprodutiva e que aumentem a eficácia dos tratamentos de reprodução assistida.

9. Bibliografía

1. FRANASIAK, J., SCOTT, R. - **Endometrial microbiome.** Current Opinion in Obstetrics and Gynecology. 29:3 (2017) 146–152.
2. GARCÍA-VELASCO, J., MENABRITO, M., CATALÁN, I. - **What fertility specialists should know about the vaginal microbiome: a review.** Reproductive Biomedicine Online. 35:1 (2017) 103–112.
3. ELOE-FADROSH, E., RASKO, D. - **The Human Microbiome: From Symbiosis to Pathogenesis.** Annual Review of Medicine. 64 (2013) 145–163.
4. YARBROUGH, V., WINKLE, S., HERBST-KRALOVETZ, M. - **Antimicrobial peptides in the female reproductive tract: A critical component of the mucosal immune barrier with physiological and clinical implications.** Human Reproduction Update. 21:3 (2015) 353–377.
5. PARFREY, L., KNIGHT, R. - **Spatial and temporal variability of the human microbiota.** Clinical Microbiology and Infection. 18 (2012) 5–7.
6. BELIZÁRIO, J., NAPOLITANO, M. - **Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases, and novel therapeutic approaches.** Frontiers in Microbiology. 6 (2015) 1–16.
7. URSELL, L., METCALF, J., PARFREY, L., KNIGHT, R. - **Defining the human microbiome.** Nutrition Reviews. 70:SUPPL_1 (2012) S38–S44.
8. BLASER, M., DOMINGUEZ-BELLO, M. - **The Human Microbiome before Birth.** Cell Host & Microbe. 20:5 (2016) 558–560.
9. LLOYD-PRICE, J., ABU-ALI, G., HUTTENHOWER, C. - **The healthy human microbiome.** Genome Medicine. 8:1 (2016) 1–11.
10. GREEN, K., ZAREK, S., CATHERINO, W. - **Gynecologic health and disease in relation to the microbiome of the female reproductive tract.** Fertility and Sterility. 104:6 (2015) 1351–1357.
11. BELKAID, Y., HARRISON, O. - **Homeostatic Immunity and the Microbiota.** Immunity. 46:4 (2017) 562–576.
12. KOEDOODER, R., MACKENS, S., BUDDING, A., FARES, D., BLOCKEEL, C., LAVEN, J., SCHOENMAKERS, S. - **Identification and evaluation of the microbiome in the**

female and male reproductive tracts. Human Reproduction Update. 25:3 (2019) 298–325.

13. ANSWAL, M., PRABHA, V. - **Escherichia coli recombinant sperm immobilizing factor RecX as a potential vaginal contraceptive.** Reproductive Biology and Endocrinology. 16:1 (2018) 1–9.

14. MORENO, I., CODOÑER, F., VILELLA, F., VALBUENA, D., MARTINEZ-BLANCH, J., JIMENEZ-ALMAZÁN, J., ALONSO, R., ALAMÁ, P., REMOHÍ, J., PELLICER, A., RAMON, D., SIMON, C. - **Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure.** American Journal of Obstetrics and Gynecology. 215:6 (2016) 684–703.

15. NOECKER, C., MCNALLY, C., ENG, A., BORENSTEIN, E. - **High-resolution characterization of the human microbiome.** Translational Research. 179 (2017) 7–23.

16. SIROTA, I., ZAREK, S., SEGARS, J. - **Potential influence of the microbiome on infertility and assisted reproductive technology.** Seminars in Reproductive Medicine. 32:1 (2014) 35–42.

17. MOR, A., DRIGGERS, P., SEGARS, J. - **Molecular characterization of the human microbiome from a reproductive perspective.** Fertility and Sterility. 104:6 (2015) 1344–1350.

18. FRANASIAK, J., SCOTT, R. - **Reproductive tract microbiome in assisted reproductive technologies.** Fertility and Sterility. 104:6 (2015) 1364–1371.

19. OLIVEIRA, M., MEDEIROS, F., ELEUTÉRIO, J. - **Infertility and vaginal microbiome: review study.** DST - Jornal brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis. 31:1 (2019) 24–29.

20. TOMAIUOLO, R., VENERUSO, I., CARIATI, F., D'ARGENIO, V. - **Microbiota and human reproduction: The case of female infertility.** High-Throughput. 9:2 (2020).

21. WEE, B., THOMAS, M., SWEENEY, E., FRENTIU, F., SAMIOS, M., RAVEL, J., GAJER, P., MYERS, G., TIMMS, P., ALLAN, J., HUSTON, W. - **A retrospective pilot study to determine whether the reproductive tract microbiota differs between women with a history of infertility and fertile women.** Australian and New Zealand College of Obstetrics and Gynaecology. 58:3 (2018) 341–348.

22. KROON, S., RAVEL, J., HUSTON, W. - **Cervicovaginal microbiota, women's health, and reproductive outcomes.** Fertility and Sterility. 110:3 (2018) 327–336.

23. ANAHTAR, M., GOOTENBERG, D., MITCHELL, C., KWON, D. - **Cervicovaginal Microbiota and Reproductive Health: The Virtue of Simplicity.** *Cell Host and Microbe.* 23:2 (2018) 159–168.
24. BERNABEU, A., LLEDO, B., DÍAZ, M., LOZANO, F., RUIZ, V., FUENTES, A., LOPEZ-PINEDA, A., MOLINER, B., CASTILLO, J., ORTIZ, J., TEN, J., LLACER, J., CARRATALA-MUNUERA, C., OROZCO-BELTRAN, D., QUESADA, J., BERNABEU, R. - **Effect of the vaginal microbiome on the pregnancy rate in women receiving assisted reproductive treatment.** *Journal of Assisted Reproduction and Genetics.* 36:10 (2019) 2111–2119.
25. KOEDOODER, R., SINGER, M., SCHOENMAKERS, S., SAVELKOUL, P., MORRÉ, S., JONGE, J., POORT, L., SUYPERS, W., BECKERS-NBROEKMANS, F., COHLEN, B., HARTOG, J., FLEISCHER, K., LAMBALK, C., SMEENK, J., BUDDING, A., LAVEN, J. - **The vaginal microbiome as a predictor for outcome of in vitro fertilization with or without intracytoplasmic sperm injection: A prospective study.** *Human Reproduction.* 34:6 (2019) 1042–1054.
26. MITH, S., RAVEL, J. - **The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology.** *The Journal of Physiology.* 595:2 (2017) 451–463.
27. MENDLING, W. - **Vaginal Microbiota.** *Microbiota of the human body.* 902 (2016) 83–93.
28. BRACEWELL-MILNES, T., SASO, S., NIKOLAOU, D., NORMAN-TAYLOR, J., JOHNSON, M., THUM, M. - **Investigating the effect of an abnormal cervico-vaginal and endometrial microbiome on assisted reproductive technologies: A systematic review.** *American Journal of Reproductive Immunology.* 80:5 (2018) 1–17.
29. HUANG, Y., WANG, Y., HE, Y., JI, Y., WANG, L., SHEMG, H., ZHANG, M., HUANG, Q., ZHANG, D., ZHONG, M., ZHOU, H. - **Homogeneity of the Vaginal Microbiome at the Cervix, Posterior Fornix, and Vaginal Canal in Pregnant Chinese Women.** *Microbial Ecology.* 69:2 (2015) 407–414.
30. MORENO, I., FRANASIAK, J. - **Endometrial microbiota—new player in town.** *Fertility and Sterility.* 108:1 (2017) 32–39.
31. AGOSTINIS, C., MANGOGNA, A., BOSSI, F., RICCI, G., KISHORE, U., BULLA, R. - **Uterine immunity and microbiota: A shifting paradigm.** *Frontiers in Immunology.* 10 (2019).

32. CHEN, C., SONG, X., WEI, W., ZHONG, H., DAI, J., LAN, Z., LI, F., YU, X., FENG, Q., WANG, Z., XIE, H., CHEN, X., ZENG, C., WEN, B., ZENG, L., DU, H., TANG, H., XU, C., XIA, Y., XIA, H., YANG, H., WANG, J., WANG, J., MADSEN, L., BRIX, S., KRISTIANSEN, K., XU, X., LI, J., WU, R., JIA, H. - **The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases.** *Nature Communications*. 8:1 (2017) 1–11.
33. MORENO, I., SIMON, C. - **Relevance of assessing the uterine microbiota in infertility.** *Fertility and Sterility*. 110:3 (2018) 337–343.
34. MOLINA, N., SOLA-LEYVA, A., SAEZ-LARA, M., PLAZA-DIAZ, J., TUBIC-PAVLOVIC, A., ROMERO, B., CLAVERO, A., MOZAS-MORENO, J., FONTES, J., ALTMAE, S. - **New opportunities for endometrial health by modifying uterine microbial composition: Present or future?** *Biomolecules*. 10:4 (2020).
35. BENNER, M., FERWERDA, G., JOOSTEN, I., MOLEN, R. - **How uterine microbiota might be responsible for a receptive, fertile endometrium.** *Human Reproduction Update*. 24:4 (2018) 393–415.
36. DOERFLINGER, S., THROOP, A., HERBST-KRALOVETZ, M. - **Bacteria in the vaginal microbiome alter the innate immune response and barrier properties of the human vaginal epithelia in a species-specific manner.** *The Journal of Infectious Diseases*. 209:12 (2014) 1989–1999.
37. PANT, N., SINGH, R., GUPTA, V., CHAUHAN, A., MAVUDURU, R., PRABHA, V., SHARMA, P. - **Contraceptive efficacy of sperm agglutinating factor from *Staphylococcus warneri*, isolated from the cervix of a woman with inexplicable infertility.** *Reproductive Biology and Endocrinology*. 17:1 (2019) 1–12.
38. ACHILLES, S., AUSTIN, M., MEYN, L., MHLANGA, F., CHIRENJE, Z., HILLIER, S. - **Impact of contraceptive initiation on vaginal microbiota.** *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 218:6 (2018) 622.e1-622.e10.
39. PANT, N., SINGH, R., CHAUHAN, A., GUPTA, V., MAVUDURU, R., PRABHA, V., SHARMA, P. - **Contraceptive Sperm Agglutinating Proteins Identified in *Staphylococcus warneri*, Natural Microflora of an Infertile Woman.** *Indian Journal of Microbiology*. 59:1 (2019) 51–57.
40. WIJGERT, J., JESPERS, V. - **The global health impact of vaginal dysbiosis.** *Research in Microbiology*. 168:9–10 (2017) 859–864.

41. CHEONG, H., YAP, P., CHONG, C., CHEOK, Y., LEE, C., TAN, G., SULAIMAN, S., HASSAN, J., SABET, N., LOOI, C., GUPTA, R., ARULANANDAM, S., THE, C., CHANG, L., WONG, W. - **Diversity of endocervical microbiota associated with genital Chlamydia trachomatis infection and infertility among women visiting obstetrics and gynecology clinics in Malaysia.** PLOS ONE. 14:11 (2019) 1–16.
42. OOSTRUM, N., SUTTER, P., MEYS, J., VERSTRAELEN, H. - **Risks associated with bacterial vaginosis in infertility patients: a systematic review and meta-analysis.** Human reproduction. 28:7 (2013) 1809–1815.
43. HAAHR, T., ZACHO, J., BRAUNER, M., SHATHMIGHA, K., JENSEN, J., HUMAIDAN, P. - **Reproductive outcome of patients undergoing in vitro fertilisation treatment and diagnosed with bacterial vaginosis or abnormal vaginal microbiota: a systematic PRISMA review and meta-analysis.** BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology. 126:2 (2019) 200–207.
44. HAAHR, T., JENSEN, J., THOMSEN, L., DUUS, L., RYGAARD, K., HUMAIDAN, P. - **Abnormal vaginal microbiota may be associated with poor reproductive outcomes: A prospective study in IVF patients.** Human Reproduction. 31:4 (2016) 795–803.
45. HAAHR, T., ELBAEK, H., LAURSEN, R., ALSBJERG, B., JENSEN, J., HUMAIDAN, P. - **Treatment of abnormal vaginal microbiota before frozen embryo transfer: Case-report and minireview to discuss the longitudinal treatment efficacy of oral clindamycin.** Frontiers in Physiology. 8 (2017) 1–6.
46. HAAHR, T., HUMAIDAN, P., ELBAEK, H., ALSBJERG, B., LAURSEN, R., RYGAARD, K., JOHANNESSEN, T., ANDERSEN, P., NG, K., JENSEN, J. - **Vaginal microbiota and IVF outcomes: development of a simple diagnostic tool to predict patients at risk of a poor reproductive outcome.** Oxford University Press for the Infectious Diseases Society of America. (2018) 1–26.
47. LEONARDI, M., HICKS, C., EL-ASSAAD, F., EL-OMAR, E., CONDOUS, G. - **Endometriosis and the microbiome: a systematic review.** BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology. 127:2 (2020) 239–249.
48. WEI, W., ZHANG, X., TANG, H., ZENG, L., WU, R. - **Microbiota composition and distribution along the female reproductive tract of women with endometriosis.** Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. 19 (2020) 1–8.

49. FUHLER, G. - **The immune system and microbiome in pregnancy.** Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. (2020).
50. AMATO, V., PAPAEO, E., PASCIUTA, R., VIGANÒ, P., FERRARESE, R., CLEMENTI, N., SANCHEZ, A., QUARANTA, L., BURIONI, R., AMBROSI, A., SALONIA, A., CLEMENTI, M., CANDIANI, M., MANCINI, N. - **Differential composition of vaginal microbiome, but not of seminal microbiome, is associated with successful intrauterine insemination in couples with idiopathic infertility: A prospective observational study.** Open Forum Infectious Diseases. 7:1 (2020).
51. FRANASIAK, J., SCOTT, R. - **Introduction Microbiome in human reproduction.** Fertility and Sterility. 104:6 (2015) 1341–1343.
52. TSONIS, O., GKROZOU, F., HARRISON, E., STEFANIDIS, K., VRACHNIS, N., PASCHOPOULOS, M. - **Female genital tract microbiota affecting the risk of preterm birth: What do we know so far? A review.** European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. 245 (2020) 168–173.
53. SFONTOURIS, I., NASTRI, C., LIMA, M., TAHMASBPOURMARZOUNI, E., RAINE-FENNING, N., MARTINS, W. - **Artificial oocyte activation to improve reproductive outcomes in women with previous fertilization failure: A systematic review and meta-analysis of RCTs.** Human Reproduction. 30:8 (2015) 1831–1841.
54. ESKEW, A., STOUT, M., BEDRICK, B., RILEY, J., OMURTAG, K., JIMENEZ, P., ODEM, R., RATTS, V., KELLER, S., JUNGHEIM, E., WYLIE, K. - **Association of the eukaryotic vaginal virome with prophylactic antibiotic exposure and reproductive outcomes in a subfertile population undergoing in vitro fertilisation: a prospective exploratory study.** BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology. 127:2 (2020) 208–216.
55. KYONO, K., HASHIMOTO, T., NAGAI, Y., SAKURABA, Y. - **Analysis of endometrial microbiota by 16S ribosomal RNA gene sequencing among infertile patients: a single-center pilot study.** Reproductive Medicine and Biology. 17:3 (2018) 297–306.
56. KERRY, R., PATRA, J., GOUDA, S., PARK, Y., SHIN, H., DAS, G. - **Benefaction of probiotics for human health: A review.** Journal of Food and Drug Analysis. 26:3 (2018) 927–939.