

ORIGINAL

Análisis microbiológico del tracto genital materno y de la sangre del cordón umbilical en relación con el daño neonatal



Silvina E. Cocucci^a, Mirtha G. Santacruz Silvero^a, Mirta O. Losada^a, María S. Touzón^a,
Hilda RudaVega^b, Manuel Vazquez Blanco^c, Sergio L. Provenzano^d,
Carlos A. Vay^a, Ángela M.R. Famiglietti^a y Beatriz E. Perazzi^{a,*}

^a Laboratorio de Bacteriología Clínica, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires, Córdoba, CABA, Argentina

^b División de Obstetricia, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires, Córdoba, CABA, Argentina

^c División de Cardiología, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires, Córdoba, CABA, Argentina

^d División de Neonatología, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires, Córdoba, CABA, Argentina

Recibido el 24 de abril de 2017; aceptado el 19 de septiembre de 2017

Disponible en Internet el 9 de diciembre de 2018

PALABRAS CLAVE

Análisis
microbiológico;
Tracto genital
materno;
Sangre de cordón
umbilical;
Daño neonatal

Resumen La etiología que conduce al daño neonatal es multifactorial, y los procesos infecciosos pueden estar implicados en él. El objetivo de este estudio fue identificar microorganismos del tracto genital materno asociados con el daño neonatal, a fin de prevenir futuras complicaciones perinatológicas. Se estudiaron 711 embarazadas que concurren entre enero de 2010 y julio 2013 al consultorio externo de Obstetricia del Hospital de Clínicas de la UBA para sus controles prenatales, y cuyos partos también tuvieron lugar en dicho nosocomio. En la sangre del cordón umbilical se investigó la presencia de *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* mediante el cultivo con sustratos metabólicos (Micofast-Biomérieux), y la de *Trichomonas vaginalis* por PCR, con *primers* específicos. El estudio microbiológico del contenido vaginal se efectuó en 288 de las embarazadas en la semana 35 a 37. Se empleó la metodología convencional, a la que se agregó el cultivo en tioglicolato modificado para *T. vaginalis*. Se investigó la presencia de estreptococos grupo B (EGB) en hisopado anorrectal y de introito vaginal, utilizando enriquecimiento en caldo selectivo y posterior siembra en medio cromogénico. Se utilizaron los test de χ^2 Yates y de Fisher para muestras independientes, considerándose significativo $p \leq 0,05$. La vaginosis bacteriana (VB) se relacionó significativamente con el daño neonatal ($p=0,02$), al igual que la presencia de *M. hominis* ($p=0,03$) y de *T. vaginalis* ($p=0,03$) en la sangre del cordón umbilical. Las complicaciones predominantes fueron el parto pretérmino, la rotura prematura de membrana (RPM), el bajo peso y un valor de Apgar ≤ 7 . No se asoció al daño neonatal la presencia de *U. urealyticum* ($p=0,35$) en el cordón umbilical, ni la de *Candida* spp. ($p=0,94$) o

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: beatrizperazzi@gmail.com (B.E. Perazzi).

KEYWORDS

Microbiological study;
Maternal genital tract;
Umbilical cord blood;
Neonatal damage

EGB ($p=0,18$) en el tracto genital de las madres. Dado que ciertas alteraciones en la microbiota del tracto genital materno se relacionaron con el daño neonatal, consideramos de fundamental importancia realizar el estudio microbiológico del contenido vaginal durante el embarazo, para prevenir posibles complicaciones maternas y perinatales.

© 2018 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Microbiological analysis of the maternal genital tract and umbilical cord blood and its association with neonatal damage

Abstract The etiology leading to neonatal damage is multifactorial, being genital infections one of the causes. The objective of the study was to identify microorganisms of the maternal genital tract that are associated with neonatal damage, in order to prevent future perinatal complications. Seven hundred and eleven pregnant patients attended their prenatal control during the period January 2010-July 2013. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* presence was investigated in umbilical cord blood by metabolic substrates (Micofast-Biomerieux) and that of *T. vaginalis*, by PCR using specific primers. The microbiological study of the vaginal contents of 288 pregnant patients at weeks 35 to 37 was performed by conventional methods, adding the modified thioglycolate culture for *T. vaginalis*. Group B streptococcus (GBS) was investigated in anorectal and vaginal introitus swabs, using selective broth enrichment and subsequent isolation in chromogenic medium. The χ^2 Yates test and Fisher's test were used for independent samples. A p value <0.05 was considered statistically significant. The pathogens significantly related to neonatal damage were *M. hominis* ($p=0.03$), *T. vaginalis* ($p=0.03$), and BV ($p=0.02$).

Main complications were preterm birth, premature rupture of membranes (PRM), low weight and Apgar score ≤ 7 . *U. urealyticum* ($p=0.35$), *Candida* spp. ($p=0.94$) and GBS ($p=0.18$) were not related to neonatal damage. Since different microorganisms of the maternal genital tract were related to neonatal damage, it is very important to perform the microbiological study of vaginal contents during pregnancy to prevent possible maternal and perinatal complications.

© 2018 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La embarazada puede sufrir numerosos desórdenes complejos, con afectación variable en el feto. La etiología de tales desórdenes es bien conocida en algunos casos, mientras que en otros aún permanece en estudio^{14,15}. Entre las diferentes condiciones de la embarazada que impactan en el crecimiento fetal se pueden mencionar una pobre o inadecuada nutrición¹⁷; el tabaquismo²⁴; el alcohol³⁰; la anemia¹⁹; la hipertensión arterial²²; la existencia de diabetes, asociada o no a la gestación³⁴; la obesidad²⁸; el síndrome metabólico y antifosfolípido; y los procesos infecciosos, como las infecciones del tracto genital inferior²⁰. Todas estas alteraciones modifican el ambiente en el que se desarrolla el feto y pueden generar alteraciones metabólicas, inmunitarias, vasculares, hemodinámicas o renales. Estas alteraciones pueden ser de manifestación temprana, durante la vida intrauterina, o bien pueden presentarse a largo plazo, en la vida adulta¹¹. Es así que diferentes enfermedades, entre ellas la pobre homeostasis de la glucosa, la insulinoresistencia, la diabetes tipo 2^{11,25}, el síndrome metabólico, la obesidad, la hipertensión arterial²², la osteoporosis⁷, la alteración cardiovascular, la deficiencia endotelial y la

enfermedad coronaria, pueden ser una consecuencia de esas alteraciones¹².

Dentro de todas estas patologías que pueden afectar el desarrollo fetal, se pueden mencionar los procesos infecciosos. Es bien conocida la relación entre dichos procesos y la aparición de complicaciones maternas y perinatales, tales como ruptura prematura de membrana (RPM), parto prematuro, riesgo de aborto espontáneo, enfermedad pélvica, retardo en el crecimiento intrauterino, corioamnionitis y bajo peso al nacer⁸.

Estudios realizados en Argentina y notificados por el Ministerio de Salud en 2013 indicaron que un 7,3% de los recién nacidos presentaron un peso menor de 2.500 g, y un 1,1%, menor de 1.500 g, y que la tasa de mortalidad fue de 10,8 por cada 1.000 nacidos vivos. En el 52,2% de esos casos de mortalidad el peso fue menor de 2.500 g, con variaciones según la región³. Asimismo, la frecuencia de parto pretérmino fue del 8,5% (considerando todos los partos) y representó el 52% de la mortalidad neonatal. Cabe aclarar, sin embargo, que del 23% de las defunciones infantiles se desconoce la edad gestacional al nacer⁶.

Estudios epidemiológicos a nivel mundial indican que el 11% de todos los nacidos vivos fueron prematuros en 2010,

y el parto pretérmino representó un factor de riesgo en más del 50% de todas las muertes neonatales⁵.

El objetivo de este trabajo fue identificar los microorganismos del tracto genital materno asociados con daño neonatal, a fin de prevenir complicaciones perinatológicas en futuras situaciones de embarazo.

Materiales y métodos

Población

Se estudiaron en forma consecutiva y prospectiva 711 embarazadas que concurrieron al consultorio externo de Obstetricia del Hospital de Clínicas de la UBA entre enero de 2010 y julio de 2013 para sus controles prenatales y que posteriormente, en el momento del parto, se internaron en esa misma institución, de modo que fue posible obtener muestras de cordón umbilical de sus correspondientes neonatos. Todas las pacientes otorgaron su consentimiento informado y el trabajo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital de Clínicas.

Las madres y los neonatos se clasificaron en patológicos y sanos, de acuerdo con los siguientes criterios:

- Madre con microbiota patológica: madre con infecciones del tracto genital (vaginosis bacteriana [VB], candidiasis, tricomonosis) y/o colonizada por estreptococos grupo B (EGB).
- Madre sana: madre con microbiota normal.
- Recién nacido patológico: recién nacido que presentó bajo peso al nacer (<2.500 g) o macrostomía fetal, parto pretérmino (<37 semanas), RPM, retardo en el crecimiento intrauterino, sufrimiento fetal (líquido meconial, oligoamnios, polihidramnios, malformaciones fetales, Apgar ≤ 7 , alteraciones circulatorias) y muerte.
- Recién nacido sano: recién nacido sin ninguna patología.

Estudio microbiológico del contenido vaginal materno

A todas las pacientes se les realizó examen clínico y toma de fondo de saco vaginal para estudio microbiológico por metodología convencional, que incluyó la determinación de pH y prueba de aminas del contenido vaginal³³. La detección de levaduras se realizó por observación en fresco con solución fisiológica (SF) y con KOH al 10% y por cultivo en agar Sabouraud y agar sangre. La investigación de *Trichomonas vaginalis* se realizó mediante la observación microscópica directa con SF, la coloración de May-Grunwald Giemsa prolongado y el cultivo en tioglicolato modificado³². El diagnóstico de VB se realizó utilizando el criterio de Nugent cuando el score fue ≥ 7 ²⁶ y el criterio de Amsel, es decir, la presencia de 3 o más de los siguientes criterios¹:

- Observación de *clue-cells* en la coloración de Gram (célula cubierta con bacilos cortos gram negativos y/o alteración de la morfología celular).
- pH $\geq 4,5$.
- Prueba de aminas positiva.
- Descarga vaginal fina y homogénea.

En el caso de las pacientes asintomáticas, el diagnóstico de VB se efectuó solamente utilizando el criterio de Nugent.

La investigación de EGB se realizó con hisopado anorrectal e hisopado de introito vaginal en la semana 35 a 37 del embarazo: ambos hisopos se sembraron en caldo Todd Hewitt, suplementado con colistina (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) y ácido nalidíxico (15 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Luego de 24 h de incubación a 37 °C se realizaron subcultivos en agar cromogénico, con posterior incubación a 37 °C en atmósfera de 5% de CO₂ durante 48 h. Las colonias compatibles con EGB se identificaron con las pruebas bioquímicas convencionales.

Estudio microbiológico del neonato (cordón umbilical)

- Detección de *T. vaginalis* por PCR con *primers* específicos para el gen ARNr18S³².
- Detección de *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* por utilización de sustratos metabólicos (urea para *U. urealyticum* y arginina para *M. hominis*) mediante método comercial (Micofast-Biomerieux).

Análisis estadístico

Se determinó la prevalencia de los microorganismos citados en sangre de cordón umbilical y en microbiota vaginal materna. Para la comparación de las prevalencias de los principales patógenos genitales y su relación con el daño neonatal, se utilizó el test de la χ^2 Yates y el test de Fisher para muestras independientes. Se consideraron significativos valores de $p \leq 0,05$.

Resultados

De las 711 embarazadas estudiadas, 297 (42%) tuvieron recién nacidos que sufrieron daño neonatal. Entre las causas que contribuyeron al daño neonatal se pueden mencionar diferentes patologías, únicas o asociadas; las más frecuentes fueron las de origen infeccioso, la diabetes y la hipertensión. Al relacionar el daño neonatal con una única patología materna, se observó que la etiología infecciosa, la diabetes y la hipertensión se asociaron en forma estadísticamente significativa con dicho daño ($p=0,01$; $p<0,0001$; $p=0,01$, respectivamente) (tabla 1).

En la tabla 2 se muestran las prevalencias de *U. urealyticum* y de *M. hominis* en el cordón umbilical de neonatos sanos y patológicos. Al relacionar la presencia de estos agentes con el daño neonatal se observaron diferencias estadísticamente significativas respecto de *M. hominis* entre los neonatos sanos y los patológicos ($p=0,03$), no así respecto de *U. urealyticum* ($p=0,35$). Cabe señalar que de los 13 casos de *M. hominis* asociados a daño neonatal, 11 se asociaron al mismo tiempo a *U. urealyticum* y 8 a VB.

Con respecto a la investigación de *T. vaginalis* por PCR en la sangre de cordón umbilical, se detectó material genético del parásito en solo un caso de las 12 muestras estudiadas de neonatos provenientes de madres con tricomonosis en el contenido vaginal.

Tabla 1 Relación entre patologías de embarazadas y daño neonatal

Patología materna única	RN patológicos		RN sanos		p
	n	%	n	%	
Infecciosa (n = 141)	62	20,9	79	19,1	0,01
Diabética (n = 47)	32	10,8	15	3,6	< 0,0001
Hipertensa (n = 25)	14	4,7	11	2,7	0,01
Otras patologías (n = 242)	189	63,6	53	12,8	—
Sin patología (n = 256)	—	—	256	61,8	—
Total (n = 711)	297	100	414	100	—

RN: recién nacidos.

Tabla 2 Relación entre la presencia de *Ureaplasma urealyticum* y de *Mycoplasma hominis* en sangre de cordón y el daño neonatal

	RN patológicos (n = 297)		RN sanos (n = 414)		p
	n	%	n	%	
<i>U. urealyticum</i> (n = 60)	29	9,8	31	7,5	0,35
<i>M. hominis</i> (n = 20)	13	4,4	7	1,7	0,03

RN: recién nacidos.

Se estudió la microbiota vaginal en 288 embarazadas con patología de base o sin esta. Se detectó *Candida* spp. en 76 (26,4%), VB en 57 (19,8%), EGB en 36 (12,5%) y *T. vaginalis* en 12 (4,2%).

En la [tabla 3](#) se muestran las prevalencias de VB, *Candida* spp., *T. vaginalis* y EGB en las madres de neonatos sanos y patológicos. Al relacionar estos datos con el daño neonatal se observaron diferencias estadísticamente significativas para la VB ($p = 0,02$) y la presencia de *T. vaginalis* ($p = 0,03$), mientras que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en relación con la presencia de *Candida* spp. ni de EGB ($p = 0,94$ y $0,18$, respectivamente).

De los 25 casos en los que se detectó VB en la madre y daño neonatal, 8 se asociaron con la presencia de *M. hominis* en el cordón. Otras condiciones asociadas en relación con las madres fueron presencia de *T. vaginalis* y colestasis (un caso), de *T. vaginalis* y diabetes (un caso), de diabetes gestacional (un caso), de hipertensión arterial (un caso) y de eclampsia (un caso). De los 7 casos en los que hubo tricomonosis y daño neonatal, otras condiciones asociadas fueron VB y colestasis (un caso), VB (un caso), diabetes gestacional y obesidad (un caso), y preeclampsia y lupus (un caso).

En la [tabla 4](#) se muestra la incidencia de los microorganismos o condiciones que estuvieron asociados a la existencia de daño neonatal dentro de las diferentes categorías de complicaciones maternas o neonatales registradas.

Discusión

En esta investigación, la patología infecciosa representó la causa de mayor prevalencia relacionada con el daño neonatal. Al respecto, Kiss et al.¹⁸ describieron una evaluación de estrategia de cribado en el segundo trimestre del embarazo mediante tinción de Gram para el diagnóstico de infección vaginal asintomática; dicha estrategia redujo el número de nacimientos prematuros. Esto demuestra que

resulta de fundamental importancia realizar la investigación de los estados vaginales básicos (EVB) para orientar al diagnóstico de la disfunción vaginal y, en función de aquellos, adicionar el estudio microbiológico de agentes específicos durante el embarazo, independientemente de la presencia de síntomas clínicos, con el fin de prevenir posibles complicaciones maternas y perinatales.³³

Tal como lo describieron Touzón et al.³³, la investigación de los estados vaginales básicos se recomienda como parte del control prenatal, ya que permite detectar la disfunción vaginal, como la asociada a los indicadores de VB (EVB III y IV). Sin embargo, es preciso adicionar el estudio microbiológico de agentes específicos en diferentes situaciones, como frente a un EVB V (microbiota alterada con reacción inflamatoria), así como el cultivo de tricomonas en pacientes asintomáticas con EVB I y el cultivo de levaduras en pacientes sintomáticas con EVB II, si ambos patógenos no fueron detectados por esa metodología.

De esta forma, la aplicación de dicha metodología se correspondería con la normativa ministerial, que sugiere la investigación de diferentes infecciones durante el embarazo. En lo que respecta a la vaginosis bacteriana en particular, la citada normativa sugiere la investigación en dos oportunidades, en el primer trimestre y en las semanas 35 a 37 de gestación, en las embarazadas sintomáticas con vulvovaginitis y en las asintomáticas con factores de riesgo (antecedentes de parto prematuro o recién nacido de bajo peso)².

Asimismo, la diabetes y la hipertensión se relacionaron con el daño neonatal, evidenciado como parto pretérmino. Resultados similares fueron descriptos por otros autores, que refieren la asociación de dichas patologías con partos prematuros.^{4,27}

En este estudio se detectó la presencia de *U. urealyticum* y de *M. hominis* en la sangre del cordón umbilical de los neonatos con algún grado de sufrimiento fetal, pero

Tabla 3 Relación entre las características de la microbiota vaginal materna y la presencia de daño neonatal

Microbiota materna	RN patológicos (n = 88)		RN sanos (n = 200)		p
	n	%	n	%	
Microbiota patológica (n = 181)					
VB (n = 57)	25	28,4	32	16,0	0,02
<i>T. vaginalis</i> (n = 12)	7	8,0	5	2,5	0,03
<i>Candida</i> spp. (n = 76)	23	26,1	53	26,5	0,94
EGB (n = 36)	15	17,0	21	10,5	0,18
Microbiota normal (n = 107)	18	20,5	89	44,5	—
Total (n = 288)	88	100	200	100	—

RN: recién nacidos; VB: vaginosis bacteriana.

Tabla 4 Complicaciones maternas y neonatales y distribución de hallazgos microbiológicos en el cordón y en las madres

	Tipo de complicación									
	PPT (n = 16)		Bajo peso (n = 13)		RPM (n = 12)		Apgar ≤ 7 (n = 10)		Otros signos (n = 25)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>M. hominis</i> (n = 13)	8	50	7	53,8	4	33,3	5	50	6	24
<i>T. vaginalis</i> (n = 7)	3	18,7	2	15,4	1	8,3	1	10	3	12
VB (n = 25)	5	31,3	4	30,8	7	58,4	4	40	16	64

PPT: parto pretérmino; RPM: ruptura prematura de membrana; VB: vaginosis bacteriana.

solo *M. hominis* mostró asociación con daño neonatal. Goldenberg et al.¹³ describieron la presencia de dichos microorganismos en el 23% de los cultivos de sangre de cordón de neonatos prematuros: el 12% correspondieron a *U. urealyticum*, el 5,9% a *M. hominis* y el 5,1% a ambos. También Egawa et al.¹⁰ reportaron la presencia de dichos microorganismos en sangre de cordón, asociados con casos de funisitis, en el 10,5% de los recién nacidos prematuros: el 4,7% correspondió a *U. urealyticum* y el 5,8% a *M. hominis*. En nuestro estudio, *M. hominis* se asoció principalmente a parto pretérmino y bajo peso.

El único caso en que se detectó material genético de *T. vaginalis* en sangre de cordón correspondió a una madre con tricomonosis que sufrió RPM, motivo por el cual podría explicarse la presencia del parásito en la sangre de cordón umbilical. Este hallazgo resulta de fundamental importancia teniendo en cuenta además que, según los resultados de este estudio, la tricomonosis se asoció con daño perinatólogico evidenciado como parto pretérmino y bajo peso. Estos resultados coinciden con los descritos por Silver et al.²⁹, quienes relacionaron la tricomonosis con parto pretérmino, RPM y bajo peso. Sin embargo, no existen en la literatura reportes en los que se haya investigado el parásito en la sangre de cordón umbilical.

Otra patología genital que en nuestro estudio se asoció con parto pretérmino y bajo peso al nacer fue la VB, en coincidencia con lo descrito por Leitch y Kiss²¹, quienes demostraron que esta entidad incrementó el riesgo de parto prematuro y bajo peso al nacer. Dichos autores informaron que la asociación de VB con *M. hominis* se relacionó con parto prematuro y bajo peso; del mismo modo, la presencia de *M. hominis* en ausencia de VB se

asoció con parto prematuro y bajo peso. Asimismo, Donders et al.⁹ describieron que tanto la VB como su asociación con *M. hominis* se relacionaron con parto pretérmino.

Por otra parte, la portación de EGB en nuestro estudio no se asoció con el daño neonatal, probablemente debido a que todas las madres portadoras recibieron profilaxis intraparto con ampicilina endovenosa. Esto concuerda con lo referido por Tapia et al.³¹, quienes describieron una baja prevalencia (<1%) de infección connatal por *Streptococcus agalactiae* en pacientes que no recibieron la profilaxis debido a que el estudio de portación previo resultó negativo. Asimismo, este microorganismo se ha descrito asociado a infecciones urinarias y, en menor medida, a infección intrauterina, como corioamnionitis, y a endometritis en el posparto²³.

Según los resultados obtenidos en esta investigación, la presencia de levaduras en el contenido vaginal tampoco se asoció con el daño neonatal, tal como lo describieron Yousif y Hussien³⁵, quienes detectaron estos microorganismos solo en madres con gestaciones mayores de 37 semanas. En la literatura se hace referencia a casos aislados de corioamnionitis ocasionados por *Candida* spp., tales como los descritos por Iwatani et al.¹⁶, quienes detectaron el microorganismo en placenta, membrana corioamniótica y cordón umbilical en recién nacidos prematuros.

Dado que diferentes condiciones del tracto genital materno (VB) y la presencia de microorganismos como *M. hominis* y *T. vaginalis* se relacionaron con daño neonatal, resulta de fundamental importancia realizar el estudio microbiológico del contenido vaginal durante el embarazo como parte del control prenatal. Ante el hallazgo de alguno de estos microorganismos debería discutirse la instauración de un tratamiento antibiótico en función del perfil de

microorganismos encontrados, a fin de prevenir posibles complicaciones maternas y perinatológicas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado con aporte del proyecto UBACyT 20020150200194BA de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, dirigido por la Dra. Beatriz E. Perazzi.

Bibliografía

1. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis: Diagnosis criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med.* 1983;74:14–22.
2. Asprea I, García O, Nigri C, Lipchak D, editores. Recomendaciones para la práctica del control preconcepcional prenatal y puerperal. 1.^a edición CABA: Ministerio de Salud de la Nación; 2013.
3. Aspres N, Bouzas L, Sepúlveda T, editores. Organización del seguimiento del recién nacido prematuro de alto riesgo. 1.^a edición CABA: Ministerio de Salud de la Nación; 2016.
4. Bener A, Saleh NM, al-Hamaq A. Prevalence of gestational diabetes and associated maternal and neonatal complications in a fast-developing community: Global comparisons. *Int J Womens Health.* 2011;3:367–73.
5. Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ, Chou D, Moller AB, Narwal R, Adler A, Vera Garcia C, Rohde S, Say L, Lawn JE. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: A systematic analysis and implications. *Lancet.* 2012;37:2162–72.
6. Cueto MJ, Nigri C, Bermúdez S, Crespo H, di Marco I, López G, García O, Martínez I, Peralta V, Seoane I, Asprea I, Palermo M, Valenti E, Voto L, editores. Amenaza de parto pretérmino, atención del parto pretérmino espontáneo y rotura prematura de membranas. 1.^a edición CABA: Ministerio de Salud de la Nación; 2015.
7. Dennison EM, Syddall HE, Sayer AA, Gilbody HJ, Cooper C. Birth weight and weight at 1 year are independent determinants of bone mass in the seventh decade: The Hertfordshire cohort study. *Pediatr Res.* 2005;57:582–6.
8. Donati L, di Vico A, Nucci M, Quagliozzi L, Spagnuolo T, Labianca A, Bracaglia M, Ianniello F, Caruso A, Paradisi G. Vaginal microbial flora and outcome of pregnancy. *Arch Gynecol Obstet.* 2010;281:589–90.
9. Donders GG, van Calsteren K, Bellen G, Reybrouck R, van den Bosch T, Riphagen I, van Lierde S. Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy. *BJOG.* 2009;116:1315–24.
10. Egawa T, Morioka I, Morisawa T, Yokoyama N, Nakao H, Ohashi M, Matsuo M. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* presence in umbilical cord is associated with pathogenesis of funisitis. *Kobe J Med Sci.* 2007;53:241–9.
11. Fernandez-Twinn DS, Ozanne SE. Mechanisms by which poor early growth programs type-2 diabetes, obesity and the metabolic syndrome. *Physiol Behav.* 2006;88:234–43.
12. Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N Engl J Med.* 2008;359:61–73.
13. Goldenberg RL, Andrews WW, Goepfert AR, Faye-Petersen O, Cliver SP, Carlo WA, Hauth JC. The Alabama Preterm Birth Study: Umbilical cord blood *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* cultures in very preterm newborn infants. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198:43–5.
14. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet.* 2008;371:75–84.
15. Goldenberg RL, Goepfert A, Ramsey PS. Biochemical markers for the prediction of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192:36–46.
16. Iwatani S, Mizobuchi M, Sofue T, Tanaka S, Sakai H, Yoshimoto S, Nakao H. Neonatal leukemoid reaction associated with *Candida albicans* chorioamnionitis. *Pediatr Int.* 2014;56:277–9.
17. King JC. The risk of maternal nutritional depletion and poor outcomes increases in early or closely spaced pregnancies. *J Nutr.* 2003;5:1732–6.
18. Kiss H, Petricevic L, Husslein P. Prospective randomised controlled trial of an infection screening programme to reduce the rate of preterm delivery. *BMJ.* 2004;329:371–5.
19. Kumar KJ, Asha N, Murthy DS, Sujatha M, Manjunath V. Maternal anemia in various trimesters and its effect on newborn weight and maturity: An observational study. *Int J Prev Med.* 2013;2:193–9.
20. Laudanski P, Pierzynski P, Laudanski T. Reductionist and system approaches to study the role of infection in preterm labor and delivery. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2007;7 Suppl 1:S9.
21. Leitch H, Kiss H. Asymptomatic bacterial vaginosis and intermediate flora as risk factors for adverse pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2007;21:375–90.
22. Li Y, Ley SH, VanderWeele TJ, Curhan GC, Rich-Edwards JW, Willett WC, Forman JP, Hu FB, Qi L. Joint association between birth weight at term and later life adherence to a healthy lifestyle with risk of hypertension: A prospective cohort study. *BMC Med.* 2015;13:175. <http://dx.doi.org/10.1186/s12916-015-0409-1>.
23. Lin FY, Brenner RA, Johnson YR, Azimi PH, Philips JB 3rd, Regan JA, Clark P, Weisman LE, Rhoads GG, Kong F, Clemens JD. The effectiveness of risk-based intrapartum chemoprophylaxis for the prevention of early-onset neonatal group B streptococcal disease. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;184:1204–10.
24. Miyake Y, Tanaka K, Arakawa M. Active and passive maternal smoking during pregnancy and birth outcomes: The Kyushu Okinawa Maternal and Child Health Study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2013;13:157–65.
25. Newsome CA, Shiell AW, Fall CHD, Phillips DIW, Shier R, Law CM. Is birthweight related to later glucose and insulin metabolism? — A systematic review. *Diabet Med.* 2003;20:339–48.
26. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991;29:279–301.
27. Ovalle A, Kakarieka E, Rencoret G, Fuentes A, del Rio MJ, Morong C, Benítez P. Risk factors for preterm deliveries in a public hospital. *Rev Med Chil.* 2012;140:19–29.
28. Radulescu L, Munteanu O, Popa F, Cirstoiu M. The implications and consequences of maternal obesity on fetal intrauterine growth restriction. *J Med Life.* 2013;6:292–8.
29. Silver BJ, Guy RJ, Kaldor JM, Jamil MS, Rumbold AR. *Trichomonas vaginalis* as a cause of perinatal morbidity: A systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Dis.* 2014;41:369–76.

30. Srikartika V, O'Leary C. Pregnancy outcomes of mothers with an alcohol-related diagnosis: A population-based cohort study for the period 1983-2007. BJOG. 2014;121:111-21.
31. Tapia JL, Reichhard CM, Saldías MI, Abarzúa F, Pérez ME, González A, Gederlini A. Sepsis neonatal en la era de profilaxis antimicrobiana prenatal. Rev Chil Infect. 2007;2:111-6.
32. Testardini P, Valet ML, Entrocassi AC, Menghi C, Eliseht MC, Gatta C, Losada M, Touzón MS, Corominas A, Vay C, Tatti S, Famiglietti A, Fermepin MR, Perazzi B. Optimization of *Trichomonas vaginalis* diagnosis during pregnancy at a University Hospital, Argentina. Korean J Parasitol. 2016;54:191-5.
33. Touzón MS, Losada M, Eliseht MC, Menghi C, Gatta C, Santa Cruz G, Malamud de Ruda Vega H, Vay C, Tatti S, Famiglietti A, Perazzi B. Evaluation of vaginal dysfunction in symptomatic and asymptomatic pregnant women by using the analysis of basic vaginal states (BVS) and its comparison with the conventional microbiological study. Rev Argent Microbiol. 2014;46:182-7.
34. Yanit KE, Snowden JM, Cheng YW, Caughey AB. The impact of chronic hypertension and pregestational diabetes on pregnancy outcomes. Am J Obstet Gynecol. 2012;207:333-9.
35. Yousif E, Hussien S. *Candida* vulvovaginitis in pregnancy. Fac Med Baghdad. 2010;52:183-5.