
Validación de suplementos dietéticos basados en probióticos, vitaminas y minerales como tratamiento para la Vulvovaginitis Recurrente

Modalidad **DISEÑO DE INTERVENCIÓN**

Trabajo Final de Máster
Máster Universitario de Nutrición y Salud

Autor/a: Rosa Sánchez García
Tutor/a del TFM: Juan Miguel Díaz Tocados

2º Semestre 2024



Esta obra está bajo una licencia de Reconocimiento-No Comercial-Sin Obra Derivada

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/deed.es>)

Índice

Resumen	2
Abstract	3
1. Introducción	4
1.1. Vulvovaginitis: Definición, epidemiología y tratamiento	4
1.2. Microbiota Vaginal y Vulvovaginitis: Definición y factores relacionados	6
1.3. Terapias alternativas para el tratamiento de la vulvovaginitis: Probióticos basados en Lactobacillus	7
1.4. Hacia nuevos tratamientos: Un suplemento alimenticio completo	9
2. Objetivos	10
3. Metodología	11
3.1. Diseño de la investigación	11
3.2. Población diana y de estudio	11
3.2.1. Criterios de inclusión y exclusión para los Grupos Experimentales	11
3.2.2. Criterios de inclusión y exclusión para el Grupo Control	12
3.3. Cálculo del tamaño muestral	12
3.4. Método de muestreo	13
3.5. Descripción de la intervención	14
3.6. Descripción de las mediciones	14
3.6.1. WP1: Determinación de la microbiota en el flujo vaginal	16
3.6.2. WP2: Seguimiento clínico de la vulvovaginitis recurrente	17
3.6.3. WP3: Estudio de la salud nutricional	19
3.6.4. WP4: Análisis metabolómico del flujo vaginal y screening de moléculas diana	20
3.7. Estrategia de análisis estadístico	21
3.7. Cronograma	22
3.8. Recursos necesarios y presupuesto	23
3.9. Consideraciones éticas	24
4. Plan de evaluación de la intervención	25
5. Aplicabilidad de la intervención	27
6. Conclusiones	29
7. Bibliografía	30
8. Anexos	37
ANEXO I	37
ANEXO II	39
ANEXO III	41
ANEXO IV	42
ANEXO V	44

Resumen

La vulvovaginitis afecta a 3 de cada 4 mujeres al menos una vez en la vida, siendo la candidiasis y la vaginosis bacteriana las causas más comunes. Los tratamientos actuales, principalmente antibacterianos y antifúngicos, suelen ser ineficaces, siendo frecuentes las recidivas. Numerosos artículos remarcan la necesidad de buscar terapias alternativas, destacando los probióticos como un recurso prometedor para mejorar la salud de la microbiota vaginal y prevenir infecciones. Además, estudios recientes sugieren una conexión entre deficiencias vitamínicas y riesgo incrementado de vulvovaginitis. Dada la implicación clave de la dieta y la microbiota en la prevención de la vulvovaginitis, este TFM propone un diseño de Ensayo Clínico Aleatorizado para evaluar la eficacia de suplementos dietéticos basados en probióticos y micronutrientes para el tratamiento de la vulvovaginitis recurrente. El objetivo es determinar si la intervención dietética con probióticos y/o vitaminas mejora la salud vaginal. Para ello, se estudiarán cuatro grupos: Grupo 1 (control): mujeres sanas (sin vulvovaginitis en el último año); Grupo 2: vulvovaginitis recurrente + suplemento probiótico; Grupo 3: vulvovaginitis recurrente + suplemento multivitamínico; Grupo 4: vulvovaginitis recurrente + suplemento probiótico y multivitamínico. Se analizarán el perfil nutricional, los cambios en la microbiota y el metaboloma vaginal, y la incidencia de recurrencias. Este estudio es el primero en evaluar un suplemento dietético multivitamínico como posible tratamiento para la vulvovaginitis, fomentando futuras investigaciones en la relación entre nutrición, microbiota y salud vaginal. Además, tiene el potencial de desarrollar una patente para una crema basada en los metabolitos identificados para prevenir las recidivas.

Palabras clave

Vulvovaginitis recurrente; Candidiasis Vulvovaginal; Vaginosis Bacteriana; Microbioma vaginal; Probióticos; Suplementos multivitamínicos

Abstract

Vulvovaginitis affects at least of 3 out of 4 women once in the lifetime, with candidiasis and bacterial vaginosis being the most common causes. Current treatments, mainly antibacterial and antifungal, are often ineffective, with frequent recurrences. Numerous studies highlight the need for alternative therapies, emphasizing probiotics as a promising resource to improve vaginal microbiota health and prevent infections. Recent research also suggests a link between vitamin deficiencies and an increased risk of vulvovaginitis. Given the key involvement of diet and microbiota in preventing vulvovaginitis, this thesis proposes a Randomized Clinical Trial design to evaluate the efficacy of dietary supplements based on probiotics and micronutrients for the treatment of recurrent vulvovaginitis. The objective is to determine if dietary intervention with probiotics and/or vitamins improves vaginal health. Four groups will be studied: Group 1 (control): healthy women (no vulvovaginitis in the last year); Group 2: recurrent vulvovaginitis + probiotic supplement; Group 3: recurrent vulvovaginitis + multivitamin supplement; and Group 4: recurrent vulvovaginitis + probiotic and multivitamin supplementation. Nutritional profiles, changes in the vaginal microbiota and metabolome, and recurrence incidence will be analyzed. This study is the first evaluating dietary multivitamin supplementation as a possible treatment for vulvovaginitis, encouraging future research on the relationship between nutrition, microbiota, and vaginal health. Additionally, it has the potential to develop a patent for an ointment based on the identified metabolites to prevent recurrences.

Key words

Recurrent vulvovaginitis; Candidiasis, Vulvovaginal; Vaginosis, Bacterial; Vaginal microbiome; Probiotics; Multivitamin supplements.

1. Introducción

1.1. Vulvovaginitis: Definición, epidemiología y tratamiento

La vulvovaginitis se caracteriza por una inflamación que afecta tanto a la mucosa vaginal como a la piel vulvar, o a ambas. (1) Esta dolencia constituye la razón principal por la que las mujeres buscan atención ginecológica, suponiendo alrededor de 10 millones de visitas anuales. (2) En cuanto a su etiología, aunque puede tener un origen irritativo o alérgico, generalmente la vulvovaginitis responde a una causa infecciosa, siendo la Candidiasis Vulvovaginal (CVV) y la Vaginosis Bacteriana (VB) las más frecuentes. (3,4)

La CVV, causada principalmente por *Candida albicans*, representa un desafío significativo para la salud femenina debido a su alta prevalencia y propensión a la recurrencia. (5) En un estudio realizado en 2013 por Betsy Foxman et al. (6), que abarcó 5 países europeos y Estados Unidos, su prevalencia osciló entre el 29% y el 49%. Además, aproximadamente el 9% reportó haber experimentado cuatro o más infecciones en un año, lo que se define como CVV recurrente. En 2022, se documentaron alrededor de 153.060 casos en España, lo que representó un aumento de más del 10% en comparación con el año anterior. (7) Por otro lado, la VB es considerada un síndrome polimicrobiano en el que se produce una colonización vaginal de bacterias patógenas de diferentes géneros como *Gardnerella*, *Atopobium*, *Prevotella* o *Sneathia*. (8) Al igual que ocurre con la CVV, su prevalencia y recurrencia (tres o más episodios anuales) es alta, pero no ha sido determinada de manera precisa. En las **Figuras 1 y 2** se muestran los datos más próximos a la carga global.

Prevalencia y Recurrencia Global de la CVV

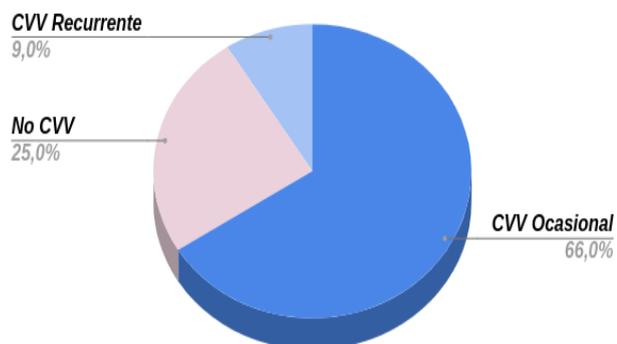


Figura 1. Gráfico circular 3D. Fuentes: Revisión Sistemática de Denning et al. (9)

Prevalencia y Recurrencia Global de la VB

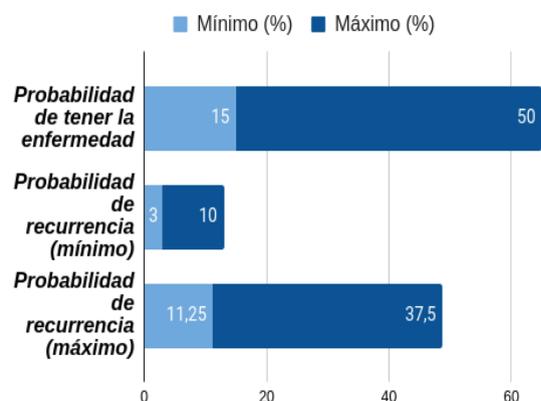


Figura 2. Gráfico de barras apiladas. Fuentes: Peebles et al. (10) y Bradshaw et al. (11)

Bajo este contexto, cabe destacar que ambas vulvovaginitis, principalmente cuando son recurrentes, provocan un fuerte impacto tanto físico como emocional en las mujeres y sus parejas, afectando a su calidad de vida. (12) La clínica acompañante y los factores de riesgo para su desarrollo (**Imagen 1**) son determinantes en este sentido. Específicamente, la secreción anormal de flujo influye negativamente en la autoimagen, afectando la autoestima y la salud sexual de estas mujeres. (13)

En cuanto a factores predisponentes para el desarrollo de CVV, cabe señalar las alteraciones del microbioma vaginal y algunos determinantes exógenos, (14,15) como una diabetes mellitus mal controlada, (16) el uso de antibióticos de amplio espectro, (17) los niveles elevados de estrógenos, (18) y ciertas enfermedades inmunodepresoras como el VIH. (19) Mientras tanto, la recurrencia de la VB se asocia con determinadas prácticas sexuales, como tener tres o más parejas sexuales masculinas, haber tenido una pareja sexual femenina en el último año o introducir un nuevo compañero sexual en el último mes tener un posparto reciente, fumar y/o usar productos de higiene intravaginal o realizar duchas vaginales. (20,21) Además, recientemente se ha evidenciado un posible mayor riesgo de VB en mujeres que padecen sobrepeso y/o carencias de determinados micronutrientes. (22,23)

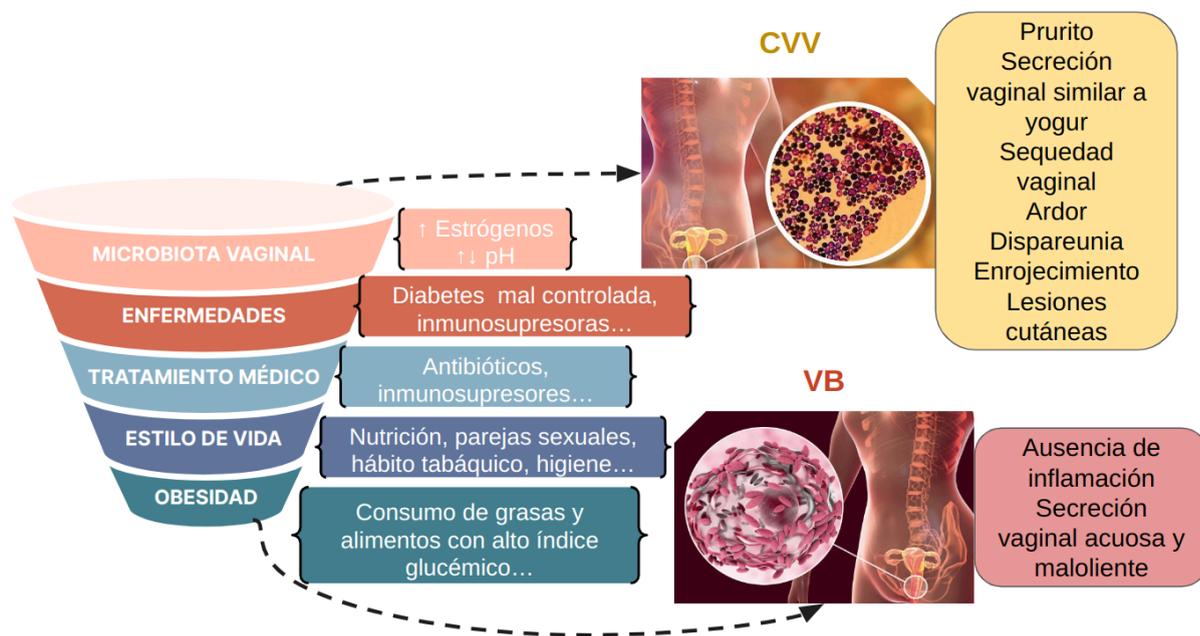


Imagen 1. Factores de riesgo y sintomatología asociada a la vulvovaginitis

Por otro lado, destacar que la VB se asocia con mayores niveles de estrés en las mujeres que la padecen, especialmente en las embarazadas. (24,25) Probablemente esto se deba a que, durante la gestación, la VB se asocia a un aumento del riesgo de complicaciones obstétricas, como infecciones amnióticas, parto pretérmino y rotura prematura de membranas. (26–28) Asimismo, *Sneathia spp.* se ha asociado con casos

de neumonía congénita, sepsis neonatal e incluso muerte fetal. (29,30) Además, no solo supone resultados perinatales desfavorables sino que también se relaciona con un aumento del riesgo de contraer infecciones del tracto urinario, (31) enfermedades de transmisión sexual, (32) enfermedad inflamatoria pélvica, endometritis e infertilidad. (33) Igualmente, se ha relacionado con la persistencia y gravedad de la carcinogénesis cervical e, incluso, se han reportado casos de peritonitis posoperatoria potencialmente mortal causada por *Gardnerella Vaginalis* y *Atopobium Vaginae*. (34–36)

Todos estos datos muestran que tanto la CVV como la VB son problemas de salud significativos, con una alta probabilidad de recurrencia, que afectan a la calidad de vida de las mujeres y que pueden suponer complicaciones importantes para la salud. Desafortunadamente, los tratamientos actuales no siempre resultan eficaces debido a la capacidad de las bacterias y los hongos de desarrollar resistencia a los antibióticos y antifúngicos mediante la formación de biopelículas o adquiriendo modificaciones génicas. (37,38) Además, los antibióticos destinados al tratamiento de la VB pueden conllevar una alteración de la microbiota vaginal (disbiosis), incrementando el riesgo de recurrencia de CVV. (39)

1.2. Microbiota Vaginal y Vulvovaginitis: Definición y factores relacionados

Actualmente, la disbiosis es considerada como el eje fundamental de la fisiopatología de las infecciones vulvovaginales. En condiciones eubióticas, la microbiota vaginal está compuesta mayoritariamente por bacterias del género *Lactobacillus Spp*. (40) No obstante, el microbioma es único y dinámico en cada mujer, cambiando debido a factores como la dieta, el estilo de vida, la genética y la edad. (41–45) Aunque hay poca comprensión sobre cómo la nutrición puede impactar la estabilidad vaginal, los resultados de investigaciones en otros órganos del cuerpo, como los estudios sobre el microambiente intestinal, han revelado el papel clave de la dieta en la composición y función de la microbiota, así como la conexión entre las alteraciones de la microbiota intestinal y los trastornos inmunológicos. (46) Además, se ha observado que el intestino sirve como un reservorio tanto para *Lactobacillus* como para bacterias asociadas con la VB, que pueden alcanzar el tracto genital. (47)

Asimismo, los estudios realizados por Neggers et al. (48) y Tohill et al. (49) han proporcionado la primera evidencia crítica sobre el impacto de la nutrición subóptima en las infecciones vulvovaginales. Neggers et al. (48) encontraron que un consumo elevado de grasas estaba relacionado con un mayor riesgo de VB mientras que por el contrario, un aumento de vitaminas A y B9 y calcio podría disminuir este riesgo. De manera similar, Tohill et al. (49) demostraron que niveles séricos más bajos de

vitaminas A, C y E, así como de β -caroteno, estaban asociados con la VB, mientras que niveles bajos de hierro se relacionaban con una mayor prevalencia de CVV. Más recientemente, otros estudios han revelado que la ingesta adecuada de determinados micronutrientes como la betaína, (50) la vitamina D, (51) o la vitamina B9, (52) así como un mayor consumo de fibra, (53) podrían disminuir el riesgo de VB y sus secuelas, destacando la necesidad de llevar a cabo nuevos estudios de calidad que apoyen estas premisas. De igual modo, una dieta con bajo índice glucémico también se relaciona con una disminución del riesgo de VB. (23) Además, cabe señalar que las mujeres con sobrepeso u obesidad tienen una mayor incidencia de VB, (22) lo cual podría estar también relacionado con diferencias en la alimentación y/o metabólicas.

Por otro lado, tal y como se ha mencionado anteriormente, el estilo de vida también influye en la microbiota vaginal. Importantemente, el estrés crónico podría alterar la composición del microbioma debido a la desregulación del sistema inmunológico que acompaña esta patología, así como a los niveles elevados de cortisol, resultando en menor glucógeno vaginal, disminución de *Lactobacillus*, pH vaginal elevado y mayor respuesta proinflamatoria. (54)

Además, el microbioma está influenciado por las fluctuaciones hormonales a lo largo de la vida de la mujer, sobre todo por la variación en los niveles de estrógenos. (55,56) Durante la edad fértil es cuando mayor es el riesgo de desarrollar infecciones vulvovaginales, ya que los niveles hormonales favorecen un mayor trofismo del epitelio vaginal, generando un ambiente propicio para la proliferación de microorganismos patógenos oportunistas cuando se desequilibra el pH. (57,58) Todos estos hallazgos resaltan la importancia de mantener una microbiota vaginal equilibrada, destacando el papel clave de la nutrición en la prevención y manejo de las vulvovaginitis.

1.3. Terapias alternativas para el tratamiento de la vulvovaginitis: Probióticos basados en *Lactobacillus*

Como se ha mencionado anteriormente, los microorganismos que principalmente componen la microbiota vaginal son del género *Lactobacillus* y desempeñan una función esencial en el equilibrio del microambiente vaginal mediante diversos mecanismos. Se ha observado que los *Lactobacillus* bloquean los receptores epiteliales de los hongos y compiten con ellos por los nutrientes disponibles. (59) Además, durante muchos años se creía que la producción de peróxido de hidrógeno era crucial para su acción antimicrobiana, pero investigaciones recientes sugieren que el ácido láctico es el principal agente protector, siendo capaz de mantener el pH vaginal en rangos óptimos de acidez (3,5-4,5). (60-62)

En cambio, durante el embarazo se ha evidenciado que el aumento en los niveles de progesterona también reduce el pH vaginal, pero en este caso se crea un entorno propicio para el crecimiento excesivo de hongos. (63) Esta contradicción sobre la relación entre la acidificación del pH y la protección frente las infecciones vaginales podría sugerir que otros factores producidos por el género *Lactobacillus* deben ser beneficiosos, por lo que probablemente existan otros mecanismos protectores frente la vulvovaginitis aún desconocidos. Esta paradoja subraya la necesidad de explorar más a fondo los mecanismos de acción de los *Lactobacillus* mediante técnicas avanzadas como el análisis metabolómico, ya que este enfoque podría permitir la identificación de metabolitos beneficiosos producidos por estas bacterias que servirían para desarrollar estrategias terapéuticas más precisas y personalizadas.

Por otro lado, también se ha observado que favorecen la producción de citoquinas, entre las que destacan Interleucina-8 y β -defensina 2 y 3 humana, que fortalecen la respuesta inmune. (64) Además, resulta importante señalar que el nivel de protección proporcionado al microambiente vaginal varía según la especie de *Lactobacillus* predominante. *Lactobacillus crispatus* (*L. crispatus*), *L. gasseri* y *L. jensenii* son los principales microorganismos que se relacionan con estado de eubiosis (equilibrio). (57,65) Principalmente, *L. crispatus*, por su mayor capacidad para producir ácido D- y L-láctico, se asocia con una estabilidad de la comunidad vaginal, lo que conduce a una menor probabilidad de transitar hacia la disbiosis y una prevención de infecciones vulvovaginales. En cambio, *L. iners* generalmente se relaciona con la disbiosis, siendo menos estable y más susceptible a las alteraciones del microbioma vaginal. (66,67)

En los últimos años, se han realizado algunos estudios con pacientes en este sentido. En 2009, Mastromarino et al. (68) observaron que el tratamiento con *Lactobacillus* intravaginales es efectivo para restaurar la microbiota vaginal saludable y disminuir la VB. Más tarde, en 2015, el estudio de Pendharkar et al. (69) mostró que el uso combinado de antifúngicos y antibióticos con cápsulas vaginales de *Lactobacillus* resultaba más eficaz que el empleo únicamente del tratamiento vía oral. En 2017, el grupo de Wang et al. (70) observó que *L. crispatus* exhibía una actividad antimicrobiana significativa contra *Candida albicans*. De igual modo, en 2019, Li et al. (71) demostraron que *L. crispatus* y *L. delbrueckii* exhiben actividad inhibitoria contra *Candida albicans*. Además de estos estudios, existen numerosas revisiones sistemáticas y metaanálisis que sugieren que los suplementos basados en *Lactobacillus* podrían ser considerados como potenciales terapias para el tratamiento de las vulvovaginitis, especialmente en pacientes que presentan recurrencias por

ineficacia del tratamiento de primera línea. No obstante, resaltan la necesidad de realizar estudios con mayor rigor científico. (72–77)

1.4. Hacia nuevos tratamientos: Un suplemento alimenticio completo

En base a los estudios mencionados previamente, el suplemento de la dieta con probióticos para mantener la salud vaginal podría ofrecer beneficios adicionales a través del denominado “eje intestino-vagina”; sin embargo, no hay suficiente evidencia clínica de calidad que respalde esta idea. (78) Particularmente, se ha demostrado la existencia de una interacción entre la microbiota intestinal y la vaginal, de tal manera que mantener el equilibrio de la microbiota intestinal parece ser importante para la salud vaginal. (79) En modelos animales, se ha observado que ratones con una disbiosis vaginal muestran alteraciones similares en el intestino, mientras que el tratamiento con *L. plantarum* y *Bifidobacterium longum* previno estas disbiosis. (80)

Otro ejemplo es el caso de la VB recurrente causada por la recolonización de la vagina con microorganismos desde el recto, en la que se ha observado que la incidencia de la VB es inferior cuando *Lactobacillus spp.* domina tanto la vagina como el recto. (81,82) Además, es importante destacar que la ingesta de probióticos resulta en una modificación de las poblaciones microbiológicas en la vagina en mujeres asintomáticas, (83) demostrando su capacidad para alcanzar el tejido vaginal. Otros estudios han demostrado que la ingesta de probióticos, (84–87) inclusive la de yogures que los contienen, (88,89) puede resultar eficaz.

Considerando todos estos hallazgos y dada la alta prevalencia de la vulvovaginitis y su tendencia a la recurrencia por la ineffectividad de los tratamientos actuales, así como las consecuencias significativas en términos de morbilidad, es evidente la necesidad de buscar nuevos tratamientos. Por ello, este TFM propone llevar a cabo un Ensayo Clínico Aleatorizado (ECA) para evaluar la eficiencia de la suplementación dietética como tratamiento para la vulvovaginitis recurrente, utilizando tres tipos de suplementos: uno que contiene probióticos, otro que contiene vitaminas y minerales, y un tercero que combina ambos. Se realizará un estudio exhaustivo de la microbiota y el metaboloma vaginal, la salud nutricional y la sintomatología de la mujer. Este enfoque permitirá profundizar acerca de los mecanismos a través de los cuales la dieta y la microbiota local contribuyen a la salud vulvovaginal. Además, cabe señalar que, este es el primer estudio en el que se considera un suplemento multivitamínico como posible tratamiento para la vulvovaginitis.

2. Objetivos

Objetivo general: Analizar la eficacia de suplementos dietéticos basados en probióticos y/o vitaminas y minerales en la prevención de recidivas en mujeres en edad reproductiva con vulvovaginitis recurrente.

Objetivos específicos:

- Analizar la microbiota vaginal de mujeres con CVV y/o VB recurrente durante la intervención, mediante determinación de la taxonomía microbiana en el flujo vaginal de los tres Grupos de Intervención, así como en el Grupo Control.
- Comparar la microbiota vaginal, el patrón dietético y el estado nutricional de mujeres sanas en relación a mujeres con vulvovaginitis recurrente.
- Registrar las recidivas, la sintomatología clínica y el estado nutricional de las mujeres con vulvovaginitis recurrente, a fin de explorar de forma exhaustiva el papel de la nutrición en el mantenimiento de la salud vulvovaginal.
- Realizar un análisis de los metabolitos bacterianos para profundizar en la identificación de moléculas con potenciales efectos beneficiosos para prevenir la vulvovaginitis.

Así, nos proponemos abordar las siguientes interrogantes de investigación:

- En mujeres en edad reproductiva con CVV y/o VB recurrente, ¿cuál de los siguientes suplementos dietéticos es más eficaz para promover un microbioma vaginal saludable: probióticos, multivitamínicos, o una combinación de ambos?
- ¿Un estado nutricional saludable predispone un microbioma vaginal saludable y genera determinados metabolitos que reducen el riesgo de vulvovaginitis?
- En mujeres en edad reproductiva con vulvovaginitis recurrente, ¿cuál es el suplemento dietético más eficaz para reducir la recurrencia de infecciones a largo plazo: probióticos, multivitamínicos, o una combinación de ambos?
- En mujeres en edad reproductiva con CVV y/o VB recurrente, ¿cuál de los siguientes suplementos dietéticos es más eficaz para mejorar la sintomatología clínica durante una recidiva: probióticos, multivitamínicos, o una combinación de ambos?
- En mujeres en edad reproductiva con vulvovaginitis recurrente, ¿cuál de los siguientes suplementos dietéticos genera metabolitos desconocidos hasta ahora que podrían prevenir recurrencias: probióticos, multivitamínicos, o una combinación de ambos?

3. Metodología

3.1. Diseño de la investigación

El diseño propuesto para el estudio es experimental, específicamente un Ensayo Clínico Aleatorizado (ECA), longitudinal, prospectivo, controlado, con triple ciego y con mediciones realizadas a lo largo de la intervención. Por ello, para garantizar la calidad en la redacción del estudio, este diseño de intervención se llevará a cabo de acuerdo a lo establecido en la guía de comprobación CONSORT. (90)

3.2. Población diana y de estudio

La población diana estará constituida por mujeres de edades comprendidas entre los 20 y los 40 años que padezcan CVV y/o VB recurrente. La población de nuestro estudio estará conformada por aquellas que cumplan estos criterios y pertenezcan a algún centro de salud de la Dirección Asistencial Este de la Comunidad de Madrid. La selección se realizará durante los meses de septiembre a noviembre de 2025, considerando los criterios de inclusión y exclusión establecidos (**Tablas 1 y 2**).

Además, contaremos con un Grupo Control que estará compuesto por mujeres sanas sin vulvovaginitis durante el último año y que no presenten factores de riesgo significativos para estas condiciones. La inclusión del Grupo Control tiene como objetivo obtener información de referencia sobre la microbiota vaginal y el metaboloma en condiciones saludables, permitiendo comparaciones efectivas con los Grupos de Intervención, así como un estudio del perfil nutricional exhaustivo.

3.2.1. Criterios de inclusión y exclusión para los Grupos Experimentales

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Ser mujer entre 20 y 40 años	Existir barreras idiomáticas limitantes
Adscrita a algún centro de salud de la Dirección Asistencial Este de la Comunidad de Madrid	No asistir a alguna de las mediciones
Padecer vulvovaginitis recurrente (≥ 4 episodios anuales de CVV y/o ≥ 3 episodios anuales de VB)	Falta de adherencia al tratamiento
Aceptar las condiciones del estudio y firmar el consentimiento informado	Presentar diabetes mellitus mal controlada
	Padecer enfermedades inmunodepresoras como el VIH o estar en terapia con antibióticos, corticosteroides, quimioterapia, antiangiogénicos o inmunosupresores
	Higiene inadecuada (duchas vaginales o usar productos)
	Estar en periodo de gestación

Tabla 1. Criterios de inclusión y exclusión para los Grupos Experimentales

3.2.2. Criterios de inclusión y exclusión para el Grupo Control

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Ser mujer entre 20 y 40 años	Existir barreras idiomáticas limitantes
Adscrita al Centro de Salud Aquitania de la Dirección Asistencial Este de la Comunidad de Madrid	Haber padecido durante el último año CVV y/o VB
Aceptar las condiciones del estudio y firmar el consentimiento informado	Presentar diabetes mellitus mal controlada
	Padecer enfermedades inmunodepresoras como el VIH o estar en terapia con antibióticos, corticosteroides, quimioterapia, agentes antiangiogénicos o inmunosupresores
	Higiene inadecuada (duchas vaginales o usar productos)
	Estar en periodo de gestación

Tabla 2. Criterios de inclusión y exclusión para el Grupo Control

3.3. Cálculo del tamaño muestral

Aunque investigaciones previas proporcionan datos valiosos sobre los cambios en la microbiota vaginal, no especifican la variabilidad de estos cambios (medida a través de la desviación estándar) en la diversidad microbiana. Esta información es crucial para realizar cálculos precisos del tamaño muestral necesario para detectar diferencias estadísticamente significativas en nuestro estudio. En este contexto, un estudio que examinó la variabilidad de la microbiota vaginal asociada a diferentes métodos de parto demostró cómo la aplicación de análisis estadísticos robustos y la especificación de la desviación estándar pueden proporcionar percepciones valiosas para la configuración adecuada de estudios clínicos. (91)

Por ello, dado que no contamos con una desviación estándar directamente aplicable a nuestro caso, resulta necesario implementar un estudio piloto que garantice la precisión y relevancia de nuestros resultados. El estudio piloto tendrá como objetivo principal estimar la desviación estándar de la diversidad microbiana en respuesta a la intervención con probióticos de un número pequeño pero representativo de mujeres antes y después de la administración de probióticos durante un período corto. Esto nos permitirá calcular el tamaño muestral con mayor precisión, optimizando los recursos y mejorando la fiabilidad de los resultados del estudio principal. Además, los hallazgos de este estudio no solo serán útiles para el diseño del estudio principal, sino que también contribuirán a la literatura científica existente, proporcionando estimaciones de variabilidad más precisas para futuras investigaciones sobre microbiota vaginal.

3.4. Método de muestreo

Para el proceso de selección de participantes (**Figura 3**), se empleará un muestreo no probabilístico consecutivo multicéntrico en los centros de salud de la Dirección Asistencial Este de Madrid. La matrona investigadora elaborará una lista de mujeres que cumplan con los criterios de inclusión según sus historias clínicas. Posteriormente, se comunicará con ellas por teléfono para confirmar que no presentan ninguno de los criterios de exclusión, explicarles el estudio e invitarlas a participar hasta alcanzar el tamaño muestral previsto. Se considerarán incluidas en el estudio tras asistir al Centro de Salud Aquitania y firmar el Consentimiento Informado (ANEXO I).

Tras firmar el consentimiento, un/a colaborador/a externo/a al estudio, asignará a las pacientes de manera individual y aleatoria a uno de los tres Grupos de Intervención en una proporción de 1:1:1 mediante función informática generadora de números aleatorios implementada por el estadístico. Tras esto, en función del grupo asignado, proporcionará los suplementos dietéticos a las participantes: Grupo 2 (probiótico), Grupo 3 (multivitamínico) o Grupo 4 (combinado de probiótico y multivitamínico). De esta manera, se mantendrá el triple ciego, ya que la matrona investigadora y las participantes desconocerán el tratamiento recibido. Estos aspectos estarán claramente detallados en el consentimiento informado. En cuanto al Grupo Control, las mujeres sin vulvovaginitis serán captadas en la consulta de la matrona investigadora, quien les ofrecerá participar en el estudio cuando acudan a su cribado de rutina y les proporcionará el consentimiento informado (ANEXO II) para su conocimiento y aprobación.

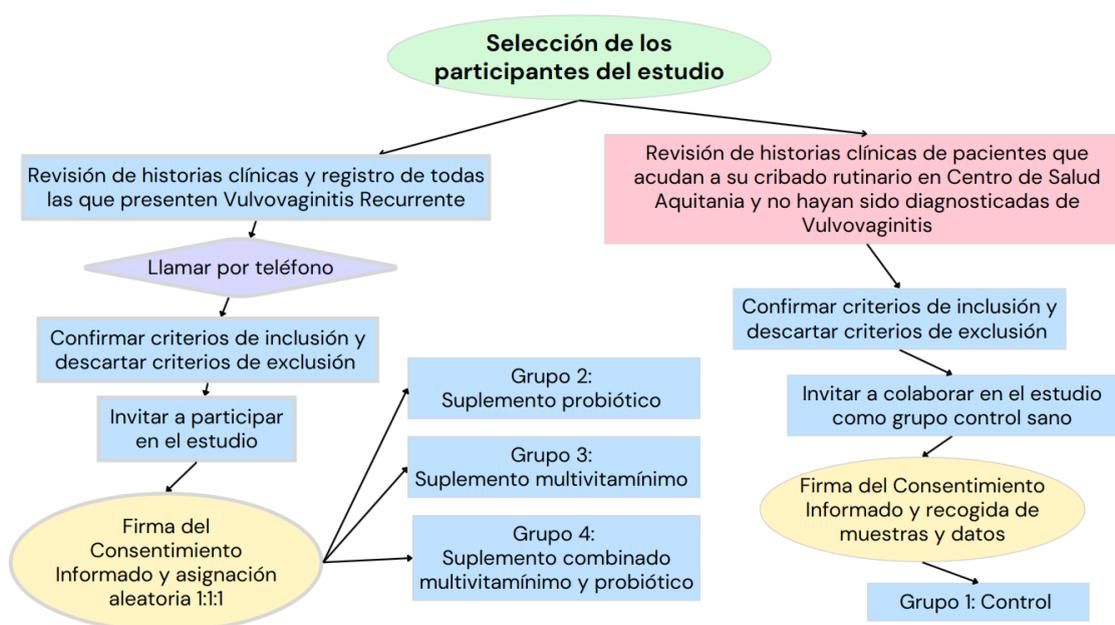


Figura 3. Workflow representativo del proceso de captación de los sujetos del estudio

3.5. Descripción de la intervención

Durante el período comprendido entre noviembre de 2025 y 2026, se llevará a cabo la intervención, con una recolección de datos al inicio y a los 3, 6 y 12 meses para monitorear la evolución de las mujeres a corto y largo plazo. Las participantes, asignadas al azar, que formen parte del Grupo 2 recibirán un suplemento dietético probiótico, las del Grupo 3 uno multivitamínico y las incluidas en el Grupo 4 tomarán un suplemento combinado probiótico y multivitamínico. Este tratamiento se mantendrá durante un año, ingiriendo el suplemento de forma diaria.

El suplemento probiótico contendrá 10 mil millones de Unidades Formadoras de Colonias por cada una de las siguientes cepas: *L. crispatus*, *L. rhamnosus*, *L. jensenii*, *L. plantarum*, *L. delbrueckii*, *L. gasseri* y *Bifidobacterium longum*. El suplemento multivitamínico estará basado en vitaminas A, B9, C, D y E, así como hierro y calcio. Por su parte, el suplemento combinado será una mezcla de ambos, integrando tanto las cepas probióticas como los nutrientes del suplemento multivitamínico. La empresa Hivital (Barcelona, España), en régimen de colaboración, desarrollará los suplementos específicamente para el estudio considerando la Ingesta de Referencia de Nutrientes del Comité Científico de 2019 de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (**Tabla 3**). (92)

Información nutricional por dosis diaria (1 comprimido)	
Vitamina A	650 µg
Vitamina B9	330 µg
Vitamina C	75 mg
Vitamina D	12,5 µg
Vitamina E	11 mg
Hierro	18 mg
Calcio	950 mg

Tabla 3. Información nutricional de la base multivitamínica en los suplementos

3.6. Descripción de las mediciones

La medición se llevará a cabo a lo largo de los doce meses de la intervención, con una periodicidad trimestral al inicio y semestral posteriormente (3, 6 y 12 meses), incluyendo una recogida de muestras y datos a tiempo basal (pre-tratamiento). El estudio se llevará a cabo de manera monocéntrica, en el Centro de Salud Aquitania,

Calle Aquitania, 22, en el distrito de San Blas de la Comunidad de Madrid. Debido a su área geográfica, está adscrito a la Dirección Asistencial Este del Servicio Madrileño de Salud, encargada de coordinar la gestión de dicho centro. El Equipo de Atención Primaria con el que cuenta se compone de médicos de familia, enfermería, pediatras, fisioterapeutas, trabajadores sociales, odontólogos y matronas. (93) Será en este caso la matrona investigadora quien lleve a cabo las mediciones del estudio.

Para garantizar que los datos recolectados sean precisos, consistentes y estén organizados de manera eficiente, se contratará a un/a data manager, cuya presencia ha sido considerada en el presupuesto. La matrona investigadora, encargada de recoger las muestras que posteriormente serán analizadas, ya enfrenta una carga sustancial en el estudio. Por lo tanto, delegar la responsabilidad de la gestión de datos alivia parte de esta carga, permitiendo que la matrona se concentre plenamente en las tareas críticas de recolección de muestras y atención sanitaria directa, optimizando así nuestros recursos y mejorando la calidad y la fiabilidad de nuestros hallazgos.

En el caso del Grupo Control, únicamente se hará una recogida de muestras. El día que acudan a su cribado de rutina, se recogerá un exudado vaginal, muestras de heces que, en caso necesario, podrán entregar en otro momento y se extraerá sangre para un análisis bioquímico y almacenamiento de plasma/suero a -80°C para posteriores determinaciones. Además, tendrán que cumplimentar un cuestionario nutricional que será detallado posteriormente, así como responder a algunas preguntas para que el/la data manager cumplimente la Hoja de Registro correspondiente (ANEXO III).

Así pues, con la periodicidad mencionada anteriormente, los Grupos de Intervención deberán acudir al Centro de Salud Aquitania para la obtención de muestras de exudado vaginal, heces y sangre, además de completar dos cuestionarios en la primera visita y uno en las siguientes. El cuestionario que únicamente se cumplimentará en la primera visita tiene como objetivo recopilar el patrón dietético de las mujeres, mientras que el cuestionario que se completará en cada consulta será autoadministrado (ANEXO IV) y constará de 27 ítems, recopilando parámetros relacionados con los factores de riesgo para el desarrollo de CVV y VB, diagnósticos recientes de CVV y/o VB, así como sintomatología relacionada con estas recurrencias.

Las muestras recogidas serán analizadas por un equipo de laboratorio que contará con todos los recursos humanos y materiales necesarios, así como con compañías especializadas para el procesamiento y análisis de las muestras biológicas. Los

resultados obtenidos serán enviados por correo electrónico a la data manager, quien cumplimentará la Hoja de Registro (ANEXO V).

Para abordar cada uno de los objetivos planteados, se desarrollarán cuatro work packages (WP). El primero se centrará en analizar la composición del microbioma vaginal después de la administración de los suplementos dietéticos. El segundo investigará la eficacia de la suplementación dietética para prevenir recurrencias y mejorar la sintomatología en mujeres con vulvovaginitis recurrente. El tercer paquete se enfocará en explorar la posible relación entre un estado nutricional saludable y la reducción o mejora de la vulvovaginitis. Por último, el cuarto se dedicará a identificar metabolitos en el flujo vaginal que se asocien con la prevención de la vulvovaginitis para estudiar su potencial terapéutico en el tratamiento de las infecciones vaginales.

3.6.1. WP1: Determinación de la microbiota en el flujo vaginal

En cada consulta, la matrona investigadora tomará muestras de exudado vaginal con un hisopo estéril y las almacenará en ultracongeladores a -80°C para su posterior análisis del microbioma y el metaboloma, incluidas las realizadas al Grupo Control sano. También se recogerán muestras de heces que serán almacenadas en el biobanco para investigaciones futuras.

Posteriormente, las muestras de exudado vaginal se enviarán a un laboratorio externo en régimen de colaboración, la plataforma CIBER-IBIMA-Metagenomics en Málaga (España), el cual tiene amplia experiencia en el procesamiento y análisis de las poblaciones microbianas. En esta plataforma, se llevará a cabo el aislamiento de ácidos nucleicos (ADN) y la amplificación del ARN ribosómico (ARNr) 16S. Después, se elaborarán las librerías y finalmente se realizará la secuenciación de la librería usando Ion Torrent™ Ion S5™ System (ThermoFisher Scientific) para determinar la composición de la microbiota en el microambiente vulvovaginal, así como la diversidad. (94)

Actualmente, la secuenciación del gen 16S ARNr es el método más utilizado para analizar la composición de la microbiota. Esta tecnología ha facilitado numerosos descubrimientos relacionados con la importancia de la microbiota para la salud y la enfermedad del huésped. (95) Este se emplea debido a su alta conservación y su utilidad como marcador genético para analizar la composición bacteriana ya que permite identificar taxonómicamente las bacterias presentes en las muestras comparando las secuencias obtenidas con bases de datos de referencia. (96)

Además de la secuenciación del ARNr 16S, cabe destacar que en futuras investigaciones se considerará la ampliación del estudio para incluir análisis del viroma, microbioma y genoma, mediante shotgun. (97) Sin embargo, en esta etapa inicial, dado que no es necesario para llevar a cabo el objetivo principal del estudio (determinar si el tratamiento alcanza la mucosa vulvovaginal y previene recurrencias), no se llevará a cabo debido al aumento significativo de los costes.

Tras el análisis, los especialistas bioinformáticos llevarán a cabo el estudio de los datos generados, clasificarán la microbiota vaginal en los distintos grupos estudiados e identificarán los Tipos de Estado Comunitario (CST). (98,99) Para ello, se utilizará la base de datos EzBioCloud 16S, la cual permitirá identificar la taxonomía y la diversidad bacteriana presente en las muestras. (100) La clasificación CST se llevará a cabo según los patrones de composición bacteriana observados, donde se destacan los siguientes CSTs: (57,99,101)

- CST I: Dominado por *L. crispatus*
- CST II: Dominado por *L. gasseri*
- CST III: Dominado por *L. iners*
- CST IV: Diversidad bacteriana aumentada, incluyendo especies anaeróbicas estrictas como *Prevotella*, *Gardnerella*, asociado comúnmente con VB.
- CST V: Dominado por *L. jensenii*

Cabe señalar que, en general, los CST I, II y V se correlacionan más frecuentemente con la salud, mientras que el predominio de CST IV puede indicar de forma más frecuente disbiosis, y es comúnmente observado en casos de VB. (102) Por ello, será esencial clasificar la microbiota de las participantes de nuestro estudio y ver cómo varía a lo largo de la intervención. La primera muestra se tomará al inicio del estudio, antes de comenzar el tratamiento, y servirá como referencia basal (*baseline*). Esto nos permitirá establecer un punto de comparación inicial para evaluar los cambios en la microbiota vaginal inducidos por los diferentes tratamientos administrados durante el estudio, proporcionando una visión detallada de cómo cada tratamiento influye en la salud vaginal.

3.6.2. WP2: Seguimiento clínico de la vulvovaginitis recurrente

Para evaluar la efectividad del suplemento dietético a nivel clínico, será fundamental registrar las recurrencias de CVV o VB que presenten las participantes del estudio. Para ello, el cuestionario autoadministrado que tendrán que cumplimentar las mujeres contará con un apartado en el que se registran las recurrencias. Para verificar estas, el día de la medición, las participantes tendrán que traer un informe validado por un

microbiólogo. De todos estos detalles quedará constancia en el Consentimiento Informado (ANEXO I). Además, se aprovechará la recogida de exudado vaginal en consulta para descartar posteriormente en el laboratorio que la participante tuviera infección en ese momento.

Para el diagnóstico de VB se utilizarán dos métodos estandarizados: los criterios de Amsel y la puntuación de Nugent. Los criterios de Amsel se emplean para el diagnóstico clínico, donde se requieren al menos tres de las cuatro características siguientes para confirmar la presencia de VB: flujo vaginal homogéneo similar a la leche, aumento del pH vaginal superior a 4,5, olor a pescado y observación de Clue cells o células clave (células epiteliales vaginales cubiertas de bacterias) mediante microscopía. (103) Por contra, la puntuación de Nugent se basa en un análisis cuantitativo de los morfotipos de bacterias presentes en el flujo vaginal, detectadas mediante tinción de Gram. (104) Este enfoque de laboratorio utiliza una escala numérica donde se consideran normales las puntuaciones de 0 a 3, indicando una dominancia de bacilos Gram-positivos (principalmente *Lactobacillus spp.*), intermedias de 4 a 6, al indicar una mezcla de morfotipos, y diagnóstico de VB las puntuaciones de 7 a 10, caracterizadas por la ausencia de *Lactobacillus* y la predominancia de cocobacilos Gram-negativos. (105) Mientras tanto, en relación al diagnóstico de CVV, se empleará el cultivo microbiológico específico, ya que este continúa siendo considerado como el gold standard. (106,107)

Por otro lado, garantía de la efectividad del tratamiento, será también constatar a nivel clínico una mejora de la sintomatología asociada a las posibles vulvovaginitis que padezcan las participantes a lo largo del estudio. Para ello, el cuestionario autoadministrado (ANEXO IV) cuenta con preguntas en relación a los signos y síntomas que de forma más frecuente padecen las mujeres afectadas por CVV y VB y que han sido mencionados en el marco teórico del estudio.

A la hora de elaborar este apartado del cuestionario, se ha empleado el Cuestionario de Síntomas Vulvovaginales (VSQ). Este es un formulario compuesto por 21 preguntas utilizado en ámbitos médicos e investigativos para evaluar los síntomas vulvovaginales en mujeres que presentan una variedad de condiciones ginecológicas, incluyendo CVV, VB, vulvodinia, atrofia vaginal y otras afecciones inflamatorias o infecciosas (como dermatitis vulvar o liquen escleroso). (85,108–112) Las primeras siete preguntas están diseñadas para abordar una variedad de síntomas vulvovaginales y las cuatro siguientes los aspectos emocionales, de tal manera que se obtenga información detallada sobre la gravedad, frecuencia y duración de los síntomas, así como su

influencia en la vida diaria y social (preguntas de la 12 a la 17) y en la función sexual (últimas cuatro preguntas). Respecto a su consistencia, este cuestionario mostró una moderada fiabilidad test-retest con un valor por encima de 0,41. (108)

Por último, en cuanto a este work package, cabe destacar que en el cuestionario han sido consideradas variables sociodemográficas que podrían actuar como posibles factores de riesgo de cara al desarrollo de CVV y VB, a fin de poder detectar asociaciones que representen posibles sesgos de confusión o que puedan aportar nuevo conocimiento acerca de la etiología de las vulvovaginitis.

3.6.3. WP3: Estudio de la salud nutricional

En cuanto al papel de la nutrición en el mantenimiento de la salud vulvovaginal, se espera que el uso de estos suplementos dietéticos aporte un nuevo entendimiento sobre la influencia de la nutrición en la salud vaginal. Especialmente, destaca el potencial de la combinación de suplementos multivitamínicos y probióticos, cuyos efectos en el tratamiento de la vulvovaginitis y la prevención de recurrencias no han sido previamente investigados, hasta nuestro conocimiento. Por ello, las mujeres tendrán que cumplimentar en la primera consulta otro cuestionario que estará destinado a registrar los patrones dietéticos de las pacientes, con el objetivo de profundizar en la investigación y explorar posibles asociaciones, tanto positivas como negativas, con respecto a la relación entre la nutrición y la salud vaginal. Este cuestionario también será cumplimentado por las mujeres del Grupo Control sin vulvovaginitis.

Este registro de ingestas será el Cuestionario de Frecuencia Alimentaria (FFQ) Block Brief 2000, que ya ha sido empleado anteriormente en estudios sobre vulvovaginitis. (53) Este breve cuestionario requiere entre 15 y 20 minutos para completarse y está diseñado para clasificar a los individuos según la distribución de la ingesta dietética de nutrientes. La selección de alimentos para este estudio se basó en la información recopilada en el cuestionario dietético de NHANES III, mientras que los valores nutricionales provienen de la base de datos del USDA para referencia estándar. Solicita a los participantes que estimen su consumo de alimentos específicos durante un año y proporciona estimaciones de la ingesta diaria promedio de micronutrientes y macronutrientes. (113)

Asimismo, en la consulta, la matrona pesará a las mujeres (además de medirlas en la consulta inicial), a fin de determinar el Índice de Masa Corporal (IMC), (114) y realizará un análisis de sangre en el que se contemplará el perfil nutricional de las mujeres

concretamente respecto a los niveles de vitaminas A, B9, C, D y E, así como de hierro y calcio. También incluirá un panel de bioquímica básica, un hemograma completo y la Proteína C Reactiva, útiles para futuras investigaciones. Este análisis será realizado también a las mujeres del Grupo Control para comparar posteriormente los resultados con los Grupos de Intervención.

Después de extraer la sangre, la muestra se procesará para separar el suero o plasma. Tras esto, se analizará mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para determinar los niveles de vitamina A, B9, C y E. (115,116) Este método es muy sensible y específico para detectar los niveles de retinol, indicador principal del estado de vitamina A en el cuerpo (117), así como para medir tocoferoles y tocotrienoles, proporcionando una medida detallada del estado de vitamina E. (117,118) Por otro lado, la vitamina D se determinará mediante cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS), el calcio mediante espectrometría de absorción atómica (AAS) y el hierro mediante quimioluminiscencia. (119–121)

3.6.4. WP4: Análisis metabolómico del flujo vaginal y screening de moléculas diana

Por último, se llevará a cabo un análisis de los metabolitos presentes en el flujo vaginal con la finalidad de identificar moléculas con potencial terapéutico para el tratamiento de la vulvovaginitis. Para ello, las muestras de exudado vaginal se enviarán a un servicio externo (Metabolon Inc. Carolina del Norte, EEUU), que determinará la huella química caracterizada por las moléculas producidas durante la actividad metabólica de las distintas bacterias (metabolitos) en el flujo vaginal de los grupos estudiados. (122) Posteriormente, se realizarán estudios *in vitro* para validar los efectos directos de las moléculas diana sobre la inhibición de las infecciones en cultivos primarios de células epiteliales vaginales obtenidas de la American Type Culture Collection (ATCC, Virginia, EEUU), así como su perfil de seguridad, incluyendo estudios de dosis-respuesta. (123)

Cabe destacar que el estudio detallado de los metabolitos presentes en las muestras de las mujeres pertenecientes al Grupo Control será fundamental para establecer una línea base de los metabolitos presentes en el flujo vaginal de mujeres sin vulvovaginitis. Comparar estos perfiles con los de los Grupos de Intervención permitirá identificar variaciones metabólicas que podrían asociarse con una mayor o menor recurrencia de vulvovaginitis.

3.7. Estrategia de análisis estadístico

Los datos recogidos se registrarán de manera anonimizada por el/la data manager en una base de datos codificada utilizando Microsoft Excel, asegurando el cegamiento del estadístico. Se realizarán pruebas de normalidad y, según los resultados, se empleará ANOVA de un factor o Test de Kruskal-Wallis para comparar las variables cuantitativas entre los diferentes Grupos de Intervención (**Tabla 4**) al estudiar más de dos grupos (según el tratamiento recibido). Las variables categóricas se analizarán usando la prueba Chi-cuadrado de Pearson o el Test Exacto de Fisher. Los análisis se realizarán con el software estadístico SPSS v.24 (IBM, SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU), utilizando un intervalo de confianza del 95% y considerando estadísticamente significativo cualquier resultado con un valor de $p < 0.05$.

Variables sociodemográficas		Variables de la investigación			
		Variables dependientes		Variables independientes	
Edad	Cuantitativa discreta (años)	CST	Cualitativa categórica (I, II y V indican salud vaginal; III posible disbiosis; IV disbiosis)	Intervención recibida	Cualitativa dicotómica (suplemento multivitamínico; suplemento combinado)
Estrógenos	Cualitativa dicotómica (sí; no)	Recurrencia de CVV	Cuantitativa discreta (diagnósticos de CVV)		
Hábito tabáquico	Cualitativa dicotómica (sí; no)	Recurrencia de VB	Cuantitativa discreta (diagnósticos de VB)		
>1 compañero sexual	Cualitativa dicotómica (sí; no)	Puntuación VSQ	Cuantitativa discreta ordinal (0 menor gravedad - 21 máxima)		
Raza negra	Cualitativa dicotómica (sí; no)	Estado nutricional	Cualitativa categórica (recuento de micronutrientes en exceso; rango saludable; déficit)		
IMC	Cuantitativa continua (kg/m ²)				

Tabla 4. Variables del estudio, así como los diferentes valores que pueden tomar

3.7. Cronograma

	1 ^{er} trimestre	2 ^o trimestre	3 ^{er} trimestre	4 ^o trimestre	5 ^o trimestre	6 ^o trimestre
Selección de las participantes del estudio						
Reclutamiento de pacientes	■	■	■			
WP1: Determinación de la microbiota en el flujo vaginal						
Recolección de muestras		■	■	■		■
Análisis de laboratorio		■	■	■	■	■
WP2: Seguimiento clínico de la vulvovaginitis recurrente						
Recolección de cuestionarios		■	■	■		■
Monitoreo de VB y CVV		■	■	■		■
WP3: Estudio de la salud nutricional						
Registro del cuestionario		■				
Monitoreo del IMC		■	■	■		■
Análisis bioquímicos suero/plasma		■	■	■		■
WP4: Análisis metabolómico del flujo vaginal						
Análisis metabolómico			■	■		■
Estudios <i>in vitro</i>			■	■		■
Análisis de datos, comunicación y diseminación de los resultados						
Evaluación e interpretación de datos			■	■	■	■
Diseminación de resultados			■	■	■	■

3.8. Recursos necesarios y presupuesto

El equipo investigador en este diseño de intervención estará compuesto por la responsable del proyecto, la matrona Dña. Rosa Sánchez García; un/a profesional sanitario/a externa al estudio, encargada de la asignación aleatoria de las mujeres a los Grupos de Intervención y la entrega de los suplementos, y un/a data manager responsable de recoger y procesar los datos derivados del estudio mediante las Hojas de Registro (ANEXO III y IV). Los suplementos serán desarrollados en colaboración con Hivital (Barcelona, España). Para llevar a cabo la secuenciación del microbioma y el análisis metabolómico, enviaremos las muestras a empresas especializadas: CIBER-IBIMA-Metagenomics platform, Málaga y Metabolon Inc., respectivamente. El estudio estadístico y bioinformático estará a cargo de la unidad de apoyo de nuestro centro. El presupuesto pormenorizado se detalla a continuación en la **Tabla 5**:

Recursos humanos	Recursos materiales
Data manager.....35.000€	<p>Material fungible</p> <p>Hisopos estériles, guantes, gasas, etc.....850€ Kits de diagnóstico.....1500€ Puntas de pipeta, micropipeta, etc.....600€ Plásticos (tubos 1,5 mL, tubos 10 mL, duquesitas)..600€ Material de microscopía (portas, cubres, kits tinciones específicas, etc).....500€ Material de oficina y papelería..... 300€</p> <p>Servicios internos</p> <p>Bioinformática y estadística (procesamiento y análisis de datos (20 horas).....560€</p> <p>Servicios externos</p> <p>Procesamiento muestras y secuenciación 16S ARNr (132€/ud).....19.800€ Análisis metabolómica (120€/ud)..... 18.000€</p> <p>Asistencia a congresos</p> <p>Inscripciones, viajes, alojamiento.....3.000€</p> <p>Publicación de artículos</p> <p>Tasas de publicación.....6.000€</p>
Costes indirectos (15%).....	13.007€
Subtotal	86.710€
Total	99717€

Tabla 5. Presupuesto pormenorizado

3.9. Consideraciones éticas

El presente estudio cumple con los principios éticos fundamentales para la investigación con seres humanos, garantizando un enfoque ético integral en todas las fases del estudio. Un aspecto crucial es el consentimiento informado, asegurando que todas las participantes reciban información detallada sobre los objetivos, procedimientos, beneficios potenciales y riesgos asociados con el estudio. Los consentimientos (ANEXO I y II) han sido realizados en un lenguaje claro y accesible. Además, las participantes podrán hacer preguntas antes de otorgar su consentimiento y serán informadas de su derecho a retirarse del estudio en cualquier momento sin consecuencias negativas para su atención médica futura.

En términos de privacidad y confidencialidad, se implementarán medidas estrictas para proteger la identidad de las participantes y la seguridad de sus datos personales. Toda la información recolectada será codificada y almacenada en sistemas seguros con acceso restringido sólo al personal autorizado. Además, se establecerán protocolos claros para el manejo y la divulgación de los resultados del estudio, asegurando que los datos de las participantes no sean identificables en ningún informe o publicación.

Cabe destacar que la intervención no conlleva ningún riesgo para las pacientes; sin embargo, cualquier incidente o efecto adverso que la paciente refiera, será registrado. Se establecerá un procedimiento claro para su manejo y notificación, incluyendo la asistencia inmediata y la evaluación del incidente por parte de la junta de revisión ética. Estos protocolos subrayan nuestro compromiso con la conducta ética en la investigación y el respeto por los derechos y el bienestar de todas las participantes.

De igual modo, se solicitará autorización por escrito al Gerente / Comité de Ética de la Gerencia de Atención Primaria del Servicio Madrileño de Salud y se garantizará en todo momento el respeto de los preceptos éticos fundamentales:

- Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, Octubre 2013. (124)
- Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales. (125)
- Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica. (126)
- Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica. (127)

4. Plan de evaluación de la intervención

A continuación, se presenta una tabla elaborada para abordar el plan de evaluación de la intervención. La **Tabla 6** resume los principales indicadores utilizados en la evaluación del proceso, destinados a medir la eficacia de la implementación de la intervención. Además, se incluyen los indicadores empleados para evaluar los resultados inmediatos de la intervención, así como aquellos que miden el impacto a largo plazo en la vida de las participantes y en la gestión de la salud pública.

	Indicador	Descripción	Método de medición
EVALUACIÓN DE PROCESO	Adherencia al estudio	Porcentaje de participantes que mantienen adherencia al tratamiento y acuden a las mediciones	Registro de asistencia las sesiones de medición y de la adherencia al tratamiento
	Satisfacción de las participantes	Evaluación de la satisfacción general con la intervención	Encuestas de satisfacción administradas al final del estudio
	Calidad del estudio	Fidelidad de la implementación e integridad procesal	Evaluaciones periódicas realizadas por observadores externos
EVALUACIÓN DE RESULTADOS	Cambios en la microbiota vaginal	Diferencias en la composición de la microbiota vaginal	Análisis de secuenciación de muestras de exudado vaginal, en laboratorios de análisis microbiológico
	Reducción de síntomas	Cambios en las puntuaciones de síntomas de vulvovaginitis	Cuestionarios de síntomas VSQ administrados antes, durante y después de la intervención
	Incidencia de recurrencias	Número de episodios recurrentes durante el estudio	Registro de eventos clínicos reportados durante el seguimiento
EVALUACIÓN DEL IMPACTO	Mejoras en la calidad de vida	Evaluación de cambios en la calidad de vida relacionada con la salud	Cuestionarios de calidad de vida VSQ administrados antes, durante y después de la intervención
	Reducción en la carga económica	Disminución de los costos de tratamiento y atención médica para la vulvovaginitis	Análisis de costos basado en el uso de servicios de salud, mediante registros financieros y médicos
	Cambio en conocimiento y comportamiento	Cambios relacionados con la prevención de la vulvovaginitis	Pre y post-tests sobre conocimientos y comportamientos saludables

Tabla 6. Evaluación de Proceso, Resultados e Impacto

Además, dada la importancia de contar con un plan de contingencia para manejar los posibles problemas que pueden surgir durante la implementación del ECA, hemos desarrollado un plan de contingencia estructurado para asegurar la adaptabilidad y continuidad del estudio ante contratiempos inesperados.

1. Problema: Baja adherencia al tratamiento

a. Estrategia de mitigación:

- i. Incrementar la frecuencia y claridad de las comunicaciones con los participantes para reforzar la importancia de la adherencia para la validez del estudio.
- ii. Implementar recordatorios automáticos vía mensajes de texto al móvil o emails que motiven a los participantes a tomar su suplemento diariamente.
- iii. Ofrecer sesiones de soporte o consultas para abordar preocupaciones o dudas de los participantes respecto al suplemento.

2. Problema: Pérdida de seguimiento de participantes

a. Estrategia de mitigación:

- i. Establecer un sistema de seguimiento regular, como llamadas telefónicas o visitas domiciliarias, especialmente para participantes con riesgo de baja adherencia.
- ii. Permitir mayor flexibilidad en el horario de las visitas de seguimiento para acomodar las necesidades de los participantes.

3. Problema: Variabilidad en la calidad de los datos recogidos

a. Estrategia de mitigación:

- i. Asegurar que todo el personal del estudio reciba capacitación exhaustiva sobre los protocolos de recogida de datos.
- ii. Implementar auditorías periódicas de los datos recolectados para identificar y corregir errores de forma proactiva.
- iii. Establecer claros estándares de calidad y revisarlos regularmente con el equipo para garantizar la consistencia en la recogida de datos.

4. Problema: Cambios en la condición de salud de los participantes
 - a. Estrategia de mitigación:
 - i. Desarrollar un protocolo claro para la derivación de participantes a servicios médicos apropiados si su condición lo requiere.
 - ii. Mantener una documentación detallada de cualquier cambio en la salud de los participantes para analizar posibles efectos relacionados con el suplemento.

5. Problema: Escasez de fondos o recursos
 - a. Estrategia de mitigación:
 - i. Asegurar una planificación financiera robusta desde el inicio, con presupuestos detallados y contingencias claras.
 - ii. Identificar y solicitar fondos adicionales de fuentes alternativas en caso de ser necesario.
 - iii. Evaluar regularmente el uso de recursos y ajustar los procesos para maximizar la eficiencia sin comprometer la calidad.

5. Aplicabilidad de la intervención

El estudio realizado sobre la eficacia de suplementos dietéticos basados en probióticos y/o micronutrientes para el tratamiento y prevención de la vulvovaginitis recurrente aporta valiosas implicaciones tanto a nivel clínico como social. Los resultados de este estudio pueden no solo mejorar la comprensión de la enfermedad, sino también influir positivamente en la calidad de vida de millones de mujeres afectadas de vulvovaginitis en el mundo. Además, es importante destacar que, aunque existen estudios que demuestran la asociación entre dieta y vulvovaginitis, este es el primer estudio en el que se emplea un multivitamínico como posible tratamiento para las vulvovaginitis.

La intervención diseñada tiene el potencial de reducir significativamente la incidencia y recurrencia de la vulvovaginitis, una condición que afecta a 3 de cada 4 mujeres al menos una vez en la vida a nivel mundial. Al ofrecer una alternativa a los tratamientos convencionales, que a menudo son insuficientes y presentan tasas de recurrencia elevadas, este estudio propone una solución que podría mejorar el bienestar general de las pacientes, disminuir el estrés psicológico y los costos asociados con tratamientos repetidos y visitas médicas frecuentes.

Además, al integrar el estudio de la microbiota vaginal y los patrones dietéticos, el proyecto proporciona una base para futuras investigaciones sobre la interacción entre

la nutrición, la salud vaginal y el bienestar general. Este nuevo conocimiento es esencial para desarrollar estrategias personalizadas de manejo y prevención de la vulvovaginitis.

Es importante señalar que la investigación se alinea con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) 3 y 5 de las Naciones Unidas. (128) En relación al ODS 3, sobre Salud y Bienestar, el estudio contribuye a mejorar la comprensión y el tratamiento de la vulvovaginitis, lo que directamente promueve el bienestar y la salud, reduciendo la carga de enfermedades comunes en mujeres. En cuanto al ODS 5, acerca de Igualdad de Género, este estudio se centra en una condición de salud que afecta principalmente a las mujeres, con el objetivo de mejorar la salud reproductiva y sexual de las mismas, permitiéndoles una mayor participación en la sociedad sin el estigma o la carga de condiciones crónicas o recurrentes.

Por otro lado, esta intervención promoverá la integración de los hallazgos del estudio en las políticas de salud pública, especialmente en programas destinados a la salud femenina y reproductiva. Los resultados de este estudio buscan incluir nuevas recomendaciones en las guías de Ginecología para el manejo de la vulvovaginitis, valorando el tratamiento con suplementos basados en probióticos y/o multivitamínicos.

Asimismo, este estudio tiene el potencial de desarrollar campañas educativas sobre la importancia de la nutrición y la microbiota en la salud vaginal, dirigidas a profesionales de la salud, a pacientes y a la población general, promoviendo un enfoque del tratamiento más holístico y preventivo, con un impacto positivo en la sociedad.

Igualmente, se pretende fomentar la investigación continua en el campo de la nutrición y su relación con diferentes condiciones de salud, ampliando el enfoque a otros trastornos relacionados con los desequilibrios microbiológicos. Este estudio no solo tiene el potencial de cambiar paradigmas en el tratamiento y la percepción de la vulvovaginitis, sino también de servir como modelo para abordar otras condiciones de salud desde una perspectiva integradora que considera la nutrición y la microbiología como elementos centrales de la salud y el bienestar.

De igual modo, se pretende alentar el desarrollo de nuevos suplementos nutricionales específicamente adaptados para la prevención y tratamiento de la vulvovaginitis y condiciones similares. Este estudio proporcionará una comprensión más profunda del entorno vaginal de mujeres en edad reproductiva, ayudándonos a identificar asociaciones entre la alimentación, la composición bacteriana y la concentración de metabolitos en el ambiente vaginal.

De manera innovadora, la identificación de nuevas moléculas para el tratamiento de la vulvovaginitis a través del estudio del metaboloma vaginal podría dar lugar al desarrollo de una crema basada en estos compuestos para el tratamiento tópico de la vulvovaginitis infecciosa. Esto alentaría la realización de nuevos ensayos clínicos para su evaluación, así como el registro de patentes para proteger la propiedad intelectual. Finalmente, se redactará un artículo científico para comunicar nuestros hallazgos y compartirlos con la comunidad científica, así como seminarios, folletos y vídeos divulgativos para informar a la sociedad en general.

6. Conclusiones

Este estudio presenta un diseño meticuloso para un ECA que evalúa la eficacia de suplementos dietéticos basados en probióticos y/o micronutrientes en el tratamiento de la vulvovaginitis y la prevención de sus recidivas. Considerando el potencial de esta intervención dietética para favorecer un equilibrio microbiano, se propone como una alternativa eficaz a los tratamientos convencionales que a menudo resultan ineficaces.

Además, la investigación permitirá aclarar la relación entre los patrones dietéticos, el estado nutricional y la salud vaginal, destacando las diferencias significativas entre mujeres sanas y aquellas con vulvovaginitis recurrente. Estos hallazgos podrían revelar cómo ciertos hábitos alimenticios y niveles de nutrientes específicos influyen en la prevalencia y severidad de la vulvovaginitis, proporcionando información valiosa para futuras recomendaciones dietéticas y estrategias de prevención. Igualmente, este proyecto es pionero en el estudio de los suplementos multivitamínicos como tratamiento potencial para la vulvovaginitis recurrente, llenando un vacío importante en la literatura actual y arrojando luz sobre el papel de la nutrición en el manejo de esta condición.

Asimismo, los resultados podrían transformar las políticas de salud pública relacionadas con la prevención y el manejo de la vulvovaginitis, integrando recomendaciones nutricionales y de suplementación dietética que podrían reducir la dependencia de tratamientos farmacológicos, promoviendo prácticas preventivas.

Finalmente, mediante el estudio metabolómico, la investigación contribuirá a identificar moléculas con potencial terapéutico que nos conducirán a patentes de nuevos medicamentos basados en evidencia nutricional. La realización de este ECA podría marcar un hito en el tratamiento de la vulvovaginitis, ampliando además el conocimiento sobre cómo la nutrición impacta en la salud femenina.

7. Bibliografía

1. Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. Diagnóstico y tratamiento de las infecciones vulvovaginales. *Prog Obstet Ginecol* 2022;65:61-75.
2. Kent HL. Epidemiology of vaginitis. *Am J Obstet Gynecol*. octubre de 1991;165(4 Pt 2):1168-76.
3. Goje O, Munoz JL. Vulvovaginitis: Find the cause to treat it. *Cleve Clin J Med*. marzo de 2017;84(3):215-24.
4. Sheppard C. Treatment of vulvovaginitis. *Aust Prescr*. diciembre de 2020;43(6):195-9.
5. Peters BM, Yano J, Noverr MC, Fidel PL. Candida vaginitis: when opportunism knocks, the host responds. *PLoS Pathog*. abril de 2014;10(4):e1003965.
6. Foxman B, Muraglia R, Dietz JP, Sobel JD, Wagner J. Prevalence of recurrent vulvovaginal candidiasis in 5 European countries and the United States: results from an internet panel survey. *J Low Genit Tract Dis*. julio de 2013;17(3):340-5.
7. Statista. Statista. [citado 12 de mayo de 2024]. Número de casos de mujeres con candidiasis genital registrados en España de 2011 a 2022. Disponible en: <https://es.statista.com/estadisticas/1046375/numero-de-casos-de-mujeres-con-candidiasis-genital-espana/>
8. Jung HS, Ehlers MM, Lombaard H, Redelinghuys MJ, Kock MM. Etiology of bacterial vaginosis and polymicrobial biofilm formation. *Crit Rev Microbiol*. noviembre de 2017;43(6):651-67.
9. Denning DW, Kneale M, Sobel JD, Rautemaa-Richardson R. Global burden of recurrent vulvovaginal candidiasis: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. noviembre de 2018;18(11):e339-47.
10. Peebles K, Velloza J, Balkus JE, McClelland RS, Barnabas RV. High Global Burden and Costs of Bacterial Vaginosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sex Transm Dis*. mayo de 2019;46(5):304-11.
11. Bradshaw CS, Morton AN, Hocking J, Garland SM, Morris MB, Moss LM, et al. High recurrence rates of bacterial vaginosis over the course of 12 months after oral metronidazole therapy and factors associated with recurrence. *J Infect Dis*. 1 de junio de 2006;193(11):1478-86.
12. Zhu YX, Li T, Fan SR, Liu XP, Liang YH, Liu P. Health-related quality of life as measured with the Short-Form 36 (SF-36) questionnaire in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. *Health Qual Life Outcomes*. 29 de abril de 2016;14:65.
13. Brusselmanns J, De Sutter A, Devleeschauwer B, Verstraelen H, Cools P. Scoping review of the association between bacterial vaginosis and emotional, sexual and social health. *BMC Womens Health*. 7 de abril de 2023;23(1):168.
14. Willems HME, Ahmed SS, Liu J, Xu Z, Peters BM. Vulvovaginal Candidiasis: A Current Understanding and Burning Questions. *J Fungi Basel Switz*. 25 de febrero de 2020;6(1):27.
15. Lopes JP, Lionakis MS. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. *Virulence*. diciembre de 2022;13(1):89-121.
16. Mohammed L, Jha G, Malasevskaja I, Goud HK, Hassan A. The Interplay Between Sugar and Yeast Infections: Do Diabetics Have a Greater Predisposition to Develop Oral and Vulvovaginal Candidiasis? *Cureus*. 18 de febrero de 2021;13(2):e13407.
17. Xu J, Schwartz K, Bartoces M, Monsur J, Severson RK, Sobel JD. Effect of antibiotics on vulvovaginal candidiasis: a MetroNet study. *J Am Board Fam Med JABFM*. 2008;21(4):261-8.
18. Cheng G, Yeater KM, Hoyer LL. Cellular and molecular biology of *Candida albicans* estrogen response. *Eukaryot Cell*. enero de 2006;5(1):180-91.
19. Popa LG, Popa MI, Mihai IR. Case-control study to evaluate the link between immunosuppression and *Candida* spp. infection. *Roum Arch Microbiol Immunol*. 2005;64(1-4):72-6.
20. Smart S, Singal A, Mindel A. Social and sexual risk factors for bacterial vaginosis. *Sex Transm Infect*. febrero de 2004;80(1):58-62.
21. Kusemererwa S, Ruzagira E, Onyango M, Kabarambi A, Abaasa A. Associations between intravaginal practices and incidence of sexually transmitted infections and bacterial vaginosis among women enrolled in the dapivirine vaginal ring trial (The Ring Study) in southwestern Uganda: a retrospective secondary analysis. *BMJ Open*. 8 de abril de

- 2024;14(4):e079497.
22. Brookheart RT, Lewis WG, Peipert JF, Lewis AL, Allsworth JE. Association between obesity and bacterial vaginosis as assessed by Nugent score. *Am J Obstet Gynecol.* mayo de 2019;220(5):476.e1-476.e11.
 23. Thoma ME, Klebanoff MA, Rovner AJ, Nansel TR, Neggers Y, Andrews WW, et al. Bacterial vaginosis is associated with variation in dietary indices. *J Nutr.* septiembre de 2011;141(9):1698-704.
 24. Nansel TR, Riggs MA, Yu KF, Andrews WW, Schwebke JR, Klebanoff MA. The association of psychosocial stress and bacterial vaginosis in a longitudinal cohort. *Am J Obstet Gynecol.* febrero de 2006;194(2):381-6.
 25. Culhane JF, Rauh V, McCollum KF, Hogan VK, Agnew K, Wadhwa PD. Maternal stress is associated with bacterial vaginosis in human pregnancy. *Matern Child Health J.* junio de 2001;5(2):127-34.
 26. Leitich H, Bodner-Adler B, Brunbauer M, Kaider A, Egarter C, Husslein P. Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* julio de 2003;189(1):139-47.
 27. Bretelle F, Loubière S, Desbriere R, Loundou A, Blanc J, Heckenroth H, et al. Effectiveness and Costs of Molecular Screening and Treatment for Bacterial Vaginosis to Prevent Preterm Birth: The AuTop Randomized Clinical Trial. *JAMA Pediatr.* 1 de septiembre de 2023;177(9):894-902.
 28. Purwar M, Ughade S, Bhagat B, Agarwal V, Kulkarni H. Bacterial vaginosis in early pregnancy and adverse pregnancy outcome. *J Obstet Gynaecol Res.* agosto de 2001;27(4):175-81.
 29. Brown RG, Marchesi JR, Lee YS, Smith A, Lehne B, Kindinger LM, et al. Vaginal dysbiosis increases risk of preterm fetal membrane rupture, neonatal sepsis and is exacerbated by erythromycin. *BMC Med.* 24 de enero de 2018;16(1):9.
 30. Vitorino P, Varo R, Castillo P, Hurtado JC, Fernandes F, Valente AM, et al. Sneathia amnii and Maternal Chorioamnionitis and Stillbirth, Mozambique. *Emerg Infect Dis.* agosto de 2019;25(8):1614-6.
 31. Gottschick C, Deng ZL, Vital M, Masur C, Abels C, Pieper DH, et al. The urinary microbiota of men and women and its changes in women during bacterial vaginosis and antibiotic treatment. *Microbiome.* 14 de agosto de 2017;5(1):99.
 32. Atashili J, Poole C, Ndumbe PM, Adimora AA, Smith JS. Bacterial vaginosis and HIV acquisition: a meta-analysis of published studies. *AIDS Lond Engl.* 31 de julio de 2008;22(12):1493-501.
 33. Ravel J, Moreno I, Simón C. Bacterial vaginosis and its association with infertility, endometritis, and pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol.* marzo de 2021;224(3):251-7.
 34. Mitra A, MacIntyre DA, Lee YS, Smith A, Marchesi JR, Lehne B, et al. Cervical intraepithelial neoplasia disease progression is associated with increased vaginal microbiome diversity. *Sci Rep.* 17 de noviembre de 2015;5:16865.
 35. Łaniewski P, Barnes D, Goulder A, Cui H, Roe DJ, Chase DM, et al. Linking cervicovaginal immune signatures, HPV and microbiota composition in cervical carcinogenesis in non-Hispanic and Hispanic women. *Sci Rep.* 15 de mayo de 2018;8(1):7593.
 36. Taillandier P, Roingard C, Violette J, Leclère FM, Faivre S. Septic shock caused by *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae*. *IDCases.* 2020;21:e00876.
 37. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Swidsinski S, Dörffel Y, Scholze J, et al. An adherent *Gardnerella vaginalis* biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole. *Am J Obstet Gynecol.* enero de 2008;198(1):97.e1-6.
 38. Bhattacharya S, Sobel JD, White TC. A Combination Fluorescence Assay Demonstrates Increased Efflux Pump Activity as a Resistance Mechanism in Azole-Resistant Vaginal *Candida albicans* Isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* octubre de 2016;60(10):5858-66.
 39. Sobel JD, Vempati YS. Bacterial Vaginosis and Vulvovaginal Candidiasis Pathophysiologic Interrelationship. *Microorganisms.* 5 de enero de 2024;12(1):108.
 40. Kalia N, Singh J, Kaur M. Microbiota in vaginal health and pathogenesis of recurrent vulvovaginal infections: a critical review. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 28 de enero de 2020;19(1):5.
 41. Barrientos-Durán A, Fuentes-López A, de Salazar A, Plaza-Díaz J, García F. Reviewing

- the Composition of Vaginal Microbiota: Inclusion of Nutrition and Probiotic Factors in the Maintenance of Eubiosis. *Nutrients*. 6 de febrero de 2020;12(2):419.
42. Gupta VK, Paul S, Dutta C. Geography, Ethnicity or Subsistence-Specific Variations in Human Microbiome Composition and Diversity. *Front Microbiol*. 2017;8:1162.
 43. Fettweis JM, Brooks JP, Serrano MG, Sheth NU, Girerd PH, Edwards DJ, et al. Differences in vaginal microbiome in African American women versus women of European ancestry. *Microbiol Read Engl*. octubre de 2014;160(Pt 10):2272-82.
 44. Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, Davis CC, Islam MR, Forney LJ. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiol Read Engl*. agosto de 2004;150(Pt 8):2565-73.
 45. Hammerschlag MR, Alpert S, Rosner I, Thurston P, Semine D, McComb D, et al. Microbiology of the vagina in children: normal and potentially pathogenic organisms. *Pediatrics*. julio de 1978;62(1):57-62.
 46. Marchesi JR, Adams DH, Fava F, Hermes GDA, Hirschfield GM, Hold G, et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut*. febrero de 2016;65(2):330-9.
 47. Marrazzo JM, Fiedler TL, Srinivasan S, Thomas KK, Liu C, Ko D, et al. Extravaginal reservoirs of vaginal bacteria as risk factors for incident bacterial vaginosis. *J Infect Dis*. 15 de mayo de 2012;205(10):1580-8.
 48. Neggers YH, Nansel TR, Andrews WW, Schwebke JR, Yu K fun, Goldenberg RL, et al. Dietary intake of selected nutrients affects bacterial vaginosis in women. *J Nutr*. septiembre de 2007;137(9):2128-33.
 49. Tohill BC, Heilig CM, Klein RS, Rompalo A, Cu-Uvin S, Piwoz EG, et al. Nutritional biomarkers associated with gynecological conditions among US women with or at risk of HIV infection. *Am J Clin Nutr*. mayo de 2007;85(5):1327-34.
 50. Tuddenham S, Ghanem KG, Caulfield LE, Rovner AJ, Robinson C, Shivakoti R, et al. Associations between dietary micronutrient intake and molecular-Bacterial Vaginosis. *Reprod Health*. 22 de octubre de 2019;16(1):151.
 51. Ma L, Zhang Z, Li L, Zhang L, Lin Z, Qin H. Vitamin D deficiency increases the risk of bacterial vaginosis during pregnancy: Evidence from a meta-analysis based on observational studies. *Front Nutr*. 2022;9:1016592.
 52. Cui TT, Luo J, Deng RL, Yang YT, Yin YW, Chen XF, et al. Negative associations between folate and bacterial vaginosis in the NHANES 2001 to 2004. *BMC Infect Dis*. 19 de julio de 2023;23(1):483.
 53. Shivakoti R, Tuddenham S, Caulfield LE, Murphy C, Robinson C, Ravel J, et al. Dietary macronutrient intake and molecular-bacterial vaginosis: Role of fiber. *Clin Nutr Edinb Scotl*. octubre de 2020;39(10):3066-71.
 54. Amabebe E, Anumba DOC. Psychosocial Stress, Cortisol Levels, and Maintenance of Vaginal Health. *Front Endocrinol*. 2018;9:568.
 55. Romero R, Hassan SS, Gajer P, Tarca AL, Fadrosh DW, Nikita L, et al. The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome*. 3 de febrero de 2014;2(1):4.
 56. Miller L, Patton DL, Meier A, Thwin SS, Hooton TM, Eschenbach DA. Depomedroxyprogesterone-induced hypoestrogenism and changes in vaginal flora and epithelium. *Obstet Gynecol*. septiembre de 2000;96(3):431-9.
 57. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SSK, McCulle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 15 de marzo de 2011;108 Suppl 1(Suppl 1):4680-7.
 58. Boskey ER, Cone RA, Whaley KJ, Moench TR. Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source. *Hum Reprod Oxf Engl*. septiembre de 2001;16(9):1809-13.
 59. Basson NJ. Competition for glucose between *Candida albicans* and oral bacteria grown in mixed culture in a chemostat. *J Med Microbiol*. noviembre de 2000;49(11):969-75.
 60. Tachedjian G, O'Hanlon DE, Ravel J. The implausible «in vivo» role of hydrogen peroxide as an antimicrobial factor produced by vaginal microbiota. *Microbiome*. 6 de febrero de 2018;6(1):29.
 61. O'Hanlon DE, Moench TR, Cone RA. In vaginal fluid, bacteria associated with bacterial vaginosis can be suppressed with lactic acid but not hydrogen peroxide. *BMC Infect Dis*. 19 de julio de 2011;11:200.
 62. Aldunate M, Srbnovski D, Hearps AC, Latham CF, Ramsland PA, Gugasyan R, et al. Antimicrobial and immune modulatory effects of lactic acid and short chain fatty acids

- produced by vaginal microbiota associated with eubiosis and bacterial vaginosis. *Front Physiol.* 2015;6:164.
63. Disha T, Haque F. Prevalence and Risk Factors of Vulvovaginal Candidosis during Pregnancy: A Review. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2022;2022:6195712.
 64. Rizzo A, Losacco A, Carratelli CR. *Lactobacillus crispatus* modulates epithelial cell defense against *Candida albicans* through Toll-like receptors 2 and 4, interleukin 8 and human β -defensins 2 and 3. *Immunol Lett.* 2013;156(1-2):102-9.
 65. Spurbeck RR, Arvidson CG. *Lactobacilli* at the front line of defense against vaginally acquired infections. *Future Microbiol.* mayo de 2011;6(5):567-82.
 66. Srinivasan S, Liu C, Mitchell CM, Fiedler TL, Thomas KK, Agnew KJ, et al. Temporal variability of human vaginal bacteria and relationship with bacterial vaginosis. *PloS One.* 15 de abril de 2010;5(4):e10197.
 67. Borgdorff H, Armstrong SD, Tytgat HLP, Xia D, Ndayisaba GF, Wastling JM, et al. Unique Insights in the Cervicovaginal *Lactobacillus iners* and *L. crispatus* Proteomes and Their Associations with Microbiota Dysbiosis. *PloS One.* 2016;11(3):e0150767.
 68. Mastromarino P, Macchia S, Meggiorini L, Trinchieri V, Mosca L, Perluigi M, et al. Effectiveness of *Lactobacillus*-containing vaginal tablets in the treatment of symptomatic bacterial vaginosis. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* enero de 2009;15(1):67-74.
 69. Pendharkar S, Brandsborg E, Hammarström L, Marcotte H, Larsson PG. Vaginal colonisation by probiotic lactobacilli and clinical outcome in women conventionally treated for bacterial vaginosis and yeast infection. *BMC Infect Dis.* 3 de julio de 2015;15:255.
 70. Wang S, Wang Q, Yang E, Yan L, Li T, Zhuang H. Antimicrobial Compounds Produced by Vaginal *Lactobacillus crispatus* Are Able to Strongly Inhibit *Candida albicans* Growth, Hyphal Formation and Regulate Virulence-related Gene Expressions. *Front Microbiol.* 2017;8:564.
 71. Li T, Liu Z, Zhang X, Chen X, Wang S. Local Probiotic *Lactobacillus crispatus* and *Lactobacillus delbrueckii* Exhibit Strong Antifungal Effects Against Vulvovaginal Candidiasis in a Rat Model. *Front Microbiol.* 2019;10:1033.
 72. Jeng HS, Yan TR, Chen JY. Treating vaginitis with probiotics in non-pregnant females: A systematic review and meta-analysis. *Exp Ther Med.* octubre de 2020;20(4):3749-65.
 73. López-Moreno A, Aguilera M. Vaginal Probiotics for Reproductive Health and Related Dysbiosis: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med.* 2 de abril de 2021;10(7):1461.
 74. Xie HY, Feng D, Wei DM, Mei L, Chen H, Wang X, et al. Probiotics for vulvovaginal candidiasis in non-pregnant women. *Cochrane Database Syst Rev.* 23 de noviembre de 2017;11(11):CD010496.
 75. van de Wijgert J, Verwijs MC. *Lactobacilli*-containing vaginal probiotics to cure or prevent bacterial or fungal vaginal dysbiosis: a systematic review and recommendations for future trial designs. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* enero de 2020;127(2):287-99.
 76. Hanson L, VandeVusse L, Jermé M, Abad CL, Safdar N. Probiotics for Treatment and Prevention of Urogenital Infections in Women: A Systematic Review. *J Midwifery Womens Health.* mayo de 2016;61(3):339-55.
 77. Abad CL, Safdar N. The role of *Lactobacillus* probiotics in the treatment or prevention of urogenital infections--a systematic review. *J Chemother Florence Italy.* junio de 2009;21(3):243-52.
 78. Han Y, Ren QL. Does probiotics work for bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis. *Curr Opin Pharmacol.* diciembre de 2021;61:83-90.
 79. Wang Y, Liu Z, Chen T. Vaginal microbiota: Potential targets for vulvovaginal candidiasis infection. *Heliyon.* 15 de marzo de 2024;10(5):e27239.
 80. Kim DE, Kim JK, Han SK, Jang SE, Han MJ, Kim DH. *Lactobacillus plantarum* NK3 and *Bifidobacterium longum* NK49 Alleviate Bacterial Vaginosis and Osteoporosis in Mice by Suppressing NF- κ B-Linked TNF- α Expression. *J Med Food.* octubre de 2019;22(10):1022-31.
 81. El Aila NA, Tency I, Saerens B, De Backer E, Cools P, dos Santos Santiago GL, et al. Strong correspondence in bacterial loads between the vagina and rectum of pregnant women. *Res Microbiol.* junio de 2011;162(5):506-13.
 82. Antonio MAD, Rabe LK, Hillier SL. Colonization of the rectum by *Lactobacillus* species and decreased risk of bacterial vaginosis. *J Infect Dis.* 1 de agosto de 2005;192(3):394-8.
 83. Ansari A, Son D, Hur YM, Park S, You YA, Kim SM, et al. *Lactobacillus* Probiotics Improve

- Vaginal Dysbiosis in Asymptomatic Women. *Nutrients*. 13 de abril de 2023;15(8):1862.
84. Mändar R, Söerunurk G, Štšepetova J, Smidt I, Rööp T, Kõljalg S, et al. Impact of *Lactobacillus crispatus*-containing oral and vaginal probiotics on vaginal health: a randomised double-blind placebo controlled clinical trial. *Benef Microbes*. 18 de abril de 2023;14(2):143-52.
 85. Ang XY, Chung FYL, Lee BK, Azhar SNA, Sany S, Roslan NS, et al. Lactobacilli reduce recurrences of vaginal candidiasis in pregnant women: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Appl Microbiol*. abril de 2022;132(4):3168-80.
 86. Ang XY, Roslan NS, Ahmad N, Yusof SM, Abdullah N, Nik Ab Rahman NN, et al. *Lactobacillus* probiotics restore vaginal and gut microbiota of pregnant women with vaginal candidiasis. *Benef Microbes*. 23 de noviembre de 2023;14(5):421-31.
 87. Qi F, Fan S, Fang C, Ge L, Lyu J, Huang Z, et al. Orally administered *Lactobacillus gasseri* TM13 and *Lactobacillus crispatus* LG55 can restore the vaginal health of patients recovering from bacterial vaginosis. *Front Immunol*. 2023;14:1125239.
 88. Hilton E, Isenberg HD, Alperstein P, France K, Borenstein MT. Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* as prophylaxis for candidal vaginitis. *Ann Intern Med*. 1 de marzo de 1992;116(5):353-7.
 89. Shalev E, Battino S, Weiner E, Colodner R, Keness Y. Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* compared with pasteurized yogurt as prophylaxis for recurrent candidal vaginitis and bacterial vaginosis. *Arch Fam Med*. 1996;5(10):593-6.
 90. Butcher NJ, Monsour A, Mew EJ, Chan AW, Moher D, Mayo-Wilson E, et al. Guidelines for Reporting Outcomes in Trial Reports: The CONSORT-Outcomes 2022 Extension. *JAMA*. 13 de diciembre de 2022;328(22):2252-64.
 91. Ferdous T, Jiang L, Dinu I, Groizeleau J, Kozyrskyj AL, Greenwood CMT, et al. The rise to power of the microbiome: power and sample size calculation for microbiome studies. *Mucosal Immunol*. junio de 2022;15(6):1060-70.
 92. Alonso Calleja C, Cámara Hurtado MM, Daschner Á, Fernández Escámez PS, Franco Abuín CM, Giner Pons RM, et al. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre Ingestas Nutricionales de Referencia para la población española. *Rev Com Científico AESAN*. 2019;(29):43-68.
 93. Comunidad de Madrid [Internet]. 2017 [citado 12 de mayo de 2024]. Centro de Salud Aquitania. Disponible en: <https://www.comunidad.madrid/centros/centro-salud-aquitania>
 94. Fantini E, Gianese G, Giuliano G, Fiore A. Bacterial metabarcoding by 16S rRNA gene ion torrent amplicon sequencing. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2015;1231:77-90.
 95. Singer M, Koedooder R, Bos MP, Poort L, Schoenmakers S, Savelkoul PHM, et al. The profiling of microbiota in vaginal swab samples using 16S rRNA gene sequencing and IS-pro analysis. *BMC Microbiol*. 31 de marzo de 2021;21(1):100.
 96. Yao T, Wang Z, Liang X, Liu C, Yu Z, Han X, et al. Signatures of vaginal microbiota by 16S rRNA gene: potential bio-geographical application in Chinese Han from three regions of China. *Int J Legal Med*. julio de 2021;135(4):1213-24.
 97. Feehily C, Crosby D, Walsh CJ, Lawton EM, Higgins S, McAuliffe FM, et al. Shotgun sequencing of the vaginal microbiome reveals both a species and functional potential signature of preterm birth. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 12 de noviembre de 2020;6(1):50.
 98. Smith SB, Ravel J. The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. *J Physiol*. 15 de enero de 2017;595(2):451-63.
 99. France MT, Ma B, Gajer P, Brown S, Humphrys MS, Holm JB, et al. VALENCIA: a nearest centroid classification method for vaginal microbial communities based on composition. *Microbiome*. 23 de noviembre de 2020;8(1):166.
 100. Cocomazzi G, De Stefani S, Del Pup L, Palini S, Buccheri M, Primiterra M, et al. The Impact of the Female Genital Microbiota on the Outcome of Assisted Reproduction Treatments. *Microorganisms*. 30 de mayo de 2023;11(6):1443.
 101. Gajer P, Brotman RM, Bai G, Sakamoto J, Schütte UME, Zhong X, et al. Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Sci Transl Med*. 2 de mayo de 2012;4(132):132ra52.
 102. Ma B, Forney LJ, Ravel J. Vaginal microbiome: rethinking health and disease. *Annu Rev Microbiol*. 2012;66:371-89.
 103. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med*. enero de 1983;74(1):14-22.
 104. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved

- by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* febrero de 1991;29(2):297-301.
105. Martin DH. The microbiota of the vagina and its influence on women's health and disease. *Am J Med Sci.* enero de 2012;343(1):2-9.
 106. Aniebue UU, Nwankwo TO, Nwafor MI. Vulvovaginal candidiasis in reproductive age women in Enugu Nigeria, clinical versus laboratory-assisted diagnosis. *Niger J Clin Pract.* agosto de 2018;21(8):1017-22.
 107. Houang ET, Chu KC, Koehler AP, Cheng AF. Use of CHROMagar Candida for genital specimens in the diagnostic laboratory. *J Clin Pathol.* julio de 1997;50(7):563-5.
 108. Erekson EA, Yip SO, Wedderburn TS, Martin DK, Li FY, Choi JN, et al. The Vulvovaginal Symptoms Questionnaire: a questionnaire for measuring vulvovaginal symptoms in postmenopausal women. *Menopause N Y N.* septiembre de 2013;20(9):973-9.
 109. Tekin AB, Yassa M, Kalkan U, Sargin MA, Keskin I, Usta S, et al. Validation of the Vulvovaginal Symptom Questionnaire in Turkish women with genitourinary syndrome of menopause. *Menopause N Y N.* 24 de enero de 2022;29(3):327-34.
 110. Fernández-Alonso AM, Alcaide-Torres J, Fernández-Alonso IM, Chedraui P, Pérez-López FR. Application of the 21-item Vulvovaginal Symptoms Questionnaire in postmenopausal Spanish women. *Menopause N Y N.* noviembre de 2017;24(11):1295-301.
 111. Bachkangi P, Malik S. Assessment of Vulvovaginal Atrophy Symptoms in Women Attending Gynaecology Clinics: A Service Evaluation Project. *Gynecol Reprod Health [Internet].* 28 de febrero de 2023 [citado 12 de mayo de 2024];7(1). Disponible en: <https://www.scivisionpub.com/pdfs/assessment-of-vulvovaginal-atrophy-symptoms-in-women-attending-gynaecology-clinics-a-service-evaluation-project-2627.pdf>
 112. Kohn J. 088 Validation of the Vulvovaginal Symptoms Questionnaire in Women with Vulvar Dermatoses to Assess Sexual Function & Quality of Life. *J Sex Med.* 1 de junio de 2019;16(Supplement_3):S33-S33.
 113. Block G, Hartman AM, Naughton D. A reduced dietary questionnaire: development and validation. *Epidemiol Camb Mass.* enero de 1990;1(1):58-64.
 114. Khanna D, Peltzer C, Kahar P, Parmar MS. Body Mass Index (BMI): A Screening Tool Analysis. *Cureus.* febrero de 2022;14(2):e22119.
 115. Chatzimichalakis PF, Samanidou VF, Verpoorte R, Papadoyannis IN. Development of a validated HPLC method for the determination of B-complex vitamins in pharmaceuticals and biological fluids after solid phase extraction. *J Sep Sci.* octubre de 2004;27(14):1181-8.
 116. Moldoveanu SC. Comparison of several HPLC methods for the analysis of vitamin C. *Biomed Chromatogr BMC.* enero de 2024;38(1):e5753.
 117. Biesalski HK, Ehrental W, Gross M, Hafner G, Harth O. Rapid determination of retinol (vitamin A) in serum by high pressure liquid chromatography (HPLC). *Int J Vitam Nutr Res Int Z Vitam- Ernährungsforschung J Int Vitaminol Nutr.* 1983;53(2):130-7.
 118. Siluk D, Oliveira RV, Esther-Rodriguez-Rosas M, Ling S, Bos A, Ferrucci L, et al. A validated liquid chromatography method for the simultaneous determination of vitamins A and E in human plasma. *J Pharm Biomed Anal.* 15 de agosto de 2007;44(4):1001-7.
 119. Jensen BP, Saraf R, Ma J, Berry S, Grant CC, Camargo CA, et al. Quantitation of 25-hydroxyvitamin D in dried blood spots by 2D LC-MS/MS without derivatization and correlation with serum in adult and pediatric studies. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* junio de 2018;481:61-8.
 120. Shahida S, Rehman S, Ilyas N, Khan MI, Hameed U, Hafeez M, et al. Determination of Blood Calcium and Lead Concentrations in Osteoporotic and Osteopenic Patients in Pakistan. *ACS Omega.* 26 de octubre de 2021;6(42):28373-8.
 121. Waseem A, Yaqoob M, Nabi A. Determination of iron in blood serum using flow injection with luminol chemiluminescence detection. *Lumin J Biol Chem Lumin.* 2004;19(6):333-8.
 122. Onuh JO, Qiu H. Metabolic Profiling and Metabolites Fingerprints in Human Hypertension: Discovery and Potential. *Metabolites.* 7 de octubre de 2021;11(10):687.
 123. Ooka M, Lynch C, Xia M. Application of In Vitro Metabolism Activation in High-Throughput Screening. *Int J Mol Sci.* 31 de octubre de 2020;21(21):8182.
 124. The World Medical Association (WMA). Declaración de Helsinki de la AMM – Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [Internet]. 2017 [citado 12 de mayo de 2024]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/policias-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>

125. Jefatura del Estado. Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales [Internet]. Sec. 1, Ley Orgánica 3/2018 dic 6, 2018 p. 119788-857. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/lo/2018/12/05/3>
126. Jefatura del Estado. Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica [Internet]. Sec. 1, Ley 41/2002 nov 15, 2002 p. 40126-32. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/l/2002/11/14/41>
127. Jefatura del Estado. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica [Internet]. Sec. 1, Ley 14/2007 jul 4, 2007 p. 28826-48. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/l/2007/07/03/14>
128. Naciones Unidas. La Agenda para el Desarrollo Sostenible [Internet]. Desarrollo Sostenible. [citado 12 de mayo de 2024]. Disponible en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/development-agenda/>

8. Anexos

ANEXO I

HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

El tratamiento actual para las infecciones vulvovaginales no es del todo eficaz y no consigue reducir las posibles futuras reinfecciones. Recientes estudios mencionan que un estado nutricional deficitario en micronutrientes puede suponer un riesgo para el desarrollo de estas infecciones. Además, la ingesta de probióticos podría ayudar a reducir las reinfecciones. El objetivo de este estudio es determinar la eficacia del uso de suplementos dietéticos probióticos y/o multivitamínicos como tratamiento para la vulvovaginitis recurrente. Participar en el estudio significará recibir tratamiento vía oral de un suplemento probiótico, un suplemento multivitamínico o un suplemento que contendrá una combinación de ambos. Usted no sabrá qué tratamiento recibe para que los resultados no se vean comprometidos y esto no afecte a la calidad del estudio.

Cabe destacar que las contraindicaciones que impedirían formar parte de esta investigación son las siguientes:

- Presentar diabetes mellitus mal controlada.
- Precisar tratamiento antibiótico durante la duración del estudio.
- Padecer enfermedades inmunodepresoras como el VIH o estar en terapia con corticosteroides, quimioterapia, agentes antiangiogénicos o inmunosupresores.
- Llevar a cabo una higiene inadecuada con empleo de duchas vaginales o productos de higiene intravaginal.
- Estar en periodo de gestación o quedarse embarazada durante la duración del estudio.

Por otro lado, durante un año, deberá comprometerse a tomar el tratamiento de forma diaria y a acudir a consulta en cuatro ocasiones (una al inicio y después cada 3, 6 y 12 meses) para cumplimentar unos cuestionarios y para que le realicen una exploración ginecológica levemente invasiva, en la que se le recogerá un exudado vaginal y un análisis de sangre para evaluar su microbiota vaginal y su estado nutricional. Además, deberá traer el informe validado de cualquier diagnóstico nuevo de vulvovaginitis que presente para que lo registremos y una muestra con heces que será almacenada para ser estudiada en posibles futuras investigaciones.

Cabe destacar que la participación es estrictamente voluntaria. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación. Sus respuestas al cuestionario serán codificadas usando un número de identificación y, por lo tanto, serán anónimas.

Si tiene alguna duda sobre este proyecto, tiene derecho a hacer preguntas en cualquier momento o a retirarse del estudio sin que eso lo perjudique de ninguna forma. Si alguna de las preguntas que se realizan le parecen incómodas, tiene usted el derecho de hacérselo saber al investigador o de no responderlas.

Finalmente, una copia de esta ficha de consentimiento le será entregada y podrá pedir información sobre los resultados de este estudio cuando este haya concluido.

Agradeceremos su participación.

Yo, _____, a fecha de ___/___/___, declaro haber recibido información verbal y escrita clara y sencilla sobre el procedimiento a realizar. He comprendido toda la información y, libremente, doy mi consentimiento de forma voluntaria para formar parte del estudio y para que la información obtenida sea utilizada, manteniendo siempre la confidencialidad de los datos. También me comprometo a acudir a las consultas y tomar el tratamiento. Comprendo que soy libre de retirarme del estudio en cualquier momento y por cualquier motivo, sin que tenga ninguna repercusión en la relación que tengo con mis profesionales de la salud ni sobre mi tratamiento médico en un futuro.

Firma

ANEXO II

HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

El tratamiento actual para las infecciones vulvovaginales no es del todo eficaz y no consigue reducir las posibles futuras reinfecciones. Recientes estudios mencionan que un estado nutricional deficitario en micronutrientes puede suponer un riesgo para el desarrollo de estas infecciones. Además, la ingesta de probióticos podría ayudar a reducir las reinfecciones. El objetivo de este estudio es determinar la eficacia del uso de suplementos dietéticos con multivitaminas y probióticos como tratamiento para la vulvovaginitis recurrente. Su colaboración en el estudio nos podría aportar información muy útil que podría ayudarnos a prevenir estas infecciones y mejorar la calidad de vida de las mujeres que las padecen.

Cabe destacar que las contraindicaciones que impedirían formar parte de esta investigación son las siguientes:

- Haber padecido durante el último año candidiasis vulvovaginal o vaginosis bacteriana.
- Presentar diabetes mellitus mal controlada.
- Padecer enfermedades inmunodepresoras como el VIH o estar en terapia con corticosteroides, quimioterapia, agentes antiangiogénicos o inmunosupresores.
- Llevar a cabo una higiene inadecuada con empleo de duchas vaginales o productos de higiene intravaginal.
- Estar en periodo de gestación.

Su colaboración consistirá en cumplimentar unos cuestionarios y en la recogida de un exudado vaginal, muestras de heces y un análisis de sangre para evaluar su microbiota vaginal y su estado nutricional. Cabe destacar que la participación es estrictamente voluntaria. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación. Sus respuestas al cuestionario serán codificadas usando un número de identificación y, por lo tanto, serán anónimas. Si tiene alguna duda sobre este proyecto, tiene derecho a hacer preguntas en cualquier momento o a retirarse del estudio sin que eso lo perjudique de ninguna forma. Si alguna de las preguntas que se realizan le parecen incómodas, tiene usted el derecho de hacérselo saber al investigador o de no responderlas.

Finalmente, una copia de esta ficha de consentimiento le será entregada y podrá pedir información sobre los resultados de este estudio cuando este haya concluido.

Agradeceremos su participación.

Yo, _____, a fecha de ___/___/___, declaro haber recibido información verbal y escrita clara y sencilla sobre el procedimiento a realizar. He comprendido toda la información y, libremente, doy mi consentimiento de forma voluntaria para colaborar en el estudio y para que la información obtenida sea utilizada, manteniendo siempre la confidencialidad de los datos. Comprendo que soy libre de retirarme del estudio en cualquier momento y por cualquier motivo, sin que tenga ninguna repercusión en la relación que tengo con mis profesionales de la salud ni sobre mi tratamiento médico en un futuro.

Firma

ANEXO III

HOJA DE REGISTRO (MUJERES SANAS)

(FECHA: _____)

(Número de identificación de la mujer: _____)

Edad	_____ años	IMC	_____ kg/m ²
Raza	_____		
CST	<input type="checkbox"/> Salud Vaginal	<input type="checkbox"/> Riesgo de disbiosis	<input type="checkbox"/> Disbiosis
Estado nutricional	<input type="checkbox"/> Saludable	<input type="checkbox"/> Exceso ¿Qué micronutrientes? <input type="checkbox"/> Vit A <input type="checkbox"/> Vit B9 <input type="checkbox"/> Vit C <input type="checkbox"/> Vit D <input type="checkbox"/> Vit E <input type="checkbox"/> Fe <input type="checkbox"/> Ca	<input type="checkbox"/> Defecto ¿Qué micronutrientes? <input type="checkbox"/> Vit A <input type="checkbox"/> Vit B9 <input type="checkbox"/> Vit C <input type="checkbox"/> Vit D <input type="checkbox"/> Vit E <input type="checkbox"/> Fe <input type="checkbox"/> Ca
ACHO	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí	
Hábito tabáquico	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí	
Más de una pareja sexual	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí ¿Cuántas? _	

ANEXO IV

CUESTIONARIO AUTOADMINISTRADO VULVOVAGINITIS

(FECHA: _____)

(Nombre y apellidos: _____)

Las siguientes preguntas fueron desarrolladas para evaluar los síntomas cutáneos de las mujeres. La piel que rodea la vagina se llama vulva. Al igual que la piel en otras partes del cuerpo, la vulva a veces puede irritarse. Muchas mujeres experimentan malestar en la región de la vulva. Estos síntomas pueden ser leves, pero a veces pueden ser severos. Las siguientes preguntas le preguntarán sobre sus síntomas cutáneos vulvares durante la última semana:

1. ¿Sientes picazón en la vulva? No Sí
2. ¿Te arde o pica? No Sí
3. ¿Te duele? No Sí
4. ¿Está irritada? No Sí
5. ¿Está seca? No Sí
6. ¿Tienes secreción vaginal? No Sí
7. ¿Sientes que tu vagina o tu vulva huelen? No Sí
8. ¿Estás preocupada por tus síntomas? No Sí
9. ¿Te preocupa la apariencia de tu vulva? No Sí
10. ¿Te produce frustración? No Sí
11. ¿Te avergüenza? No Sí
12. ¿Los síntomas vulvares afectan tus interacciones con otras personas? No Sí
13. ¿Los síntomas vulvares afectan tu deseo de estar con personas? No Sí
14. ¿Te resulta difícil mostrar afecto debido a tus síntomas vulvares? No Sí
15. ¿Los síntomas vulvares afectan tus actividades diarias? No Sí

16. ¿Tus síntomas vulvares afectan tu deseo de tener relaciones íntimas con otras personas? ⁰ No ¹ Sí
17. ¿Eres sexualmente activa actualmente?
- No → Gracias. Has terminado este cuestionario.
 Sí → Por favor, procede con las siguientes 4 preguntas
18. ¿Los síntomas vulvares afectan tus relaciones sexuales? ⁰ No ¹ Sí
19. ¿Tus síntomas vulvares causan dolor durante la actividad sexual? ⁰ No ¹ Sí
20. ¿Tus síntomas vulvares causan sequedad durante la actividad sexual? ⁰ No ¹ Sí
21. ¿Tus síntomas vulvares causan sangrado durante la actividad sexual? ⁰ No ¹ Sí

Responde ahora a estas otras preguntas:

22. ¿Has tenido algún episodio nuevo de candidiasis vulvovaginal diagnosticado desde la última consulta? No Sí
¿Cuántos? _
23. ¿Has tenido algún episodio nuevo de vaginosis bacteriana diagnosticado desde la última consulta? No Sí
¿Cuántos? _
24. ¿Tomas anticonceptivos hormonales combinados? No Sí
(Si tienes dudas sobre si contienen estrógenos, pregunta a la matrona)
25. ¿Tomas tratamiento para la ansiedad o el estrés? No Sí
26. ¿Fumas? No Sí
27. ¿Has tenido más de una pareja sexual desde la última consulta? No Sí
¿Cuántas? _

ANEXO V

HOJA DE REGISTRO (MUJERES CON VULVOVAGINITIS RECURRENTE)

(FECHA: _____)

(Número de identificación de la mujer: _____)

Edad	_____ años	IMC	_____ kg/m ²
Raza	_____	Puntuación VSQ	_____
Recurrencias de CVV	Reportadas fuera del estudio: _____	Reportadas por los microbiólogos del estudio: _____	
Recurrencias de VB	Reportadas fuera del estudio: _____	Reportadas por los microbiólogos del estudio: _____	
CST	<input type="checkbox"/> Salud Vaginal	<input type="checkbox"/> Riesgo de disbiosis	<input type="checkbox"/> Disbiosis
Estado nutricional	<input type="checkbox"/> Saludable	<input type="checkbox"/> Exceso ¿Qué micronutrientes? <input type="checkbox"/> Vit A <input type="checkbox"/> Vit B9 <input type="checkbox"/> Vit C <input type="checkbox"/> Vit D <input type="checkbox"/> Vit E <input type="checkbox"/> Fe <input type="checkbox"/> Ca	<input type="checkbox"/> Defecto ¿Qué micronutrientes? <input type="checkbox"/> Vit A <input type="checkbox"/> Vit B9 <input type="checkbox"/> Vit C <input type="checkbox"/> Vit D <input type="checkbox"/> Vit E <input type="checkbox"/> Fe <input type="checkbox"/> Ca
ACHO	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí	
Hábito tabáquico	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí	
Más de una pareja sexual	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Sí ¿Cuántas? _	
Adherencia al tto	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No ¿Cuántos olvidos? _	