

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical



Sonia Regina Ribeiro de Figueiredo Leite

**ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO COMPARANDO DOIS
TRATAMENTOS PARA VAGINOSE BACTERIANA,
COM ESTUDO DESCRITIVO DO PERFIL CLÍNICO,
EPIDEMIOLÓGICO E MICROBIOLÓGICO DAS
MULHERES ANTES DO TRATAMENTO.**

RECIFE/PE
2010

Sonia Regina Ribeiro de Figueiredo Leite

**ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO COMPARANDO DOIS
TRATAMENTOS PARA VAGINOSE BACTERIANA,
COM ESTUDO DESCRITIVO DO PERFIL CLÍNICO,
EPIDEMIOLÓGICO E MICROBIOLÓGICO DAS
MULHERES ANTES DO TRATAMENTO.**

Tese apresentada ao Colegiado do Doutorado em Medicina Tropical da UFPE, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Medicina Tropical.

Orientador: Prof. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Co-orientadora: Profa. Melania M. Ramos de Amorim

RECIFE
2010

Leite, Sonia Regina Ribeiro de Figueiredo

Ensaio clínico randomizado comparando dois tratamentos para vaginose bacteriana, com estudo descritivo do perfil clínico, epidemiológico e microbiológico das mulheres antes do tratamento / Sonia Regina Ribeiro de Figueiredo Leite. – Recife: O Autor, 2010.

123 folhas: il., fig., tab. e quadros.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Medicina Tropical, 2010.

Inclui bibliografia, apêndices e anexos.

1. Vaginose bacteriana. 2. *Gardnerella vaginalis*. 3. Mobiluncus. 4. Aroeira. 5. Metronidazol gel vaginal.
I. Título.

618.15
618.15

CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)

UFPE
CCS2010-070



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO (PROPESQ)
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL (PPGMEDTROP)

RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DA DOUTORANDA

SONIA REGINA RIBEIRO DE FIGUEIREDO LEITE

No dia 09 de dezembro de 2009, às 08h00, na Sala Prof. Murillo La Greca – no 3º and do CCS/UFPE, os Membros Doutores: **Prof.^a Dr.^a Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho (Presidente da Banca Examinadora – UFPE – Membro Interno)**, o **Prof. Dr. Rivaldo Mendes de Albuquerque (UPE – Membro Externo)**, o **Prof. Dr. Aurélio Antonio Ribeiro da Costa (IMIP – Membro Externo)**, o **Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho (UPE – Membro Externo)** e o **Prof. Dr. Olimpio Barbosa de Moraes Filho (UPE – Membro Externo)** componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, arguíram a doutoranda **SONIA REGINA RIBEIRO DE FIGUEIREDO LEITE** sobre a sua Tese intitulada **"Ensaio clínico randomizado comparando dois tratamentos para vaginose bacteriana, com estudo descritivo do perfil clínico, epidemiológico e microbiológico das mulheres antes do tratamento"**, a qual foi orientada pelo **Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes (UFPE)**. Ao final da arguição de cada membro da Banca Examinadora e resposta da doutoranda, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

Prof.^a Dr.^a Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho

APROVADA

Prof. Dr. Rivaldo Mendes de Albuquerque

APROVADA

Prof. Dr. Aurélio Antonio Ribeiro da Costa

APROVADA

Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho

APROVADA

Prof. Dr. Olimpio Barbosa de Moraes Filho

APROVADA

Prof.^a Dr.^a Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho

Prof. Dr. Rivaldo Mendes de Albuquerque

Prof. Dr. Aurélio Antonio Ribeiro da Costa

Prof. Dr. Demócrito de Barros Miranda Filho

Prof. Dr. Olimpio Barbosa de Moraes Filho

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

PROF. AMARO HENRIQUE PESSOA LINS

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PROF. ANÍSIO BRASILEIRO DE FREITAS DOURADO

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROF. JOSÉ TADEU PINHEIRO

DIRETOR SUPERINTENDENTE DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS

PROF. GEORGE DA SILVA TELES

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEDICINA TROPICAL**

PROF^a. MARIA ROSÂNGELA CUNHA DUARTE COELHO

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEDICINA TROPICAL**

PROF^a. HELOÍSA RAMOS LACERDA DE MELO

Dedico este trabalho aos meus filhos
Tessália Natasha, Thamine Natália e Luiz
Alberto Filho, minhas mais perfeitas
criações.

AGRADECIMENTOS

Meu especial agradecimento ao Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP), através de seu presidente Dr. Antônio Carlos Figueira, pelas inúmeras oportunidades de crescimento profissional a mim sempre proporcionadas e apoio logístico à pesquisa, que viabilizaram sua realização.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da UFPE, representada pela Profa. Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho, sua coordenadora, pelo incentivo e suporte.

Ao Laboratório Hebron, em nome de seu diretor Avaniel Marinho, pela amizade e apoio ao projeto.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo Ximenes pelos valiosos conselhos e constante disponibilidade.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Melania Amorim pelas importantes orientações recebidas.

Aos colegas e amigos da 6ª. Turma de Doutorado (Ano 2005) pelo companheirismo e privilégio da convivência.

Às pacientes que aceitaram participar da pesquisa e proporcionaram sua realização.

Aos meus familiares, em especial meu marido Luiz Alberto Leite, pela compreensão demonstrada nas longas ausências e nos momentos de maior estresse.

Ao meu pai, sempre presente em minha lembrança, pelos ensinamentos e exemplos que nortearam toda a minha vida.

**“ACREDITE NAQUELES QUE BUSCAM A
VERDADE, MAS DUVIDE DAQUELES QUE A
TENHAM ENCONTRADO.”**

ANDRÉ GIDE

RESUMO

ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO COMPARANDO DOIS TRATAMENTOS PARA VAGINOSE BACTERIANA, COM ESTUDO DESCRITIVO DO PERFIL CLÍNICO, EPIDEMIOLÓGICO E MICROBIOLÓGICO DAS MULHERES ANTES DO TRATAMENTO.

Esta tese, apresentada em dois artigos, teve por objetivo comparar dois tratamentos para Vaginose Bacteriana, utilizando metronidazol e aroeira, em aplicação tópica vaginal e estudar o perfil clínico, epidemiológico e bacteriológico das mulheres participantes, antes de serem submetidas ao tratamento. O primeiro artigo consistiu de um ensaio clínico randomizado, duplamente mascarado, que comparou a eficácia entre os dois tratamentos em mulheres com vaginose bacteriana diagnosticada, concomitantemente, pelos critérios de Amsel e Nugent. Foi utilizada a Análise por Intenção de Tratar. Do total de 277 participantes do ensaio clínico, 137 mulheres foram tratadas com gel de Aroeira e 140 tratadas com Metronidazol. Na avaliação de cura pelos critérios de Amsel, 21,2% das pacientes que utilizaram aroeira e 62,1% que usaram metronidazol obtiveram cura. Quando o Escore de Nugent foi utilizado foram curadas 13,9% das mulheres do grupo da aroeira e 56,4% do grupo metronidazol. A cura total (com a utilização dos dois critérios) foi observada em 12,4% do total de pacientes no grupo da aroeira e 56,4% das mulheres que usaram metronidazol. O segundo artigo constou de uma série de casos onde foram estudados os achados clínicos, epidemiológicos e microbiológicos das participantes do ensaio clínico antes do tratamento, além da presença de lactobacilos nas citologias oncóticas e a população bacteriana componente das microbiotas vaginais identificadas por culturas de secreção

vaginal. Entre as queixas clínicas, as mais frequentes foram o corrimento genital, observado em 74,4% das participantes e o odor de peixe da secreção vaginal, que ocorreu em 68,6% dos casos. As culturas de conteúdo vaginal permitiram a identificação de *Gardnerella vaginalis* em 96,8% e de *Mobiluncus* em 53,1% dos casos. Apenas em uma terça parte dos exames (32,1%) havia a presença de *Lactobacillus*. Como conclusões dos estudos, foram observados índices de cura menores com a utilização de Aroeira do que com Metronidazol; os efeitos colaterais foram pouco frequentes e sem maior gravidade em ambos os grupos e continuam necessários novos estudos que melhor elucidem as inter-relações entre os achados microbiológicos e a expressão clínica da doença.

Palavras chaves: Vaginose Bacteriana, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*, Aroeira, Metronidazol gel vaginal.

ABSTRACT

RANDOMIZED CLINICAL TRIAL COMPARING THE EFFICACY BETWEEN METRONIDAZOL AND BRAZILIAN PEPPER TREE (SCHINUS) IN VAGINAL USE FOR THE TREATMENT OF BACTERIAL VAGINOSIS, WITH CLINICAL, EPIDEMIOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL PROFILE OF THE PARTICIPANT WOMEN BEFORE THE TREATMENT

This thesis is presented in the form of two articles, the aims of which were to compare two treatments for bacterial vaginosis, using metronidazole and the extract from the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) called Aroeira, both used vaginally, and to study the clinical, epidemiological and microbiological profiles of the participant women. The first article was a randomized double-blind clinical trial to compare both drugs as treatment for bacterial vaginosis, which was diagnosed using the criteria of Amsel and Nugent concomitantly. Intention-to-treat analysis was performed. From the total of 277 participant women, 137 were treated with the Brazilian pepper tree and 140 with metronidazole. From Amsel's criteria separately, 29 patients (21.2%) treated with the extract and 87 (62.1%) treated with metronidazole were considered cured ($p < 0.001$). From Nugent's score separately, 19 women (13.9%) treated with the extract and 79 (56.4%) treated with metronidazole were considered cured ($p < 0.001$). Taking the two criteria together, so-called total cure was seen in 17 women (12.4%) treated with the extract and 79 women (56.4%) treated with metronidazole ($p < 0.001$). The second article was a case series that studied the participants at the baseline. Culture swabs and Pap smears were also collected. The most frequent clinical complaints were the vaginal discharge, which was observed in 206 participants (74.4%), and fishy malodor, in 68.6% (190

participants). Vaginal cultures identified *Gardnerella vaginalis* in 96.8% and *Mobiluncus* in 53.1% of the cases. The presence of *Lactobacillus* was demonstrated in only one third of the patients (89 women – 32.1%). Concluding, the cure rate for bacterial vaginosis using vaginal gel from pepper tree extract was lower than the rate obtained using metronidazole gel, while side effects were infrequent and non-severe in both groups and new studies continue to be needed to elucidate the interactions between microbiological finds and the clinical expression of the bacterial vaginosis.

Keywords: Bacterial vaginosis, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*, Brazilian pepper tree, Metronidazole vaginal gel.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

TABELA 1: Comparação das características das pacientes tratadas para vaginose bacteriana com Aroeira e Metronidazol em uso tópico vaginal.	49
TABELA 2: Comparação da cura clínica e bacteriológica (Amsel e Nugent) de pacientes com vaginose bacteriana tratadas com aroeira e metronidazol em uso tópico vaginal.	50
TABELA 3: Comparação dos efeitos colaterais do tratamento para vaginose bacteriana com aroeira e metronidazol em uso tópico vaginal.	51
TABELA 4: Efeitos do tratamento para vaginose bacteriana com aroeira e metronidazol em uso tópico vaginal sobre o ecossistema vaginal.	52
FIGURA 1: Fluxograma de captação das pacientes e procedimentos	53

ARTIGO 2

TABELA 1: Características sociodemográficas e reprodutivas de pacientes com vaginose bacteriana	104
TABELA 2: Queixas clínicas em pacientes com vaginose bacteriana	105
TABELA 3: Critérios diagnósticos (Amsel e Nugent) em pacientes com vaginose bacteriana	106
TABELA 4: Microbiota vaginal em pacientes com vaginose bacteriana	107

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

CDC – Centers for Disease Control and Prevention

DIPA – Doença Inflamatória Pélvica Aguda

DIU – Dispositivo Intrauterino

HIV – Vírus da Imunodeficiência Adquirida Humana

IgA – Imunoglobulina A

IL – Interleucina

IMIP – Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira.

IST – Infecções Sexualmente Transmitidas

KOH – Hidróxido de Potássio

LPN – Leucócitos Polimorfonucleares

LT – Laqueadura tubárea

pH - Potencial hidrogeniônico

PIBIC - Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

VB – Vaginose Bacteriana

SUMÁRIO

PÁG

RESUMO

LISTA DE TABELAS

1-APRESENTAÇÃO..... 15

2-REVISÃO DA LITERATURA.....17

3-OBJETIVOS.....28

4-METODOLOGIA.....29

ARTIGO 1 - ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO COMPARANDO A EFICÁCIA ENTRE METRONIDAZOL E AROEIRA EM USO TÓPICO VAGINAL NO TRATAMENTO DA VAGINOSE BACTERIANA.....32

RANDOMIZED CLINICAL TRIAL COMPARING THE EFFICACY BETWEEN METRONIDAZOL AND BRAZILIAN PEPPER TREE (SCHINUS) IN VAGINAL USE FOR THE TREATMENT OF BACTERIAL VAGINOSIS.....59

ARTIGO 2 – PERFIL CLÍNICO, EPIDEMIOLÓGICO E MICROBIOLÓGICO DE MULHERES COM VAGINOSE BACTERIANA PARTICIPANTES DE UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO.....86

5-CONCLUSÕES.....111

6-REFERÊNCIAS.....112

APÊNDICES 1, 2 e 3

ANEXOS - APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA

1. APRESENTAÇÃO

Desde os tempos da Graduação, já existia o sonho de realizar um mestrado e um doutorado, porém pelas contingências da vida, a realização deste sonho só pode começar a ser concretizado em 1997, quando concluí o Mestrado em Saúde Materno Infantil no IMIP, àquela época Instituto Materno Infantil de Pernambuco. Desde então, vislumbrei a possibilidade de, quando estivesse no Doutorado, convidar o Professor Ricardo Ximenes para ser meu orientador, em virtude da grande admiração que aprendi a nutrir por ele, baseada em sua vasta bagagem cultural e em suas inúmeras qualidades humanas. Essa admiração foi iniciada muitos anos atrás, quando éramos residentes no Hospital Barão de Lucena, eu na Ginecologia e ele na Clínica Médica, e maximizada depois, quando foi meu professor no mestrado. Tinha a expectativa de que esta convivência tornaria possível não só a possibilidade de aprimorar meus conhecimentos em metodologia científica, como também a de evoluir como ser humano. Este sentimento tornou-se realidade quando fui aprovada na seleção para o doutorado em Medicina Tropical da UFPE, onde ele é professor e, após nossa longa convivência, nestes cinco anos, pude constatar que minhas expectativas foram totalmente satisfeitas e plenamente realizadas.

Quanto ao tema escolhido para o desenvolvimento do projeto, a ideia partiu de um primeiro ensaio clínico, realizado no IMIP, comparando a aroeira com placebo para tratamento de vaginose bacteriana, e que exigia, como próxima etapa, a necessidade de compará-la ao tratamento padrão-ouro para a vaginose, que ainda é o metronidazol. Como o referido trabalho anterior foi realizado pela minha amiga Prof. Melania Amorim, convidei-a para ser minha co-orientadora e me ajudar a percorrer este longo e árduo caminho. A partir daí elaborei o projeto, conduzi a pesquisa e depois de transpor todas as dificuldades e conseguir vencer os inúmeros obstáculos, consegui chegar, finalmente, ao fim da jornada,

com a conclusão desta tese e a sensação extremamente prazerosa do dever cumprido e, principalmente, de um sonho realizado.

2. REVISÃO DA LITERATURA

As três maiores causas de corrimento vaginal, que levam as mulheres à consulta ginecológica, são a candidíase, a trichomoníase e a vaginose bacteriana (Schwebke, 2003).

Vaginose Bacteriana (VB) é um distúrbio do ecossistema vaginal de etiologia polimicrobiana, onde há predomínio de microorganismos anaeróbios. Dentre as causas de corrimento é a mais frequentemente observada, sendo responsável por 40 a 50% dos casos. Cerca de metade das mulheres portadoras de VB são assintomáticas (Nyirjesy, 2008; Yudin, 2005; Sobel, 2005; CDC, 2002).

Caracteriza-se por descarga vaginal aumentada, fina e branca ou acinzentada, com odor fétido semelhante a peixe, que se acentua durante as menstruações e após o coito (Yudin, 2005).

Descrita inicialmente por Curtis em 1911, foi mais estudada em 1955, quando Gardner e Dukes isolaram o *Haemophilus vaginalis*, posteriormente renomeado *Gardnerella vaginalis*, em homenagem ao seu descobridor, que é o principal agente etiológico da Vaginose Bacteriana (Yudin, 2005).

O termo vaginose, ao invés de vaginite, indica a ausência de reação inflamatória observada nesta afecção, denotando escassa presença de leucócitos. É denominada bacteriana porque não se observam fungos ou parasitas como fatores causais (Zamith et al, 2003; Rio, 2001).

A proliferação de bactérias como *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Peptoestreptococcus sp*, *Mobiluncus sp* e *Bacteróides sp e fragilis*, pouco frequentes na microbiota vaginal normal, determinam redução acentuada dos

Lactobacillus ou *Bacilos de Doderlein* e elevação do pH vaginal acima de 4,5, propiciando o surgimento dos sintomas observados (O'Brien, 2005; Donders et al, 2000; Hay, 1998).

Com o estímulo estrogênico da puberdade, a concentração de *Bacilos de Doderlein* da vagina aumenta, chegando a 95% do total de bactérias, tornando o pH ácido devido ao ácido láctico produzido por estes microorganismos e ao conteúdo de glicogênio das células epiteliais. Depois da menopausa, eles gradualmente desaparecem (O'Brien, 2005; Schwebke, 2003; Taylor-Robinson & Hay, 1997; Klebanoff *et al.*, 1991).

Os lactobacilos produtores de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) mostram, *in vitro*, capacidade de inibir várias bactérias, incluindo-se entre elas a *Gardnerella vaginalis*, os anaeróbios e a *Neisseria gonorrhoeae* (Yudin, 2005). Essa capacidade inibitória desaparece com o aumento do pH para 7,0, sugerindo que a elevação do pH vaginal que ocorre, por exemplo, devido a relações sexuais desprotegidas, uso de duchas vaginais e a própria menstruação, pode permitir o crescimento dos organismos anaeróbios. Existe a hipótese de que o peróxido de hidrogênio pode proteger contra a infecção por HIV, tendo já sido comprovado o efeito inibidor *in vitro* (Atashili et al, 2008, Klebanoff & Coombs, 1991). Mulheres de países com elevada frequência de HIV-AIDS, como Uganda, apresentam prevalência de VB superior a 50% (Sewankambo *et al.*, 1997).

O predomínio das bactérias responsáveis pela VB é acompanhado por aumento na produção de aminas derivadas do metabolismo bacteriano (cadaverina, putrescina e trimetilamina). Com o pH elevado, as aminas se volatizam, liberando odor de peixe podre ou de amônia. Há diminuição da produção dos ácidos orgânicos (ácidos láctico e acético) e aumento dos ácidos succínico e butírico. As aminas e os ácidos orgânicos têm ação citotóxica, determinando o corrimento (Zamith et al, 2003).

O decréscimo do número de lactobacilos, particularmente os produtores de H₂O₂ (principalmente *L. crispatus* e *L. jensenii*), parece ser o maior fator para o aparecimento de complicações associadas com a VB (Wilson, 2004; Schwebke, 2003). Como complicações da VB, devido à ascensão de bactérias anaeróbias ao trato genital superior, podem ocorrer endometrites, doença inflamatória pélvica aguda (DIPA) e infecções pós-cirúrgicas, como a celulite de cúpula vaginal pós-histerectomia (Schwebke, 2003; Hay, 1998; Hay et al, 1997). A VB tem sido também relacionada com as displasias cervicais. As neoplasias intraepiteliais cervicais são significativamente mais comuns entre as mulheres com VB, levantando a hipótese de que a VB possa ser um co-fator no desenvolvimento do câncer de colo uterino (Verteramo et al, 2009, Klomp et al, 2008, Schwebke, 2003). Durante a gravidez determinam abortamentos infectados, corioamnionites, amniorrexe prematura, parto pré-termo, endometrites e infecções de parede pós-cesárea (CDC, 2006; Carvalho et al, 2001; Gravett, et al, 1986).

Estudos mostram que um dos maiores fatores de risco para VB é o uso de DIU. Outros fatores predisponentes seriam novos ou múltiplos parceiros sexuais, o uso de duchas vaginais, sexo oral, sexo durante as menstruações, entre outros (Nyirjesy, 2008; O'Brien, 2005). Ainda não está definitivamente estabelecido, se a VB é ou não transmitida pelo coito. Entre as evidências contrárias, citam-se o achado de VB em mulheres virgens e o fato da frequência das recidivas e recorrências não serem afetadas pelo tratamento dos parceiros (CDC, 2006; Rio, 2001). O uso de métodos de barreira e anticoncepcionais orais parece proteger contra a VB (Sobel, 2005; Rio, 2001).

Significante progresso tem sido feito no entendimento dos aspectos imunológicos da Vaginose Bacteriana. Cauci e colaboradores, em 1993, identificaram uma IgA específica para *Gardnerella vaginalis*. Platz-Christensen identificaram altos níveis de citocina pró-

inflamatória IL-1 α no conteúdo vaginal de mulheres portadoras de VB. Estudos subsequentes demonstraram também níveis de 10 a 20 vezes maiores de IL-1 β nestas mulheres. A citocina IL-8, um potente quimioestático e o fator ativador dos leucócitos polimorfonucleares (LPN), em geral, não estão aumentados na VB e podem explicar a ausência dos LPN nesta patologia (Sobel, 2005).

A VB é uma síndrome que pode ser diagnosticada clínica e microbiologicamente (Yudin, 2005). Como critérios diagnósticos clínicos, utilizam-se os Critérios de Amsel (Amsel et al, 1983). Os critérios descritos por Amsel incluem: as características do corrimento genital, o pH maior que 4,5, a positividade do teste das aminas (*whiff test*) e a presença de células-guia na bacterioscopia (exame a fresco ou esfregaço corado pelo Gram). A presença de três destes critérios apresenta sensibilidade e especificidade superiores a 90% no diagnóstico da vaginose bacteriana (Plourd, 1997; Amsel et al, 1983).

A queixa mais frequentemente observada é o corrimento aderente e homogêneo, com odor desagradável. A presença de menstruação e de sêmem, por serem alcalinos, causam piora do quadro. Ao exame ginecológico não se observam modificações, sendo o colo uterino, a vagina e a vulva normais (Zamith et al, 2003). Sintomas como irritação e prurido vulvar estão ausentes (Rio, 2001).

O pH vaginal maior que 4,5 pode ser demonstrado utilizando-se um papel de pH em contato com o fluido vaginal. A elevação do pH é o critério mais sensível, porém o menos específico para VB, pois pode ser influenciado por sangramento vaginal, duchas e coito recente (Yudin, 2005; Rio, 2001).

O teste das aminas é realizado com a adição de hidróxido de potássio (KOH) a 10% sobre uma gota de conteúdo vaginal. Com a liberação das aminas surge odor característico de peixe (Yudin, 2005; Rio, 2001).

A microscopia pode ser realizada a fresco ou corada pelo Gram, Papanicolaou ou azul brilhante de cresil a 1%. Observam-se escassez de lactobacilos e de leucócitos, alterações nucleares e presença de células-guia (*clue cells*) em mais de 20% das células epiteliais. As células-guia são células do epitélio escamoso, intensamente parasitadas pelas *Gardnerellas*, que se aderem às suas superfícies, tornando seus contornos pouco nítidos (Zamith et al, 2003). Embora largamente utilizados, os critérios de Amsel sofrem críticas em virtude de sua subjetividade (aparência do corrimento e odor exalado) ou dificuldade técnica (demonstração das células-guia) (Yudin, 2005).

A coloração pelo Gram de esfregaço do conteúdo vaginal, seguindo os critérios desenvolvidos por Nugent e colaboradores, em 1991 (Quadro), é o método mais utilizado e avaliado em pesquisas para o diagnóstico da VB, sendo considerado padrão-ouro. (Yudin, 2005; O'Brien, 2005).

Quadro: Critérios de Nugent

Escore para Esfregaços corados pelo Gram (0 a 10)			
	Morfotipos de <i>Lactobacilos</i> (bacilos Gram pos)	Morfotipos de <i>Gardnerella e Bacteroides</i> (bacilos curtos Gram variáveis)	Bacilos curvos <i>(Mobiluncus)</i> (Gram neg ou variáveis)
Escore	A	B	C
0	4+	0	0
1	3+	1+	1+ou2+
2	2+	2+	3+ou4+
3	1+	3+	
4	0	4+	
Escore = A+B+C			

Os tipos morfológicos são quantificados de 1+ a 4+ de acordo com o número deles por campo. O escore permite uma gradação de severidade. Considera-se Vaginose Bacteriana com escore 7 ou acima de 7. Um escore de 4 a 6 é considerado intermediário e um escore de 0 a 3 é considerado normal (Schwebke et al, 1996; Nugent et al, 1991).

Pode haver grande variabilidade intraobservador e interobservador na interpretação do Critério de Nugent. Em estudo realizado por Mazulli e colaboradores, os autores demonstraram Índices de Kappa acima de 0,7 para a identificação dos lactobacilos, *G. vaginalis* e células-guia, por três microbiologistas (Mazulli, 1990).

Embora os esfregaços corados pelo Gram tenham alta sensibilidade e alta especificidade não são facilmente disponíveis e permanecem sendo utilizados em pesquisas e para confirmação do diagnóstico (Sobel, 2005). O Escore de Nugent tem alta sensibilidade (>90%), mas baixa especificidade (70 a 90%) quando comparado com o Critério de Amsel (Birley et al, 2002).

A colpocitologia oncótica e a cultura qualitativa de conteúdo vaginal não se mostram adequadas para o diagnóstico de VB, já que apenas a identificação da presença dos microorganismos não firma o diagnóstico, por estarem presentes também em pacientes assintomáticas (Hay, 1998; Plourd, 1997). A cultura em meio de Cassman, para *Gardnerella vaginalis*, é feita apenas em casos selecionados, porque não é específica (CDC, 2002).

O tratamento convencional recomenda como droga de primeira escolha o metronidazol. Os esquemas preconizados utilizam metronidazol 500mg, duas vezes ao dia, via oral, durante sete dias ou metronidazol gel 0,75% intravaginal, em uma aplicação diária por cinco dias ou clindamicina creme a 2%, em uso vaginal por sete dias (CDC, 2006; CDC, 2002).

O metronidazol por via oral é bastante eficaz, porém apresenta efeitos colaterais significativos, como anorexia, desconforto gástrico e gosto metálico na boca. Outros efeitos mais raros são descritos, como convulsões, neuropatia periférica, leucopenia e neutropenia, obrigando a paciente a interromper as tomadas antes do término do tratamento. Há interação com o álcool, por inibição da enzima álcool-desidrogenase (efeito tipo antabuse). Pode ainda potencializar anticonvulsivantes e anticoagulantes warfarínicos (Zamith et al, 2003). Para promover a redução dos efeitos colaterais, principalmente os gastrointestinais, tem-se indicado o metronidazol em tratamentos tópicos intravaginais.

O tratamento da vaginose bacteriana tem sido motivo de preocupação, porque estudos têm demonstrado índices de cura de 60-70%, sendo que 20 a 30% apresentarão recidiva dentro de três meses (CDC, 2006). A via de administração vaginal é mais associada com a candidíase pós-tratamento (10 a 30%) (Sobel, 2005). A eficácia da clindamicina creme é inferior aos regimes com metronidazol (CDC, 2002) e o tinidazol não foi ainda testado comparativamente ao metronidazol para tratamento da VB (Johnson, 2009).

Na gestação, a dose do metronidazol deve ser 250mg via oral, três vezes ao dia, também por sete dias. Havia a preocupação com possível teratogenicidade do metronidazol, sugerida por alguns estudos em animais, porém várias metanálises apontaram ser seu uso seguro na gravidez (CDC, 2006; Lamont et al, 2003; CDC, 2002; Burtin et al, 1995; Piper et al, 1993).

Outra opção terapêutica é a clindamicina oral, utilizada na dose de 300mg, duas vezes ao dia, durante sete dias, que pode ser utilizada na mulher não grávida, mas tem sua principal indicação no primeiro trimestre da gravidez (CDC, 2002). A clindamicina em óvulos está associada com significativo desenvolvimento de resistência das bactérias anaeróbias (O'Brien, 2005).

Todas as mulheres que apresentem sintomas de vaginose bacteriana devem ser tratadas, incluindo-se as gestantes, para alívio dos sintomas, redução do risco de complicações infecciosas pós-aborto e histerectomia e também de adquirir outras infecções como HIV e outras IST (CDC, 2006). As evidências disponíveis hoje não autorizam o uso de tratamentos tópicos na gestação. Pacientes portadoras do HIV devem utilizar esquema semelhante às soronegativas (CDC, 2002).

Existem controvérsias quanto ao tratamento, ou não, das mulheres portadoras de VB assintomáticas. São prudentes a investigação pré-operatória e o tratamento prévio à cirurgia ginecológica (Rio, 2001). Alguns autores preconizam o tratamento, em virtude da impossibilidade de prever se a afecção evoluirá para cura espontânea ou para doença clinicamente manifesta (Zamith et al, 2003). Na gravidez, os dados da literatura têm sido a favor do tratamento de todas as gestantes portadoras, a partir do primeiro trimestre (Rio, 2001).

O grande problema de medicações antibióticas ou quimioterápicas como as acima citadas é que, embora efetivas na erradicação dos anaeróbios, com taxas elevadas de cura clínica e microbiológica, elas não atuam no sentido de melhorar a microbiota vaginal. Na verdade, o uso destas drogas pode inclusive piorar o ecossistema vaginal, uma vez que, além das bactérias patogênicas, destroem também os lactobacilos naturais, importantes mecanismos de defesa contra infecções (Amorim e Santos, 2003). Estes efeitos parecem ocorrer pela ação das medicações sobre os lactobacilos, modificando o meio vaginal e determinando falha ou retardo na restauração da microbiota normal (Drago et al, 2007).

Vários trabalhos têm avaliado o uso de supositórios contendo lactobacillus para uso intravaginal, na tentativa de restaurar a microbiota vaginal, porém ainda sem resultados satisfatórios (CDC, 2006).

Existe uma espécie de planta medicinal, o *Schinus terebinthifolius* Raddi, popularmente conhecida como Aroeira da Praia, encontrada em terrenos arenosos desde o Nordeste até o Rio Grande do Sul, que é muito utilizada pela população no tratamento de infecções, com as propriedades: adstringente, cicatrizante, anti-inflamatória e antialérgica, além de outras (Simões, 1988; Correia, 1978). É bastante disseminado o emprego do chá da casca do caule, que pode ser ingerido, aplicado em compressas sobre a pele ou utilizado em banhos de assento (Matos, 1994).

Nos anos 90, pesquisas demonstraram as propriedades antimicrobianas da Aroeira in vitro, comprovando sua atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacterioides subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, diversos vírus e alguns fungos. (Martinez et al, 1996; Furones Mourelle, 1993).

Múltiplos mecanismos de ação têm sido descritos para a aroeira, como a inibição da fosfolipase A2 e a presença de biflavonóides precursores dos taninos, ambos conferindo-lhe

atividade anti-inflamatória não esteróide, além de ação antimicrobiana conferida pela presença de terebinthona, do ácido hidroximasticadienóico, do ácido terebinthifólico e do ácido ursólico (Furones Mourelle, 1993).

Na prática dos ginecologistas, é raro encontrarem-se cervicites ou colpites em mulheres usuárias de aroeira. Há aparente melhora da microbiota vaginal com redução na proporção de microorganismos patogênicos e aumento dos bacilos de Doderlëin. No entanto, apesar do uso consagrado pela população e da observação empírica dos profissionais, poucos ensaios clínicos foram realizados em seres humanos e há ausência de estudos controlados que comprovem estas propriedades (Santos e Amorim, 2002).

Desde 1999 existe no mercado farmacêutico brasileiro um gel vaginal contendo Aroeira (*Shinus terebinthifolius* Raddi), com nome comercial de KRONEL® - Laboratório HEBRON.

Em sequência ao estudo preliminar realizado no ano 2000 (Santos e Amorim, 2002), onde se observou percentual de 80% de cura em mulheres portadoras de Vaginose Bacteriana que utilizaram gel de aroeira, foi publicado no ano seguinte, um Ensaio Clínico Randomizado (Amorim e Santos, 2003), onde foi ratificada taxa de cura de 84% em pacientes com vaginose sintomática, tratadas com aplicação tópica vaginal de aroeira contra 47,8% de cura com a utilização do placebo. Este último estudo apresentou algumas limitações, como o número reduzido de participantes, o fato de não serem realizadas culturas de conteúdo vaginal e a não determinação da taxa de recorrência.

Ficou demonstrada a necessidade da realização de novos ensaios clínicos comparando o emprego das medicações convencionais com a aroeira, tanto em termos de eficácia, como de segurança, avaliando-se os efeitos colaterais e o impacto sobre o ecossistema vaginal.

Considerando os diversos mecanismos de ação e os resultados acima descritos de ensaios clínicos preliminares, é plausível formular a hipótese de que a medicação em forma de gel da Aroeira possa também atuar efetivamente no controle da VB, reduzindo a população anaeróbia da vagina e eliminando os sintomas decorrentes sem, todavia, prejudicar a microbiota endógena. É mesmo possível que, ao contrário, a microbiota vaginal seja restaurada, com o predomínio dos lactobacilos e a recuperação do pH. Apesar de nunca ter sido descrito seu uso com esta indicação na literatura médica corrente, os índices de cura podem ser semelhantes aos obtidos pelo tratamento convencional, e teoricamente pode-se esperar uma menor taxa de recidivas. Pelo mesmo motivo, poderia ser esperada uma menor frequência de candidíase vaginal após tratamento, uma vez que o ecossistema estaria em reequilíbrio.

O presente estudo visou comparar a frequência de cura e os efeitos sobre o ecossistema vaginal de dois tratamentos para Vaginose Bacteriana utilizando-se aroeira e metronidazol em aplicação vaginal e descrever o perfil clínico, epidemiológico e microbiológico de mulheres portadoras de vaginose bacteriana.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Comparar a frequência de cura e os efeitos sobre o ecossistema vaginal de dois tratamentos para Vaginose Bacteriana utilizando-se aroeira e metronidazol em aplicação vaginal e descrever o perfil clínico, epidemiológico e a microbiota das mulheres portadoras de VB.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Em pacientes com vaginose bacteriana submetidas a tratamento com gel vaginal de metronidazol ou aroeira:

Desfecho primário:

1. Comparar a frequência de cura clínica e bacteriológica (critérios de Amsel e Nugent).

Desfechos secundários:

1. Comparar os efeitos dos dois tratamentos sobre o ecossistema vaginal, avaliando-se a presença e a frequência das bactérias encontradas nas culturas de conteúdo vaginal.
2. Comparar os efeitos dos dois tratamentos sobre o ecossistema vaginal, avaliando-se a frequência da presença de lactobacilos em colpocitologias.
3. Descrever a frequência de efeitos colaterais.
4. Descrever os aspectos clínicos, epidemiológicos e a microbiota das mulheres com vaginose bacteriana.

4. METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada no Ambulatório da Mulher do Centro de Atenção à Mulher do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP). Foi realizado um ensaio clínico randomizado duplamente mascarado comparando aroeira e metronidazol para tratamento da vaginose bacteriana. Foram critérios de inclusão, a saber: mulheres com idade entre 18 e 40 anos e que apresentassem corrimento genital que preenchesse, concomitantemente, os critérios de Amsel e Nugent. Como critérios de exclusão foram selecionados: mulheres com atraso menstrual ou gravidez confirmada, pacientes utilizando medicação antibiótica concomitante para outro fim ou com história de tratamento prévio (para qualquer outra doença, com medicação tópica ou sistêmica) ou terapia alternativa no último mês, pacientes com integridade himenal, mulheres portadoras de outras infecções vaginais (candidíase ou tricomoniase) e mulheres com história sugestiva de Doença Inflamatória Pélvica Aguda (DIPA).

Os tratamentos utilizados para uso vaginal foram o METRONIDAZOL gel a 0,75% ou AROEIRA gel, que consiste da mistura do extrato hidro-alcoólico do *Schinus terebinthifolius Raddi* com gel de carbopol (01 grama), glicerina (10 gramas), benzoato de sódio (0,0175 gramas), bissulfito de sódio (0,125 gramas), trietanolamina qsp (pH 4,0-5,0) e água destilada (2,5 gramas), ambas fabricadas similares em aspecto, volume, coloração e pH, em bisnagas de 60g,

O tamanho da amostra foi calculado para comparar a eficácia entre os dois tratamentos. O cálculo do tamanho da amostra foi realizado no programa Statcalc, do Epi-Info 6.04d. Prevendo-se uma taxa de cura clínica de 85% para o grupo tratado com metronidazol (Sweet, 1993) e uma diferença de 15% (taxa de cura de 70%) para o grupo

tratado com gel de aroeira, com um nível de confiança de 95% e um poder de 80%, seriam necessárias 266 pacientes, 133 em cada grupo.

As pacientes foram atendidas, ambulatorialmente, por um médico-assistente e dois estudantes do PIBIC, participantes do projeto. Antes da propedêutica diagnóstica foi colhido material para a realização de citologia vaginal (Papanicolaou) e cultura de conteúdo vaginal. As mulheres que tiveram diagnóstico de vaginose bacteriana pelos critérios de Amsel e Nugent concomitantemente, foram encaminhadas para a entrevista com a auxiliar de pesquisa, enquanto as que apresentaram infecções vaginais por outros agentes foram tratadas e liberadas. Na entrevista foram apresentados às pacientes os objetivos do projeto e as que concordaram em participar, após o esclarecimento, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Às participantes, neste momento foi aplicado um questionário estruturado com informações sociodemográficas e reprodutivas e fornecida uma caixa contendo a medicação (metronidazol ou aroeira) previamente numerada segundo lista de números randômicos, gerada em computador (programa Epi-Table, Epi-Info 6.04b) e somente conhecida por auxiliar remoto responsável pela preparação da medicação. Aquelas que não concordaram em participar receberam metronidazol oral e foram liberadas.

Foi preconizada a utilização do gel (metronidazol ou aroeira) em aplicações vaginais de 6g, à noite ao deitar, durante sete noites consecutivas. Cada paciente foi orientada a iniciar o medicamento naquela mesma noite e não ter relações na vigência do uso da medicação. Foi solicitado retorno para nova consulta entre 07 e 14 dias para verificação do aparecimento de efeitos colaterais e adesão ao tratamento. As mulheres que não retornaram neste período foram, nos três dias subseqüentes, contatadas por telefone ou telegrama. Para as mulheres que compareceram, nova consulta foi agendada para depois da menstruação seguinte, quando foi verificada a cura ou não da vaginose, sendo repetida toda a propedêutica da primeira

consulta. As pacientes que não retornaram dentro de 20 a 30 dias, a partir da primeira consulta de retorno, ou não se comunicaram com a equipe foram, nos três dias subsequentes, contatadas por telefone ou telegrama. Se ainda assim não compareceram, foi feita busca ativa aos domicílios.

Às pacientes que não obtiveram cura pelos dois critérios, foi fornecido metronidazol oral, duas tomadas ao dia, por sete dias.

Os dados obtidos foram digitados em dois bancos específicos gerados no programa Epi-Info 3.32 para Windows, pela pesquisadora e outro digitador. Ao término da digitação os dois bancos foram comparados utilizando-se o programa VALIDATE, e feita uma análise de consistência, com correção dos erros encontrados. A versão definitiva do banco de dados foi então utilizada para análise estatística. A análise dos dados foi efetuada utilizando-se o programa Epi-Info 3.32. Foi testada a randomização da amostra pela avaliação dos potenciais fatores de confusão. Para comparar as frequências dos desfechos entre os grupos de intervenção foi utilizado o teste qui-quadrado e calculada a Razão de Risco e o Intervalo de Confiança a 95%, para os desfechos primário e secundários de acordo com o tipo de tratamento. A paciente foi sempre considerada pertencente ao grupo original ao qual pertencia na randomização, independente de ter ou não completado o tratamento (Análise por Intenção de Tratar).

O presente estudo obedeceu aos postulados da Declaração de Helsinque e às recomendações da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. O projeto inicial foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IMIP (Projeto Nº 935) e a inclusão dos sujeitos na pesquisa só se deu após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

ARTIGO 1

ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO COMPARANDO A EFICÁCIA ENTRE METRONIDAZOL E AROEIRA EM USO TÓPICO VAGINAL NO TRATAMENTO DA VAGINOSE BACTERIANA

Randomised clinical trial comparing the efficacy between metronidazol and Schinus terebinthifolius (Aroeira) in vaginal use for the treatment of bacterial vaginosis.

Sonia Regina Ribeiro de Figueiredo Leite¹
Melania Maria Ramos de Amorim²
Priscylla de Fátima Batista Sereno³
Tessália Natasha de Figueiredo Leite⁴
Jacqueline Andresa Coelho Ferreira⁵
Ricardo Arraes de Alencar Ximenes⁶

Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira-Recife (PE), Brasil

¹Pós-graduanda (Doutorado) em Medicina Tropical pela Universidade Federal de Pernambuco –UFPE- Recife- PE

² Professora de Pós-graduação em Saúde Materno-Infantil Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP –Recife –PE; Pesquisadora do Instituto de Pesquisa Professor Joaquim Amorim Neto – IPESQ – Campina Grande – (PB) – Brasil.

³Biomédica do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP –Recife -PE

⁴Psicóloga Clínica

⁵ Estudante da Escola Pernambucana de Medicina – FBV-IMIP. Bolsista PIBIC.

⁶ Prof. Doutor do Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical - Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife – PE.

Artigo foi submetido ao Brazilian Journal of Medical and Biological Research

Registro do Ensaio Clínico: ISRCTN18987156

Correspondência:

Sonia Regina Ribeiro de Figueiredo Leite
Rua Félix de Brito e Melo, 854, apt.1302
CEP 51020-260 – Recife(PE)- Brasil
Fone: (81)3465-3900
Email: soniarfigueiredo@uol.com.br

RESUMO

Foi realizado um ensaio clínico randomizado, duplo cego, comparando a eficácia da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e do metronidazol, em uso vaginal, para tratamento da vaginose bacteriana diagnosticada, concomitantemente, pelos critérios de Amsel e Nugent, por 140 e 137 mulheres distribuídas em cada grupo respectivamente. Foi feita análise por intenção de tratar. Na avaliação de cura, quando aplicado o critério de Amsel separadamente, foi observada cura em 29 pacientes (21,2%) que utilizaram aroeira e 87 (62,1%) que usaram metronidazol ($p<0,001$) enquanto que, com o Escore de Nugent utilizado isoladamente, foram consideradas curadas 19 mulheres (13,9%) do grupo da aroeira e 79 (56,4%) do grupo do metronidazol ($p<0,001$). Quando observados os dois critérios concomitantemente, a chamada Cura Total foi observada em 17 pacientes no grupo da aroeira, o que correspondeu a 12,4% do total e em 79 mulheres (56,4%) tratadas com metronidazol ($p<0,001$). Efeitos adversos estiveram presentes em 20 mulheres (14,8%) no grupo de aroeira e em 21 mulheres (15,7%) no grupo que utilizou metronidazol, não sendo a diferença estatisticamente significativa ($p=0,84$). Como conclusões podemos apontar que os índices de cura de Vaginose Bacteriana com a utilização do gel vaginal de aroeira foram mais baixos que os obtidos com metronidazol gel e os efeitos colaterais foram pouco frequentes e sem gravidade, em ambos os grupos. A aroeira, em uso tópico vaginal, não conseguiu preencher a lacuna existente no tratamento da vaginose bacteriana, continuando necessária a realização de novas pesquisas em busca de novos tratamentos, mais eficazes e que proporcionem menores índices de recorrência.

Palavras chaves: Vaginose Bacteriana, *Gardnerella vaginalis*, Aroeira, Metronidazol gel vaginal.

INTRODUÇÃO

Vaginose Bacteriana (VB) é um distúrbio do ecossistema vaginal de etiologia polimicrobiana, onde há predomínio de microorganismos anaeróbios e redução acentuada dos *Lactobacillus* ou *Bacilos de Doderlëin* (1). É a mais frequente causa de corrimento vaginal, observada em 22% a 50% dos casos, sendo metade das mulheres portadoras assintomáticas (2-4). Está associada com complicações obstétricas e ginecológicas como doença inflamatória pélvica, endometrite, infecção urinária e síndrome de imunodeficiência adquirida (5).

Estudos mostram que um dos maiores fatores de risco para VB é o uso de DIU (1,6). Outros fatores predisponentes seriam novos ou múltiplos parceiros sexuais, o uso de duchas vaginais, sexo oral, sexo durante as menstruações (1,2). O uso de métodos de barreira e anticoncepcionais orais parece proteger contra a VB (4).

No tratamento fora da gestação é recomendado o uso de metronidazol em esquemas de 500mg, duas vezes ao dia, via oral, durante sete dias ou metronidazol gel 0,75% intravaginal, em uma aplicação diária por cinco dias (6). Os esquemas utilizando metronidazol, oral ou vaginal, têm eficácias semelhantes, variando de 80 a 90% em diferentes estudos (3).

O grande problema de medicações antibióticas ou quimioterápicas é que, embora eficazes na erradicação dos anaeróbios, com taxas elevadas de cura clínica e microbiológica, elas não melhoram ou podem até determinar alterações importantes da microbiota vaginal (7). Os tratamentos padronizados apresentam diversos efeitos indesejados, tais como desenvolvimento de resistência bacteriana e alta taxa de recidivas após o primeiro mês de tratamento (8). Estes efeitos parecem ocorrer pela ação das medicações sobre os lactobacilos, modificando o ecossistema vaginal e determinando falha ou retardo na restauração da microbiota normal (9).

O *Schinus terebinthifolius* Raddi é uma planta, popularmente conhecida como Aroeira da Praia, encontrada no litoral do Brasil, com propriedades adstringente, cicatrizante, antiinflamatória e antialérgica (10). Em uso ginecológico há aparente melhora da microbiota vaginal com redução na proporção de microorganismos patogênicos e aumento dos bacilos de Doderlêin (11). Desde 1999 foi lançado no mercado farmacêutico brasileiro um gel vaginal contendo Aroeira (*Shinus terebinthifolius* Raddi), com nome comercial de KRONEL® - Laboratório HEBRON.

Em 2003, um ensaio clínico randomizado demonstrou uma taxa de cura de 84% em pacientes com vaginose sintomática, tratadas com aplicação tópica vaginal de aroeira contra 47,8% de cura com a utilização do placebo (7). As limitações metodológicas observadas no estudo como: reduzido número de mulheres participantes (48 pacientes), não ter sido realizada pesquisa da microbiota vaginal com cultura de secreção vaginal, nem antes, nem após o tratamento e o diagnóstico ser baseado apenas no critério de Amsel, demonstraram a necessidade de realização de novos ensaios clínicos, comparando o emprego das medicações convencionais com a aroeira, tanto em termos de eficácia, como de segurança, avaliando-se os efeitos colaterais e o impacto sobre o ecossistema vaginal.

O presente estudo pretendeu então preencher parte das lacunas existentes, quando comparou a eficácia de dois tratamentos para vaginose bacteriana utilizando aroeira e metronidazol em aplicação vaginal.

MÉTODOS

Foi realizado um ensaio clínico randomizado, duplo cego, comparando aroeira e metronidazol para tratamento de vaginose bacteriana, em mulheres atendidas no Ambulatório da Mulher do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) – Recife, Brasil, no período de julho de 2007 a dezembro de 2008. Participaram do estudo 277 mulheres que preencheram os critérios de inclusão, a saber: idade entre 18 e 40 anos e presença de vaginose bacteriana diagnosticada, concomitantemente, pelos critérios de Amsel e Nugent (12, 13). Foram excluídas as mulheres que apresentaram atraso menstrual ou gravidez já diagnosticada, que estivessem utilizando ou tivessem utilizado qualquer medicação (tópica ou sistêmica), principalmente antimicrobianos, nos trinta dias prévios ao início da pesquisa, que fossem portadoras de outras infecções vaginais (candidíase ou tricomoníase), que apresentassem integridade himenal ou relatassem história sugestiva de doença inflamatória pélvica aguda.

Foi considerada caso de vaginose bacteriana a paciente que apresentasse três ou mais critérios clínicos, segundo Amsel e, ao mesmo tempo, escore ≥ 7 pelo critério de Nugent. Clinicamente, os critérios avaliados foram: corrimento genital branco ou acinzentado, pH maior que 4,5, positividade do teste das aminas (*whiff test*) ou presença de 20% ou mais de células-guia em lâmina corada pelo Gram. Na avaliação bacteriológica, deveria apresentar um escore ≥ 7 , relativo ao somatório dos morfotipos bacterianos encontrados em esfregaço da secreção vaginal corado pelo Gram e analisado seguindo os critérios desenvolvidos por Nugent e colaboradores (1, 13, 14).

Os tratamentos utilizados para uso vaginal foram o METRONIDAZOL gel a 0,75% (colorido artificialmente para assemelhar-se à Aroeira) ou AROEIRA gel, que consiste da mistura do extrato hidro-alcoólico do *Schinus terebinthifolius Raddi* com gel de carbopol (01

grama), glicerina (10 gramas), benzoato de sódio (0,0175 gramas), bissulfito de sódio (0,125 gramas), trietanolamina qsp (pH 4,0-5,0) e água destilada (2,5 gramas), ambas fabricadas pelo Laboratório Hebron, similares em aspecto, volume, coloração e pH, em bisnagas de 60g, numeradas segundo lista de números randômicos previamente gerada em computador (programa Epi-Table, Epi-Info 6.04b) e somente conhecida por auxiliar não participante da equipe e responsável apenas pela preparação da medicação.

Após confirmação do diagnóstico, feito em exame ginecológico pelo médico participante do projeto, as pacientes que concordaram em participar responderam a questionário estruturado e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, em entrevista com auxiliar de pesquisa, sendo a seguir randomizadas nos dois grupos de tratamento. As mulheres foram orientadas a utilizar o gel à noite, ao deitar, durante sete noites consecutivas, a partir daquela data.

Na consulta inicial foram também colhidos três swabs para cultura de secreção vaginal e lâmina do colo uterino para citologia de Papanicolaou. O material foi semeado nos meios de Thayer Martin (gonococo), Sabouraud (fungos), Diamond (trichomonas) e Agar-sangue (anaeróbios). Foram também realizadas as dosagens de uréia, sacarose, maltose, glicose e lactose da secreção. Não foram procedidas culturas em meios específicos para Gardnerella e Mycoplasma.

O primeiro retorno foi agendado entre sete e 14 dias. Nele as mulheres foram interrogadas sobre a ocorrência de ardor, queimação, assadura, inchação, vermelhidão, ferida, coceira e sangramento, considerados possíveis efeitos adversos observados durante o uso da medicação, e também foram conferidos os aplicadores usados, que elas deveriam trazer em saco plástico fornecido, para verificação do cumprimento da prescrição.

Um segundo e último retorno foi aprazado para depois da menstruação seguinte,

quando novo exame ginecológico foi realizado pelo médico e quando foram repetidos os exames realizados na consulta inicial. Foram consideradas curadas as mulheres que apresentaram menos de dois critérios diagnósticos de Amsel e escore de Nugent menor do que sete. As pacientes não curadas receberam metronidazol oral. Em ambas as oportunidades, nos casos em que as pacientes não retornaram à consulta agendada, foram tentados contatos telefônicos iniciais, seguidos de envio de aerogramas e, quando não era obtido sucesso, foi feita busca ativa em suas residências.

O tamanho da amostra foi calculado para comparar a eficácia entre os dois tratamentos. Prevendo-se uma taxa de cura clínica de 85% para o grupo tratado com metronidazol (15) e uma diferença de 15% (taxa de cura de 70%) para o grupo tratado com gel de aroeira, com um nível de confiança de 95% e um poder de 80%, o tamanho de amostra estimado foi de 266 pacientes, 133 em cada grupo.

A análise dos dados foi efetuada por Intenção de Tratamento utilizando-se o programa Epi-Info 3.32. Para comparar as frequências dos desfechos entre os grupos de intervenção, foi utilizado o teste qui-quadrado, sendo estimada a frequência do desfecho em cada um dos grupos. Foram calculados a Razão de Risco e o Intervalo de Confiança a 95% para os desfechos primário e secundários.

O presente estudo obedeceu aos postulados da Declaração de Helsinque e às recomendações da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. O projeto inicial foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IMIP.

RESULTADOS

Ao todo, foram recrutadas 462 mulheres para o estudo, das quais 185 foram excluídas por não preencherem os critérios de inclusão ou exclusão, sendo as restantes 277, distribuídas aleatoriamente nos dois grupos de tratamento. Duas pacientes, logo após a randomização, ao receberem a medicação e tomarem conhecimento da possibilidade do conteúdo da bisnaga ser qualquer uma das medicações a serem testadas, informaram serem alérgicas à aroeira, sendo então tratadas com metronidazol oral. Para comparação da frequência de cura e dos efeitos sobre o ecossistema vaginal dos dois tratamentos, foi feita análise por intenção de tratar, com inclusão de todas as mulheres randomizadas. Do total de 277 participantes, 137 mulheres foram tratadas com gel vaginal contendo Aroeira e 140 tratadas com Metronidazol (Figura 1). Compareceram à última consulta, tendo feito o tratamento completo segundo protocolo da pesquisa, 264 pacientes, que foram analisadas quanto à eficácia na cura entre os grupos de tratamento.

Não houve diferença entre os dois grupos com relação à idade, escolaridade, estado civil, vida sexual ativa durante o período da pesquisa e queixas clínicas informadas, indicando que a randomização foi efetiva quanto à distribuição dos potenciais fatores de confundimento entre os dois grupos (Tabela 1). Com referência ao uso de anticoncepcional, como a distribuição de frequências mostrou pequena diferença entre os grupos de tratamento e, como o critério de comparação não é somente estatístico, calculou-se o RR ajustado por método contraceptivo e não se observou diferença entre os valores do RR bruto e ajustado (dados não apresentados).

Na avaliação de cura utilizando os critérios de Amsel separadamente, observou-se cura em 29 pacientes (21,2%) que utilizaram aroeira e 87 (62,1%) que usaram metronidazol ($p < 0,001$). O risco de não curar foi 2.15 vezes maior com o uso de aroeira do que com o metronidazol. Quando apenas o Escore de Nugent foi utilizado isoladamente, foram consideradas curadas 19 mulheres (13,9%) do grupo da aroeira e 79 (56,4%) do grupo que usou metronidazol ($p < 0,001$), com RR de 1,98. Finalmente, com a utilização dos dois critérios concomitantemente, a denominada cura total, foi observada em 17 pacientes no grupo da aroeira, o que correspondeu a 12,4% do total e 56,4% (79 mulheres), no grupo tratado com metronidazol ($p < 0,001$). O RR foi de 2,01, o que representa o dobro do risco de não curar com a aroeira em comparação com o metronidazol. (Tabela 2).

Entre as 264 pacientes que concluíram o tratamento, foram consideradas curadas pelos dois critérios (cura total), 12,8% (17 mulheres) no grupo que utilizou aroeira e 60,3% (79 pacientes) no grupo tratado com metronidazol, o que correspondeu a um RR de 2,20, com intervalo de confiança de 1,76 a 2,74 e $p < 0,001$.

Dentre as 168 pacientes que concluíram a pesquisa e não atingiram os critérios de cura completa, 116 pertenciam ao grupo tratado com aroeira e 52 ao grupo do metronidazol e destas 66 (56,9%) no primeiro grupo e 35 (67,3%) no segundo, apresentaram melhora parcial, que correspondeu a uma diminuição do número de parâmetros diagnósticos presentes, sem conseguirem atingir a cura (Tabela 2).

Quanto à persistência dos sintomas principais, 45 mulheres (34,1%) usuárias de aroeira e 34 (26%) tratadas com metronidazol, ainda apresentavam corrimento genital após o tratamento e 35 pacientes (26,5%) do grupo aroeira e 21 (16%) do grupo metronidazol mantiveram a queixa de odor de peixe (Tabela 2).

Ao primeiro retorno, agendado para oito dias após o primeiro exame e ao final da utilização do gel vaginal, compareceram 269 mulheres. Dentre estas, apenas nove mulheres (5 no grupo aroeira e 4 no grupo metronidazol), o que correspondeu a 7% do total, não utilizaram o gel vaginal durante os sete dias, descumprindo a prescrição orientada e apenas três delas (1%) tiveram relações sexuais na vigência do uso da medicação, sendo que duas mulheres utilizaram preservativos nas relações. Quanto à ocorrência de efeitos adversos, estiveram presentes em 20 mulheres (14,8%) no grupo de aroeira e em 21 mulheres (15,7%) no grupo que utilizou metronidazol, não sendo demonstrada diferença estatisticamente significativa quanto à presença de efeitos adversos entre os grupos ($p=0,84$). A queixa mais frequente nos dois grupos foi dor abdominal em cólica (Tabela 3).

Comparando-se os efeitos dos dois tratamentos sobre o ecossistema vaginal pela presença de lactobacilos nas colpocitologias colhidas no segundo retorno, pode-se observar maior presença desses bacilos no meio vaginal das mulheres que utilizaram o gel a base de metronidazol (64 exames positivos), o que correspondeu a 54% do total, enquanto nas usuárias de aroeira, o exame positivo só foi detectado em 13 participantes (11% dos casos) (Tabela 4).

Analizando-se o ecossistema vaginal pela presença e frequência das bactérias encontradas nas culturas de secreção vaginal, colhidas após o término do tratamento, observou-se maior presença de lactobacilos nas mulheres que utilizaram o gel vaginal de metronidazol e maior persistência de *Gardnerella* e *Mobiluncus* nas culturas das usuárias de aroeira, ambas as diferenças estatisticamente significativas, com valor de $p < 0,05$ (Tabela 4).

DISCUSSÃO

No presente trabalho observou-se que para o tratamento de Vaginose Bacteriana (VB), o uso de Aroeira, 6 g à noite, por via vaginal, durante sete dias foi menos efetivo do que o mesmo regime utilizando metronidazol. Houve baixa frequência de efeitos colaterais nos dois grupos, não sendo a diferença entre os grupos estatisticamente significativa. A queixa mais frequente foi o aparecimento de dor abdominal durante a utilização das medicações, mencionado nos dois grupos de tratamento. Quanto à detecção de lactobacilos nas citologias pós-tratamento, as mulheres que utilizaram metronidazol tiveram frequência maior de bacilos presentes em seus esfregaços vaginais e a diferença foi estatisticamente significativa. Na comparação do efeito dos tratamentos sobre o ecossistema vaginal, as mulheres que usaram metronidazol mostraram melhor resultado, com menor persistência de anaeróbios e maior recuperação da microbiota de lactobacilos acidófilos.

A idéia para a realização do estudo partiu da observação do constrangimento e incômodo causados às mulheres pela presença de corrimento com odor desagradável, das repercussões para a saúde, que podem advir de sua presença (2, 16, 17), da busca de novas alternativas para o tratamento, visto que as drogas convencionais (metronidazol e clindamicina) têm altos índices de recidiva (18, 19) e da constatação em estudo anterior da eficácia da aroeira em curar a VB, parecendo preservar o ambiente vaginal, por maior conservação dos lactobacilos (7).

Utilizou-se a via vaginal de administração do metronidazol (também disponível para uso oral) em virtude da necessidade de comparação com o gel de Aroeira, existente somente nesta apresentação. Desde 1993, quando Hillier et al (17) pela primeira vez demonstraram a eficácia do gel vaginal de metronidazol a 0,75% para tratamento da VB, vários trabalhos têm confirmado, com esquemas de tratamento variados, não existir diferença entre as duas vias

quanto à eficácia, sendo porém menos frequentes os efeitos colaterais com o uso intravaginal, principalmente com relação ao trato gastrointestinal (6, 20). Outro aspecto observado é que as mulheres tratadas com terapias intravaginais têm maior adesão ao tratamento do que aquelas submetidas a tratamentos por via oral (15, 21).

A diferença observada entre as eficácias dos dois tratamentos foi maior do que a esperada, se levarmos em consideração os resultados encontrados por Amorim et al, em 2003 (7), ensaio clínico que serviu de marco inicial para o presente estudo e onde foi observada cura de 84% das pacientes com VB, com o gel de aroeira em comparação ao placebo. Uma explicação para o achado de resultados tão díspares deve ter sido a metodologia mais elaborada do presente estudo em comparação ao anterior, onde foi utilizado apenas o critério clínico para o diagnóstico e para a aferição de cura. Outro fator que pode estar associado diz respeito às descobertas de que a microbiota vaginal nas mulheres com VB é extremamente variável, havendo muitos outros microorganismos envolvidos, além da *Gardnerella vaginalis*, aspecto não avaliado no estudo de 2003, onde não foram identificadas as bactérias que compunham as microbiotas vaginais. Apesar das duas pesquisas terem sido realizadas no mesmo hospital, existiu um hiato temporal de cinco anos entre elas e o IMIP caracteriza-se por apresentar clientela proveniente de todas as regiões do estado de Pernambuco e até dos estados vizinhos, o que permite questionar a existência de diversidade entre os microorganismos existentes no meio vaginal das mulheres. As culturas para anaeróbios já haviam demonstrado que a presença de *Bacteroides spp*, *Peptostreptococcus spp*, *Fusobacterium spp.*, *Prevotella spp* e *Mobiluncus spp*, têm uma grande importância em determinar a existência de subgrupos diferentes de microbiota vaginal (22). Nos últimos anos, com o advento de técnicas de microbiologia molecular, outras bactérias têm sido associadas à VB, tais como: *Atopobium vaginae*, *Megasphaera spp*, *Eggerthella spp* e *Leptotrichia spp*,

sendo observado que a presença das mesmas na microbiota vaginal pode determinar diferentes respostas aos antibióticos utilizados para o tratamento (2, 8, 23).

Quando foram utilizados apenas os critérios clínicos, descritos por Amsel, foi considerada curada a paciente que apresentou menos de três critérios diagnósticos presentes, e a frequência de cura foi de apenas 21,2% nas mulheres que utilizaram o gel de aroeira. Entre as razões que poderiam explicar esta diferença entre os resultados da atual pesquisa e do ensaio clínico anterior destaca-se a utilização do gel vaginal por um número inferior de dias, observando-se que no primeiro estudo a medicação foi utilizada por dez dias (7) e no atual por apenas sete dias. Pode ser especulado que a utilização da aroeira por um tempo maior pudesse ter um resultado mais favorável (7). O índice de cura com o metronidazol (62,1%) ficou dentro dos limites encontrados em outros estudos (6, 24).

Os percentuais de cura, em ambos os grupos, quando utilizado apenas o critério de Nugent também foram considerados baixos, sendo inclusive inferiores aos observados com os parâmetros de Amsel. O critério de Nugent é considerado por muitos autores como o padrão-ouro para o diagnóstico de VB, porém é de difícil interpretação e exige experiência em sua realização, além de dificilmente ser utilizado para diagnóstico na prática clínica (25). Alguns estudiosos consideram o diagnóstico de VB dado somente pelo critério de Nugent como limitado porque ele engloba mulheres com diferentes microbiotas vaginais em um mesmo grupo positivo (26).

A chamada Cura Total, onde foram associados os critérios de cura clínica e bacteriológica, foi atingida em 12,4% dos casos no grupo do gel de aroeira e em 56,4% no grupo do metronidazol. A duração do seguimento é provavelmente a variável mais importante na avaliação da eficácia de qualquer tratamento para VB (27). As aferições de cura realizadas logo após o término do tratamento mostram índices de cura maiores (80-90%) do que as realizadas após um mês ou mais depois do tratamento (60-70%) (16, 17). No

presente ensaio clínico, a cura foi aferida entre 30 e 45 dias após o tratamento, já que as pacientes voltavam para o segundo exame após a menstruação seguinte ao término da medicação, ficando a eficácia observada com o metronidazol (56,4%) de acordo com a literatura, se for considerado o tempo transcorrido até a aferição de cura.

Outro importante aspecto é que, em virtude da patogênese da vaginose ser desconhecida, não se consegue diferenciar com precisão reinfecção de recorrência. É descrita recorrência da doença de 15 a 30% dos casos, em 30 a 90 dias após o tratamento. Como houve retorno das mulheres dentro deste limite de tempo, pode ter ocorrido recorrência em alguns casos considerados não curados (28). Outros autores demonstraram que a presença de *Mobiluncus* pode determinar maiores índices de recorrência, por algumas linhagens deste microorganismo apresentarem resistência ao metronidazol (8, 29).

Uma explicação aventada por alguns pesquisadores nos trabalhos mais recentes é a observação da presença de uma densa e aderente camada de bactérias no epitélio vaginal, denominada biofilme (24, 30). O biofilme é descrito como um mecanismo de virulência que permite às bactérias aderirem aos epitélios e atingirem concentrações maiores do que as observadas nos fluidos luminiais, ficando as colônias em estado de latência e protegidas da ação dos antimicrobianos (24, 31). O biofilme encontrado em mulheres com VB, em pesquisa anterior, foi suprimido temporariamente pelo uso de metronidazol, porém após três semanas do término do tratamento, as bactérias voltaram a multiplicar-se (24).

Algumas mulheres não conseguiram atingir a cura total, porém tiveram desaparecimento de alguns parâmetros de diagnóstico (principalmente no critério clínico), sendo então consideradas como melhoras parciais, o que clinicamente muitas vezes significou as pacientes sentirem-se “curadas”. Todavia é sabido que apenas uma percentagem muito pequena de mulheres consegue identificar com exatidão os sintomas de VB (32). O mesmo é

verdade com relação aos baixos índices de persistência dos principais sintomas de VB (27, 32).

Em busca feita na literatura, foi localizado apenas um trabalho utilizando *Schinus* (aroeira) no tratamento de distúrbios do ecossistema vaginal, além dos já citados publicados em 2002 e 2003. Tratava-se de um ensaio clínico, simples cego, randomizado, comparando várias formulações preparadas com aroeira, para uso vaginal, em mulheres com variadas queixas e que teve resultados não conclusivos em virtude da pequena amostra selecionada (33).

Vem sendo descrita, por alguns autores, uma crescente utilização de fitoterapia (34), principalmente nos países em desenvolvimento, onde 80% das pessoas utilizam a medicina tradicional, onde se insere a fitoterapia (35). Em recente ensaio clínico randomizado publicado por grupo iraniano, foi utilizada a *Zataria multiflora* (ZM) no tratamento de VB, em creme para aplicação vaginal, em comparação ao metronidazol. A ZM é uma planta semelhante ao tomilho, com propriedades antibacterianas e antifúngicas já demonstradas (36). Os índices de cura foram 93% no grupo tratado com ZM e 95,5% no grupo que utilizou metronidazol. A verificação de eficácia pós-tratamento foi feita após dois a sete dias do término do tratamento, tendo derivado deste fato, provavelmente, os altos índices de cura observados (36).

As terapêuticas alternativas para VB utilizam mais frequentemente substâncias que determinam acidificação do meio vaginal. Foi descrita, nos últimos anos, a utilização de gel vaginal a base de polycarbophil por vários autores, com resultados satisfatórios, porém com respostas variadas do pH vaginal ao tratamento, indicando que possivelmente não houve normalização da microbiota e sim apenas restauração parcial dos lactobacilos (37, 38).

Como conclusões do presente estudo, podemos deduzir que os índices de cura de Vaginose Bacteriana com a utilização do gel vaginal de aroeira foram mais baixos que os

obtidos com metronidazol gel. Os efeitos colaterais observados, após o uso das medicações foram pouco frequentes e sem maior gravidade, em ambos os grupos. A Aroeira, em uso tópico vaginal, não conseguiu preencher a lacuna existente no tratamento da VB, continuando necessária a realização de novas pesquisas em busca de novos tratamentos, mais eficazes e que proporcionem menores índices de recorrência.

Conflito de interesses: o Laboratório Hebron financiou parcialmente a pesquisa fornecendo a medicação utilizada.

TABELA 1. Comparação das características das pacientes tratadas para vaginose bacteriana com Aroeira e Metronidazol em uso tópico vaginal.

Características	AROEIRA n (137)	METRONIDAZOL n (140)	p
Idade			
Média ±DP	31,4 ±5,8	31,4 ±5,7	
Mediana	33- 27(25%) 36(75%)	32- 27(25%) 36(75%)	
Anos de Estudo			
0-4	26 (19%)	23 (16%)	0,54
5-8	27 (20%)	35 (25%)	
> 9	84 (61%)	82 (59%)	
Com companheiro	78 (57%)	83 (59%)	0,75
Uso de métodos contraceptivos	68 (45%)	84 (55%)	0,76
LT	28 (41,2%)	33 (39,3%)	0,66
Pílula	23 (33,8%)	27 (32,1%)	
DIU	8 (11,8%)	13 (15,5%)	
Injetável	9 (13,2%)	9 (10,7%)	
Outros	0	2 (2,4%)	
Vida sexual ativa atual	118 (86%)	123 (88%)	
Queixas clínicas			
Corrimento	102 (74,5%)	104 (74,3%)	0,97
Odor de peixe	98 (71,5%)	92 (65,7%)	0,29
Dispareunia	22 (16,1%)	29 (20,7%)	0,31
Ardor	19 (13,9%)	27 (19,3%)	0,23

TABELA 2. Comparação da cura clínica e bacteriológica (Amsel e Nugent) de pacientes com vaginose bacteriana tratadas com aroeira e metronidazol em uso tópico vaginal.

CRITÉRIOS DE CURA	AROEIRA N=137		METRONIDAZOL N=140		RR	IC 95%	p
	n	%	n	%			
AMSEL							
Normal	29	21,2	87	62,1	1,00		
Alterado	108	78,8	53	37,9	2,15	1,72-2,70	< 0,001
NUGENT							
Normal	19	13,9	79	56,4	1,00		
Alterado	118	86,1	61	43,6	1,98	1,62-2,41	< 0,001
CURA TOTAL							
Sim	17	12,4	79	56,4	1,00		
Não	120	87,6	61	43,6	2,01	1,65-2,45	< 0,001
MELHORA PARCIAL*							
Sim	66	56,9	35	67,3	1,00		
Não	50	43,1	17	32,7	1,56	0,85-2,05	0,27
PERSISTÊNCIA DE SINTOMAS**							
Corrimento	45	34,1	34	26,0	1,31	0,90 – 1,91	0,15
Odor de peixe	35	26,5	21	16,0	1,65	1,02 – 2,68	0,04

* entre as 168 pacientes que concluíram a pesquisa e não atingiram os critérios de cura completa

**principais sintomas persistentes após tratamento

TABELA 3. Comparação dos efeitos colaterais do tratamento para vaginose bacteriana com aroeira e metronidazol em uso tópico vaginal.

EFEITOS COLATERAIS	AROEIRA n (135)		METRONIDAZOL n (134)		RR	IC 95%	P
	n	%	n	%			
Total de mulheres *	20	14,8	21	15,7	0,95	0,54-1,66	0,84
ARDOR	5	3,7	2	1,5			
ASSADURA	1	0,7	0				
COCEIRA	5	3,7	3	2,2			
QUEIMAÇÃO	4	3,0	0				
DOR	11	8,1	16	11,9			
ABDOMINAL							

* Algumas pacientes podem ter apresentado mais de um sintoma.

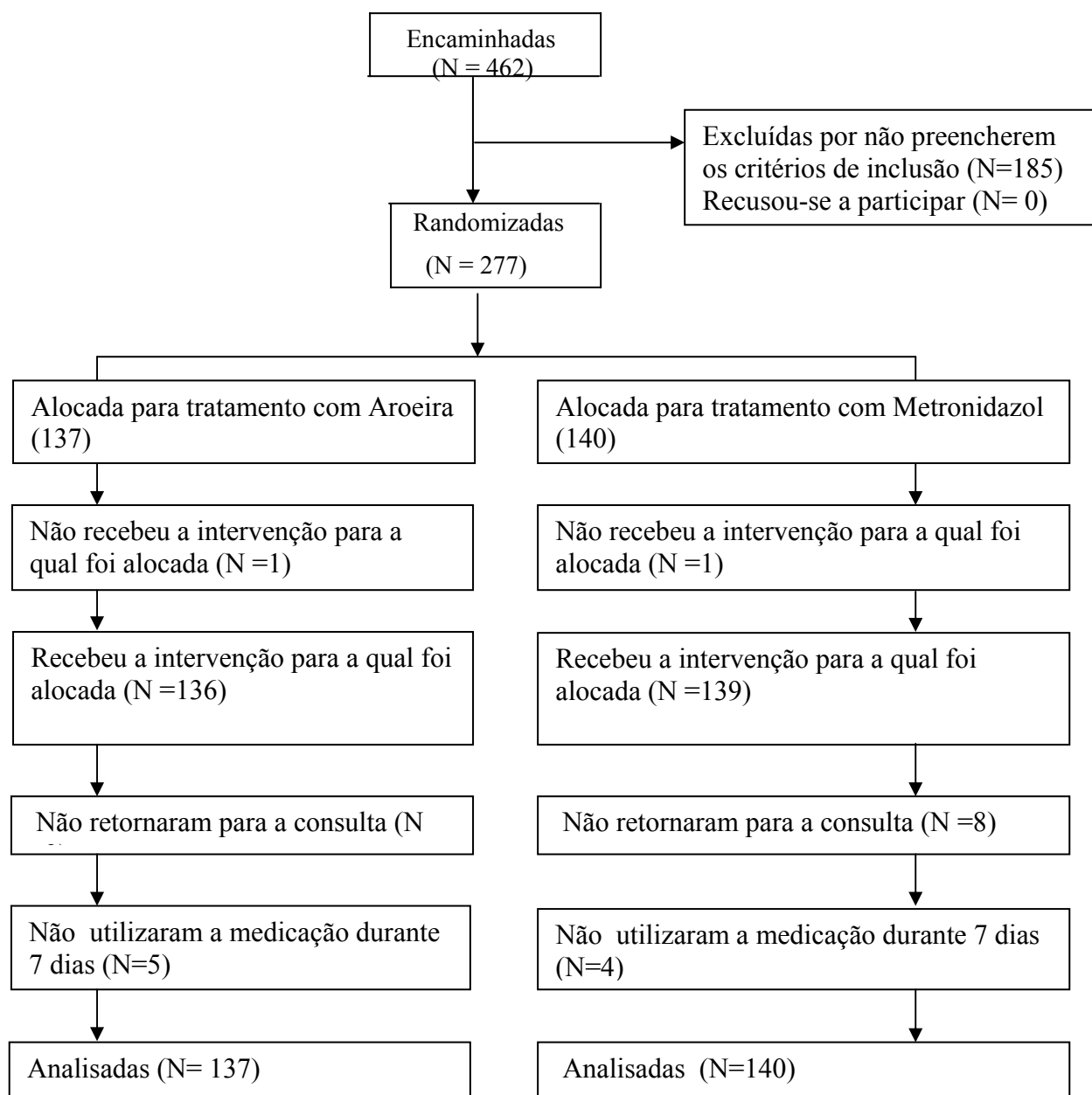
TABELA 4. Efeitos do tratamento para vaginose bacteriana com aroeira e metronidazol em uso tópico vaginal sobre o ecossistema vaginal.

PARÂMETRO	AROEIRA		METRONIDAZOL		RR	IC 95%	P
	n	%	n	%			
Colpocitologia*	(124)		(119)				
Lactobacilos	13	11	64	54	0,20	0,11-0,33	<0,001
Cultura/Gram**	(133)		(128)				
Gardnerella	111	84	51	40	2,09	1,67-2,62	<0,001
Mobiluncus	59	44	18	14	3,15	1,97-5,04	<0,001
Lactobacilos	60	45	83	65	0,69	0,55-0,87	<0,001
Cocos Gram+	116	87	71	56			<0,001
Cocos Gram-	0		01	0,8			-
Bacilos Gram+	131	98,5	127	99,2			0,58
Bacilos Gram-	100	75	52	41			<0,001
Fungos	15	11	12	09	1,20	0,58-2,46	0,61
Gonococos	0		01	0,8			
Corynebacterium	124	93	118	92			0,74

* Não foi possível localizar 21 colpocitologias pós-tratamento, 09 no grupo aroeira e 12 no grupo metronidazol.

** Houve extravio de três culturas pós-tratamento no grupo metronidazol.

FIGURA 1 - Fluxograma de captação das pacientes e procedimentos.



REFERÊNCIAS

1. O'Brien RF. Bacterial vaginosis: many questions – any answers? *Curr Opin Pediatr* 2005; 17: 473-9.
2. Nyirjesy P. Vulvovaginal candidiasis and bacterial vaginosis. *Infect Dis Clin N Am* 2008; 22: 637-52.
3. Yudin MH. Bacterial vaginosis in pregnancy: diagnosis, screening, and management. *Clinics in Perinatology* 2005; 32: 617-27.
4. Sobel JD. What's new in bacterial vaginosis and trichomoniasis? *Infectious Disease Clinics of North America* 2005; 19: 387-406.
5. Cauci S, Hitti J, Noonan C, Agnew K, Quadrifoglio F, Hillier SL, et al. Vaginal hydrolytic enzymes, immunoglobulin A against *Gardnerella vaginalis* toxin, and risk of early preterm labor with bacterial vaginosis or intermediate flora. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 877-81.
6. Centers for Diseases Control and Prevention (CDC). Sexually transmitted diseases treatment guidelines. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006; 55 (RR-11): 50.
7. Amorim MMR, Santos LC. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. *RBGO* 2003; 2(25): 95-102.
8. Nyirjesy P, McIntosh MJ, Steinmetz JI, Schumacher RJ, Joffrion JL. The effects of intravaginal clindamycin and metronidazole therapy on vaginal mobiluncus morphotypes in patients with bacterial vaginosis. *Sex Transm Dis* 2007; (4): 197-202.

9. Drago L, De Vecchi E, Nicola L, Zucchetti E, Gismondo MR, Vicariotto F. Activity of *Lactobacillus acidophilus* – based douche for the treatment of bacterial vaginosis. *J Altern Complement Med* 2007; 13(4): 435-8.
10. Simões CM. *Plantas da Medicina Popular do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre, Editora da Universidade (UFRGS), 1988.
11. Santos LC, Amorim MMR. Uso da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para tratamento de infecções vaginais. *Femina* 2002; 30:339-42.
12. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med* 1983; 74: 14-22.
13. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J. Clin Microbiol* 1991; 29: 297-301.
14. Simões JA, Behamondes LG, Camargo RPS, Alves VMN, Zeneveld LJD, Waller DP et al. A pilot clinical trial comparing an acid-buffering formulation (ACIDFORM gel) with metronidazole gel for the treatment of symptomatic bacterial vaginosis. *Br J Clin Pharmacol* 2005; 61:2:211-7.
15. Ferris DG, Litaker MS, Woodward L, Mathis D, Hendrich J. Treatment of bacterial vaginosis: a comparison of oral metronidazole, metronidazole vaginal gel, and clindamycin vaginal cream. *J Fam Pract* 1995; 41(5): 443-9.
16. Larsson PG, Forsum U. Bacterial vaginosis- a disturbed bacterial flora and treatment enigma. *APMIS* 2005; 113/5: 305-16.
17. Hillier SL, Lipinski C, Briselden AM, Eschenbach DA. Efficacy of intravaginal 0.75% metronidazole gel for the treatment of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 81: 963-7.

18. Sobel JD, Ferris D, Schwebke J, Nyirjesy P, Wiesenfeld HC, Peipert J et al. Suppressive antibacterial therapy with 0.75% metronidazole vaginal gel to prevent recurrent bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194: 1283-9.
19. Wilson J. Managing recurrent bacterial vaginosis. *Sex Transm Inf* 2004; 80:8-11.
20. Brandt M, Abels C, May T, Lohmann K, Schmidts-Winkler I, Hoyme UB. Intravaginally applied metronidazole is as effective as orally applied in the treatment of bacterial vaginosis, but exhibits significantly less side effects. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008; 141:158-62.
21. Minozzi M, Gerli S, Di Renzo GC, Papaleo E, Ferrari A. The efficacy and safety of a single dose of polyhexamethylene biguanide gynaecologic solution versus a seven-dose regimen of vaginal clindamycin cream in patients with bacterial vaginosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2008; 12: 59-65.
22. Ness RB, Hillier SL, Richter HE. Douching in relation to bacterial vaginosis, lactobacilli, and facultative bacteria in the vagina. *Obstet Gynecol* 2002; 100:765-72.
23. Fredricks DN. Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol* 2007; 45 (10): 3270-6.
24. 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* 2008; 198: 97.e1-97.e6.
25. Gutman RE, Peipert JF, Weitzen S, Blume J. Evaluation of clinical methods for diagnosing bacterial vaginosis. *ACOG* 2005; 105 (3): 551-6.
26. Pereira L, Culhane J, McCollum K, Agnew K, Nyirjesy P. Variation in microbiologic profiles among pregnant women with bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 2005; 193: 746-51.

27. Camargo RPS. Comparação entre Acidform e metronidazol gel para o tratamento da vaginose bacteriana: ensaio clínico piloto fase II. Campinas 2004 [Tese Doutorado-Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP].
28. Brotman RM, Erbeling EJ, Jamshidi RM, Klebanoff MA, Zenilman JM, Ghanem KG. Findings associated with recurrence of bacterial vaginosis among adolescents attending sexually transmitted diseases clinics. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2007; 20: 225-31.
29. Spiegel CA, Amsel R, Holmes KK. Diagnosis of bacterial vaginosis by direct Gram stain of vaginal fluid. *J Clin Microbiol* 1983; 18: 170-7.
30. Patterson JL, Girerd PH, Karjane NW, Jefferson KK. Effect of biofilm phenotype on resistance of *Gardnerella vaginalis* to hydrogen peroxide and lactic acid. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197: 170.e1-170.e7.
31. Costerton W, Veeh R, Shirtiff M et al. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J Clin Invest* 2003; 112: 1466-77.
32. Gomes FAM. Valor do exame clínico especular e da anamnese para o diagnóstico do corrimento vaginal. Campinas, 2003. [Tese Doutorado-Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP].
33. Silva LBL, Albuquerque EM, Araújo EL, Santana DP. Avaliação clínica preliminar de diferentes formulações de uso vaginal à base de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). *RBM Rev Bras Med* 2004; 61 (6): 381-4.
34. Klepser TB, Klepser ME. Unsafe and potentially safe herbal therapies. *Am J Health Syst Pharm* 1999; 56: 125-38.
35. World Health Organization. 2002. *WHO Traditional Medicine Strategy* 2002-2005. WHO, Geneva.

36. Simbar M, Azarbad Z, Mojab F, Alavi Majd H. A comparative study of the therapeutic effects of the *Zataria multiflora* vaginal cream and metronidazole vaginal gel on bacterial vaginosis. *Phytomedicine* 2008; 15: 1025-31.
37. Wu JP, Fielding SL, Fiscella. The effect of polycarbophil gel (Replens®) on bacterial vaginosis: A pilot study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007; 130:132-6.
38. Fiorilli A, Molteni B, Milani M. Successful treatment of bacterial vaginosis with a polycarbophil-carbopol acidic vaginal gel: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 120: 202-5.

Randomized clinical trial comparing the efficacy between metronidazol and Brazilian pepper tree (Schinus) in vaginal use for the treatment of bacterial vaginosis.

S. R.R. Figueiredo Leite¹

M. M.R. Amorim²

P. F.B.Sereno³

T.N.F.Leite⁴

J. A.C.Ferreira⁵

R.A.A.Ximenes⁶

Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira-Recife (PE), Brasil

¹ Departamento de Pós-graduação em Medicina Tropical pela Universidade Federal de Pernambuco –UFPE- Recife- PE

² Pós-graduação em Saúde Materno-Infantil Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP –Recife –PE; Instituto de Pesquisa Professor Joaquim Amorim Neto – IPESQ – Campina Grande – (PB) – Brasil.

³ Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP –Recife -PE

⁴ Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP –Recife -PE

⁵ Escola Pernambucana de Medicina – FBV-IMIP- PIBIC.

⁶ Departamento de Pós-graduação em Medicina Tropical - Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife – PE.

Clinical Trial Register: ISRCTN18987156

Address for correspondence:

Sonia Regina Ribeiro de Figueiredo Leite

Rua Félix de Brito e Melo, 854, apt.1302

CEP 51020-260 – Recife(PE)- Brasil

Fone: (81)3465-3900

Email: soniarfigueiredo@uol.com.br

ABSTRACT

A randomized double-blind clinical trial was conducted to compare the effectiveness of extract from the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) and metronidazole, used vaginally to treat bacterial vaginosis that was diagnosed using the criteria of Amsel and Nugent concomitantly, among 140 and 137 women in each group respectively. Intention-to-treat analysis was performed. From Amsel's criteria separately, 29 patients (21.2%) treated with the extract and 87 (62.1%) treated with metronidazole were considered cured ($p < 0.001$). From Nugent's score separately, 19 women (13.9%) treated with the extract and 79 (56.4%) treated with metronidazole were considered cured ($p < 0.001$). Taking the two criteria together, so-called total cure was seen in 17 women (12.4%) treated with the extract and 79 women (56.4%) treated with metronidazole ($p < 0.001$). Adverse effects were present in 20 women (14.8%) treated with the extract and in 21 women (15.7%) treated with metronidazole, without any statistically significant difference ($p = 0.84$). Concluding, the cure rate for bacterial vaginosis using vaginal gel from pepper tree extract was lower than the rate obtained using metronidazole gel, while side effects were infrequent and non-severe in both groups. Topical vaginal use of pepper tree extract was unable to fill the gap that exists regarding treatments for bacterial vaginosis, and new studies continue to be needed in order to search for new and more effective treatments that provide lower recurrence rates.

Key words: Bacterial vaginosis, *Gardnerella vaginalis*, Brazilian pepper tree, Metronidazole vaginal gel.

INTRODUCTION

Bacterial vaginosis is a disorder of the vaginal ecosystem of polymicrobial etiology in which there is predominance of anaerobic microorganisms and marked reduction in the quantity of *Lactobacillus* or Döderlein's bacillus (1). It is the most frequent cause of vaginal discharge, observed in 22 to 50% of the cases, and half of these women are asymptomatic (2-4). It is associated with obstetric and gynecological complications such as pelvic inflammatory disease, endometritis, urinary infection and acquired immunodeficiency syndrome (5).

Studies have shown that one of the greatest risk factors for bacterial vaginosis is the use of intrauterine devices (IUDs) (1, 6). Other predisposing factors include new or multiple sexual partners, use of vaginal douches, oral sex and sex during menstruation (1, 2). The use of barrier methods and oral contraceptives seem to protect against bacterial vaginosis (4).

To treat bacterial vaginosis outside of pregnancy, metronidazole in a regimen of 500 mg twice a day orally for seven days or 0.75% metronidazole gel intravaginally in a single daily application for five days is recommended (6). Oral and vaginal metronidazole regimens have similar effectiveness, ranging from 80 to 90% in different studies (3).

The great problem with antibiotic or chemotherapy medications is that, although effective for eradicating anaerobic agents, with high rates of clinical and microbiological cure, they do not improve the vaginal microbiota or may even cause significant changes to it (7). The standard treatments present a variety of unwanted effects, such as development of bacterial resistance and high rates of recurrence beyond the first month after treatment (8). These effects seem to occur through the action of medications on *Lactobacillus*, thereby

modifying the vaginal ecosystem and causing failure or delay in restoration of the normal microbiota (9).

Schinus terebinthifolius Raddi is a small tree popularly known as the Brazilian pepper tree that is found along the Brazilian coast. Extracts from this tree have astringent, healing, anti-inflammatory and antiallergic properties (10). Used gynecologically, such extracts produce apparent improvement in the vaginal microbiota, with reductions in the proportion of pathogenic microorganisms and increased quantities of Döderlein's bacilli (11). In 1999, a vaginal gel containing extract from the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) was launched on the Brazilian pharmaceutical market under the commercial name KRONEL® (HEBRON Laboratory).

In 2003, a randomized clinical trial demonstrated a cure rate of 84% among patients with symptomatic vaginosis that was treated by means of topical vaginal application of pepper tree extract, versus a cure rate of 47.8% through the use of placebo (7). The 2003 trial presented several methodological limitations, such as the small number of women participating (48 patients); lack of investigation of the vaginal microbiota by means of culturing vaginal secretions, either before or after the treatment; and basing the diagnosis solely on Amsel's criteria. This demonstrates the need to carry out new clinical trials to compare the use of conventional medications with pepper tree extract, in terms of both effectiveness and safety, with evaluations of side effects and the impact on the vaginal ecosystem.

Thus, the present study aimed to fill some of the existing knowledge gaps, through comparing the effectiveness of two treatments for bacterial vaginosis using pepper tree extract and metronidazole, applied vaginally.

METHODS

A randomized double-blind clinical trial was conducted to compare pepper tree extract and metronidazole for treating bacterial vaginosis, among women who were attended at the women's outpatient clinic of the Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), in Recife, Brazil, from July, 2007 to December, 2008. The study participants were 277 women who fulfilled the following inclusion criteria: age between 18 and 40 years and presence of bacterial vaginosis diagnosed concomitantly using the Amsel and Nugent criteria (12, 13). Women were excluded from the study if they presented delayed menstruation or had been diagnosed as pregnant; if they were using or had used any topical or systemic medication, particularly antimicrobial agents, over the 30-day period prior to the start of the investigation; if they presented any other vaginal infections (candidiasis or trichomoniasis); if they presented hymen integrity; or if they reported any history suggestive of acute pelvic inflammatory disease.

Patients were considered to be cases of bacterial vaginosis if they presented three or more of Amsel's clinical criteria and, at the same time, a score ≥ 7 according to Nugent's criteria. The clinical criteria evaluated were: white or grayish genital discharge; pH greater than 4.5; positive findings from the amine test (whiff test); or presence of clue cells in proportions of 20% or more on Gram-stained slides. From the bacteriological evaluation, patients needed to present a score ≥ 7 , relative to the sum of the bacterial morphological types found in Gram-stained smears from vaginal secretions that were analyzed in accordance with the criteria developed by Nugent et al (1, 13, 14).

The vaginal treatments used were 0.75% metronidazole gel (artificially colored to make it resemble pepper tree extract) or pepper tree extract gel. The latter consisted of a mixture of hydroalcoholic extract from *Schinus terebinthifolius* Raddi with carbopol gel (1 gram), glycerin (10 grams), sodium benzoate (0.0175 grams), sodium bisulfite (0.125 grams), triethanolamine qsp (pH 4.0-5.0) and distilled water (2.5 grams). Both treatments were manufactured by the Hebron Laboratory, and they were similar in appearance, volume, coloring and pH. They were presented in 60g tubes that were numbered according to a list of random numbers that had previously been generated by a computer (Epi-Table and Epi-Info 6.04b software). The identity of each tube was known only to an assistant who was not a member of the team and who was responsible only for preparing the medications.

The diagnoses were made by means of a gynecological examination that was performed by a physician who was a participant in the project. After receiving diagnostic confirmation, the patients who agreed to participate in the study signed a free and informed consent statement and answered a questionnaire at an interview with a research assistant. These patients were then randomized into one of the two treatment groups. The women were instructed to use the gel in the evenings, at bedtime, for seven consecutive nights, starting on that date.

Three swabs were also obtained at the initial consultation, in order to culture the vaginal secretion, along with slides of material from the uterine cervix, in order to perform the Papanicolaou cytological test. The material was seeded into Thayer Martin medium (gonococci), Sabouraud medium (fungi), Diamond medium (*Trichomonas*) and blood agar medium (anaerobic agents). Assays to determine the urea, sucrose, maltose, glucose and lactose concentrations in the secretions were also performed. No cultures were performed in mediums specific for *Gardnerella* or *Mycoplasma*.

The first return visit was arranged to take place between seven and 14 days later. At this consultation, the women were asked about any occurrences of heat, burning, rash, swelling, reddening, sores, itching or bleeding, which were considered to be possible adverse effects from the use of the medication. The women had previously been asked to bring along the used applicators in a plastic bag that was provided and, at this return visit, these applicators were checked to determine whether the women had complied with the prescription.

A second and final return visit was arranged for a date after the next menstruation. On this occasion, a new gynecological examination was performed by the physician and the tests performed at the initial consultation were repeated. Women who presented not more than one of Amsel's diagnostic criteria and a score of less than seven on Nugent's scale were considered cured. The patients who had not achieved a cure were administered oral metronidazole. On both occasions (first and second return visits), if patients did not come to the consultation that had been arranged, attempts were made to contact these individuals by telephone, followed by sending letters. If these methods were unsuccessful, such individuals were actively sought in their homes.

The sample size was calculated such that it would be possible to compare the effectiveness of the two treatments. A clinical cure rate of 85% was predicted for the group treated with metronidazole gel (15) and a difference of 15% (cure rate of 70%) for the group treated with pepper tree extract gel, with a 95% confidence interval and a power of 80%. Thus, the sample size required was estimated to be 266 patients (133 in each group).

The data analysis was performed by means of intention to treat, using the Epi-Info 3.32 software. To compare the frequencies of outcomes between the intervention groups, the chi-square test was used, and the frequency of the outcome was estimated in each group. Risk ratios and 95% confidence intervals were calculated for the primary and secondary outcomes.

The present study was conducted in accordance with the postulates of the Declaration of Helsinki and with the recommendations of resolution 196/96 of the National Health Board. The initial project was approved by the Research Ethics Committee of IMIP.

RESULTS

In all, 462 women were recruited for this study, of whom 185 were excluded because they did not fulfill the inclusion or exclusion criteria. The remaining 277 women were then distributed randomly into the two treatment groups. Just after the randomization, when receiving the medication and becoming aware that the tube could contain either of the two medications to be tested, two patients declared that they were allergic to the pepper tree and were then treated with oral metronidazole. To compare the frequencies of achieving a cure and the effects that the two treatments had on the vaginal ecosystem, intention-to-treat analysis was performed, with inclusion of all of the randomized women. Out of the total of 277 participants, 137 women were treated with vaginal gel containing pepper tree extract and 140 were treated with metronidazole gel (Figure 1). The final consultation was attended by 264 patients, who thus completed the treatment in accordance with the study protocol. These individuals were evaluated with regard to the efficacy of the cure between the treatment groups.

There were no differences between the two groups in relation to age, schooling level, marital status, sexual activity during the study period or clinical complaints mentioned, thus indicating that the randomization was effective with regard to distribution of the potential confounding factors between the two groups (Table 1). Concerning the use of contraceptives, since the frequency distribution showed a small difference between the treatment groups and, furthermore, the comparison criterion was not just statistical, the risk ratio was adjusted in relation to the contraceptive method. From this calculation, it was seen that there was no difference between the crude and adjusted risk ratio values (data not shown).

In evaluating the cure rate using Amsel's criteria separately, it was observed that 29 women (21.2%) treated with pepper tree extract and 87 (62.1%) treated with metronidazole

were considered cured ($p < 0.001$). The risk of not achieving a cure was 2.15 times greater with the use of the pepper tree extract than with metronidazole. Using Nugent's score alone, 19 women (13.9%) treated with pepper tree extract and 79 (56.4%) treated with metronidazole ($p < 0.001$) were considered cured, with a relative risk of 1.98. Finally, using both sets of criteria concomitantly, a so-called total cure was observed for 17 women in the pepper tree extract group, corresponding to 12.4% of the total, and 79 women (56.4%) in the metronidazole group ($p < 0.001$). The relative risk was 2.01, which means that the risk of not achieving a cure with pepper tree extract was twice the risk with metronidazole (Table 2).

Among the 264 patients who concluded the treatment, 17 women (12.8%) treated with pepper tree extract and 79 women (60.3%) treated with metronidazole were considered cured according to both sets of criteria (total cure). This corresponded to a relative risk ratio of 2.20, with a confidence interval of 1.76 to 2.74 and $p < 0.001$.

Among the 168 patients who concluded the study protocol but did not attain the criteria for a complete cure, 116 were in the group treated with pepper tree extract and 52 in the metronidazole group. Of these, 66 (56.9%) with pepper tree extract and 35 (67.3%) with metronidazole presented partial improvement, corresponding to a decrease in the number of diagnostic parameters present but without reaching a cure (Table 2).

With regard to persistence of the main symptoms, 45 women (34.1%) with pepper tree extract and 34 (26%) with metronidazole still presented genital discharge after the treatment. Thirty-five patients (26.5%) in the pepper tree extract group and 21 (16%) in the metronidazole group continued to present complaints of fish odor (Table 2).

The first return visit, which was arranged to take place eight days after the first examination and at the end of using the vaginal gel, was attended by 269 women. Among

these, only nine women (five in the pepper tree extract group and four in the metronidazole group), i.e. 7% of the total, had not used the vaginal gel for the full seven days, thereby not complying with the prescription instructions. Only three of these women (1%) had sexual intercourse during the period of medication use, of whom two used condoms during the intercourse. Adverse effects occurred in 20 women (14.8%) in the pepper tree extract group and in 21 women (15.7%) in the metronidazole group. Thus, no statistically significant difference was demonstrated regarding the presence of adverse effects between the groups ($p = 0.84$). The most frequent complaint in both groups was colicky abdominal pain (Table 3).

Comparing the effects of the two treatments on the vaginal ecosystem according to the presence of *Lactobacillus* in colpocytological tests performed at the time of the second return visit, it could be seen that there was greater presence of these bacilli in the vaginal environment of the women who used metronidazole gel: 64 positive tests, corresponding to 54% of the total. On the other hand, among the users of pepper tree extract, only 13 participants had a positive test (11% of the cases) (Table 4).

From analysis of the vaginal ecosystem according to the presence and frequency of the bacteria found in the cultures from vaginal secretions collected after the end of the treatment, greater presence of *Lactobacillus* was observed among the women who used metronidazole vaginal gel, and greater persistence of *Gardnerella* and *Mobiluncus* in the cultures from the users of pepper tree extract. Both of these differences were statistically significant, with $p < 0.05$ (Table 4).

DISCUSSION

In the present study, it was observed that for treating bacterial vaginosis, pepper tree extract applied vaginally at the rate of 6 g a night for seven days was less effective than the same regimen using metronidazole. There was a low frequency of side effects in both groups, and no statistically significant difference between them in this respect. The most frequent complaint was the appearance of abdominal pain while using the medications, and this was mentioned in both treatment groups. Regarding the detection of *Lactobacillus* in post-treatment cytological tests, the women who used metronidazole had a higher frequency of bacilli in their vaginal smears, and this difference was statistically significant. Comparing the effect of the treatments on the vaginal ecosystem, the women who used metronidazole showed better results, with less persistence of anaerobic agents and greater recovery of the microbiota of acidophil *Lactobacillus*.

The idea for undertaking the present study came from the observation that women were embarrassed and inconvenienced by the presence of discharges with disagreeable odor, with possible repercussions on health arising from such discharges (2, 16, 17). Furthermore, new treatment alternative have been sought, given that the conventional drugs (metronidazole and clindamycin) have high relapse rates (18, 19). Finally, it was seen in a previous study that pepper tree extract was effective for curing bacterial vaginosis, since it seemed to preserve the vaginal environment through greater conservation of *Lactobacillus* (7).

The vaginal route for administration of metronidazole (which is also available for oral use) was used in the present study because of the need for comparison with pepper tree extract gel, which only exists in this presentation. Since 1993, when Hillier et al (17) were the first to demonstrate the effectiveness of 0.75% metronidazole vaginal gel for treating bacterial vaginosis, a variety of studies have confirmed through several different treatment regimens that there is no difference between the two routes regarding their effectiveness.

However, side effects are less frequent with intravaginal use, particularly in relation to the gastrointestinal tract (6, 20). Another point that has been observed is that women treated with intravaginal therapies present greater adherence to treatment than do those treated orally (15, 21).

The observed difference in effectiveness between the two treatments was greater than expected, taking into account the results of Amorim et al, in 2003 (7), which served as the starting point for the present study. In their study, a cure rate of 84% was observed among the patients with bacterial vaginosis, using pepper tree extract gel in comparison with placebo. One explanation for findings that were so different is likely to be the more elaborate nature of the methodology of present study, compared with the previous study, in which clinical criteria alone were used for the diagnosis and for gauging the cure. Another factor that may be associated with the difference in findings relates to the discovery that the vaginal microbiota in women with bacterial vaginosis is extremely variable. There are many other microorganisms involved, in addition to *Gardnerella vaginalis*, and this point was not evaluated in the 2003 study, which did not identify the bacteria that made up the vaginal microbiotas. Although these two studies were conducted in the same hospital, there was a five-year gap between them and, moreover, IMIP has the characteristic of drawing its clientele from all regions of the State of Pernambuco and even from neighboring states. This leads to questions regarding the extent of the diversity of microorganisms present in women's vaginal environments. Culturing of anaerobic agents has already demonstrated that the presence of *Bacteroides spp*, *Peptostreptococcus spp*, *Fusobacterium spp.*, *Prevotella spp* and *Mobiluncus spp* has great importance in determining the existence of different subgroups of vaginal microbiota (22). Over recent years, with the advent of molecular microbiology techniques, other bacteria have been associated with bacterial vaginosis, such as: *Atopobium vaginae*, *Megasphaera spp*, *Eggerthella spp* and *Leptotrichia spp*. It has been observed that

their presence in the vaginal microbiota may cause different responses to the antibiotics used for treatments (2, 8, 23).

Using only the clinical criteria described by Amsel, patients presenting less than three diagnostic criteria were considered cured, and the cure rate was only 21.2% among the women who used pepper tree extract gel. Among the reasons that might explain this difference in results between the present and previous studies, the use of vaginal gel for a smaller number of days in the present study can be highlighted: 10 days in the previous study versus only seven days in the present study (7). It may be speculated that using pepper tree extract for longer periods might have had a more favorable result (7). The cure rate with metronidazole (62.1%) was within the limits found in other studies (6, 24).

The cure rates in both groups using only Nugent's criteria were also low, and even lower than the rates observed using Amsel's parameters. Nugent's criteria are considered by many authors to be the gold standard for diagnosing bacterial vaginosis, although these criteria are difficult to interpret and experience is required in doing so. They are also rarely used for diagnoses in clinical practice (25). Some authors consider that diagnoses of bacterial vaginosis made solely using Nugent's criteria are limited because they encompass women with different vaginal microbiotas in a single positive group (26).

The so-called total cure, in which the criteria for clinical and bacteriological cure were used together, was reached by 12.4% of the case in the group with pepper tree extract gel and 56.4% in the metronidazole group. The length of follow-up is probably the most important variable in evaluating the effectiveness of any treatment for bacterial vaginosis (27). Cure measurements made just after concluding the treatment show higher cure rates (80-90%) than those made one month or more after the treatment (60-70%) (16, 17). In the present clinical trial, the cure was gauged 30 to 45 days after the treatment, since the patients came back for the second examination after their menstrual period subsequent to ending the medication. The

observed effectiveness of metronidazole (56.4%) was in line with the literature, if the time elapsed until assessing the cure is taken into consideration.

Another important point is that because the pathogenesis of vaginosis is unknown, reinfection cannot be precisely differentiated from recurrence. Recurrence rates of 15 to 30% of the cases, between 30 to 90 days after treatment, have been described. Since the women in the present study returned within this time limit, recurrence may have occurred in some cases that were considered uncured (28). Other authors have demonstrated that the presence of *Mobiluncus* may cause higher recurrence rates, since some lineages of this microorganism present resistance to metronidazole (8, 29).

One explanation put forward by some investigators in recent studies relates to observations of the presence of a dense sticky layer of bacteria on the vaginal epithelium, called biofilm (24, 30). Biofilm is described as a virulence mechanism that allows bacteria to adhere to the epithelium and attain greater concentrations than those seen in luminal fluid. The colonies remain in a state of latency, protected from the action of antimicrobial agents (24, 31). The biofilm found in women with bacterial vaginosis in a previous study was temporarily suppressed through using metronidazole, but the bacteria started to multiply again three weeks after the end of treatment (24).

Some of the women were unable to achieve a complete cure, but some of the diagnostic parameters disappeared (particularly among the clinical criteria). Thus, these women were considered to have achieved partial improvement, which clinically often meant that the patients felt that they were “cured”. However, it is well known that only a very small percentage of women are able to precisely identify the symptoms of bacterial vaginosis (32). The same is true in relation to low rates of persistence of the main symptoms of bacterial vaginosis (27, 32).

A search through the literature only found one more study in which extracts from *Schinus* (Brazilian pepper tree) were used to treat disorders of the vaginal ecosystem, other than the two already cited that were published in 2002 and 2003. This was a randomized single-blind clinical trial that compared several formulations prepared from the pepper tree, for vaginal use among women with a variety of complaints. The results from this trial were inconclusive because of the small sample selected (33).

Some authors have described growing use of phytotherapy (34), particularly in developing countries, where 80% of the population use traditional medicine, within which phytotherapy has its place (35). In a recent randomized clinical trial published by an Iranian group, *Zataria multiflora* was used to treat bacterial vaginosis, in a cream for vaginal application, in comparison with metronidazole. This is a plant similar to thyme, with antibacterial and antifungal properties that have already been demonstrated (36). The cure rates were 93% in the group treated with *Z. multiflora* and 95.5% in the group that used metronidazole. The post-treatment investigation of the effectiveness of this agent was performed two to seven days after ending the treatment, and the high cure rates observed were probably derived from this fact (36).

Alternative treatments for bacterial vaginosis most often use substances that cause acidification of the vaginal environment. Over recent years, the use of polycarbophil-based vaginal gel has been described by several authors, with satisfactory results. However, the response of the vaginal pH to treatment has varied, thus indicating that the microbiota may not have normalized but, rather, that there was only partial restoration of *Lactobacillus* (37, 38).

In conclusion, from the present study, it can be deduced that the cure rates for bacterial vaginosis obtained through using vaginal gel from pepper tree extract were lower than those obtained through using metronidazole gel. The side effects from using both of

these medications were infrequent and non-severe. Topical vaginal use of pepper tree extract was unable to fill the gap that exists with regard to treatments for bacterial vaginosis. It is therefore necessary to conduct further studies to search for new treatments that are more effective and provide lower recurrence rates.

Conflict of interests: the Hebron Laboratory partially funded this study through supplying the medication used.

REFERENCES

1. O'Brien RF. Bacterial vaginosis: many questions – any answers? *Curr Opin Pediatr* 2005; 17: 473-9.
2. Nyirjesy P. Vulvovaginal candidiasis and bacterial vaginosis. *Infect Dis Clin N Am* 2008; 22: 637-52.
3. Yudin MH. Bacterial vaginosis in pregnancy: diagnosis, screening, and management. *Clinics in Perinatology* 2005; 32: 617-27.
4. Sobel JD. What's new in bacterial vaginosis and trichomoniasis? *Infectious Disease Clinics of North America* 2005; 19: 387-406.
5. Cauci S, Hitti J, Noonan C, Agnew K, Quadrifoglio F, Hillier SL, et al. Vaginal hydrolytic enzymes, immunoglobulin A against *Gardnerella vaginalis* toxin, and risk of early preterm labor with bacterial vaginosis or intermediate flora. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 877-81.
6. Centers for Diseases Control and Prevention (CDC). Sexually transmitted diseases treatment guidelines. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006; 55 (RR-11): 50.
7. Amorim MMR, Santos LC. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. *RBGO* 2003; 2(25): 95-102.
8. Nyirjesy P, McIntosh MJ, Steinmetz JI, Schumacher RJ, Joffrion JL. The effects of intravaginal clindamycin and metronidazole therapy on vaginal mobiluncus morphotypes in patients with bacterial vaginosis. *Sex Transm Dis* 2007; (4): 197-202.
9. Drago L, De Vecchi E, Nicola L, Zucchetti E, Gismondo MR, Vicariotto F. Activity of *Lactobacillus acidophilus* – based douche for the treatment of bacterial vaginosis. *J Altern Complement Med* 2007; 13(4): 435-8.

10. Simões CM. *Plantas da Medicina Popular do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre, Editora da Universidade (UFRGS), 1988.
11. Santos LC, Amorim MMR. Uso da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para tratamento de infecções vaginais. *Femina* 2002; 30:339-42.
12. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med* 1983; 74: 14-22.
13. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J. Clin Microbiol* 1991; 29: 297-301.
14. Simões JA, Behamondes LG, Camargo RPS, Alves VMN, Zeneveld LJD, Waller DP et al. A pilot clinical trial comparing an acid-buffering formulation (ACIDFORM gel) with metronidazole gel for the treatment of symptomatic bacterial vaginosis. *Br J Clin Pharmacol* 2005; 61:2:211-7.
15. Ferris DG, Litaker MS, Woodward L, Mathis D, Hendrich J. Treatment of bacterial vaginosis: a comparison of oral metronidazole, metronidazole vaginal gel, and clindamycin vaginal cream. *J Fam Pract* 1995; 41(5): 443-9.
16. Larsson PG, Forsum U. Bacterial vaginosis- a disturbed bacterial flora and treatment enigma. *APMIS* 2005; 113/5: 305-16.
17. Hillier SL, Lipinski C, Briselden AM, Eschenbach DA. Efficacy of intravaginal 0.75% metronidazole gel for the treatment of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 81: 963-7.
18. Sobel JD, Ferris D, Schwebke J, Nyirjesy P, Wiesenfeld HC, Peipert J et al. Suppressive antibacterial therapy with 0.75% metronidazole vaginal gel to prevent recurrent bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194: 1283-9.

19. Wilson J. Managing recurrent bacterial vaginosis. *Sex Transm Inf* 2004; 80:8-11.
20. Brandt M, Abels C, May T, Lohmann K, Schmidts-Winkler I, Hoyme UB. Intravaginally applied metronidazole is as effective as orally applied in the treatment of bacterial vaginosis, but exhibits significantly less side effects. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008; 141:158-62.
21. Minozzi M, Gerli S, Di Renzo GC, Papaleo E, Ferrari A. The efficacy and safety of a single dose of polyhexamethylene biguanide gynaecologic solution versus a seven-dose regimen of vaginal clindamycin cream in patients with bacterial vaginosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2008; 12: 59-65.
22. Ness RB, Hillier SL, Richter HE. Douching in relation to bacterial vaginosis, lactobacilli, and facultative bacteria in the vagina. *Obstet Gynecol* 2002; 100:765-72.
23. Fredricks DN. Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol* 2007; 45 (10): 3270-6.
24. 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* 2008; 198: 97.e1-97.e6.
25. Gutman RE, Peipert JF, Weitzen S, Blume J. Evaluation of clinical methods for diagnosing bacterial vaginosis. *ACOG* 2005; 105 (3): 551-6.
26. Pereira L, Culhane J, McCollum K, Agnew K, Nyirjesy P. Variation in microbiologic profiles among pregnant women with bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 2005; 193: 746-51.
27. Camargo RPS. Comparação entre Acidform e metronidazol gel para o tratamento da vaginose bacteriana: ensaio clínico piloto fase II. Campinas 2004 [Tese Doutorado-Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP].

28. Brotman RM, Erbeling EJ, Jamshidi RM, Klebanoff MA, Zenilman JM, Ghanem KG. Findings associated with recurrence of bacterial vaginosis among adolescents attending sexually transmitted diseases clinics. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2007; 20: 225-31.
29. Spiegel CA, Amsel R, Holmes KK. Diagnosis of bacterial vaginosis by direct Gram stain of vaginal fluid. *J Clin Microbiol* 1983; 18: 170-7.
30. Patterson JL, Girerd PH, Karjane NW, Jefferson KK. Effect of biofilm phenotype on resistance of *Gardnerella vaginalis* to hydrogen peroxide and lactic acid. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197: 170.e1-170.e7.
31. Costerton W, Veeh R, Shirtiff M et al. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J Clin Invest* 2003; 112: 1466-77.
32. Gomes FAM. Valor do exame clínico especular e da anamnese para o diagnóstico do corrimento vaginal. Campinas, 2003. [Tese Doutorado-Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP].
33. Silva LBL, Albuquerque EM, Araújo EL, Santana DP. Avaliação clínica preliminar de diferentes formulações de uso vaginal à base de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). *RBM Rev Bras Med* 2004; 61 (6): 381-4.
34. Klepser TB, Klepser ME. Unsafe and potentially safe herbal therapies. *Am J Health Syst Pharm* 1999; 56: 125-38.
35. World Health Organization. 2002. *WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005*. WHO, Geneva.
36. Simbar M, Azarbad Z, Mojab F, Alavi Majd H. A comparative study of the therapeutic effects of the *Zataria multiflora* vaginal cream and metronidazole vaginal gel on bacterial vaginosis. *Phytomedicine* 2008; 15: 1025-31.

37. Wu JP, Fielding SL, Fiscella. The effect of polycarbophil gel (Replens®) on bacterial vaginosis: A pilot study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007; 130:132-6.
38. Fiorilli A, Molteni B, Milani M. Successful treatment of bacterial vaginosis with a polycarbophil-carbopol acidic vaginal gel: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 120: 202-5.

TABLE 1. Comparison of the characteristics of patients treated for bacterial vaginosis with pepper tree extract and metronidazole for topical vaginal use.

Characteristics	Pepper tree extract n (137)	Metronidazole n (140)	p
Age			
Mean $\pm$ SD	31.4 $\pm$ 5.8	31.4 $\pm$ 5.7	
Median	33- 27 (25%) 36 (75%)	32- 27 (25%) 36 (75%)	
Years of schooling			
0-4	26 (19%)	23 (16%)	0.54
5-8	27 (20%)	35 (25%)	
> 9	84 (61%)	82 (59%)	
With companion	78 (57%)	83 (59%)	0.75
Use of contraceptive methods	68 (45%)	84 (55%)	0.76
LT	28 (41.2%)	33 (39.3%)	0.66
Pill	23 (33.8%)	27 (32.1%)	
IUD	8 (11.8%)	13 (15.5%)	
Injectable	9 (13.2%)	9 (10.7%)	
Others	0	2 (2.4%)	
Current active sex life	118 (86%)	123 (88%)	
Clinical complaints			
Discharge	102 (74.5%)	104 (74.3%)	0.97
Fish odor	98 (71.5%)	92 (65.7%)	0.29
Dyspareunia	22 (16.1%)	29 (20.7%)	0.31
Heat	19 (13.9%)	27 (19.3%)	0.23

TABLE 2. Comparison between clinical and bacteriological cures (Amsel and Nugent) among patients treated for bacterial vaginosis with pepper tree extract and metronidazole for topical vaginal use.

Cure criteria	Pepper tree extract N=137		Metronidazole N=140		Relative risk	95% CI	p
	n	%	n	%			
AMSEL							
Normal	29	21.2	87	62.1	1.00		
Abnormal	108	78.8	53	37.9	2.15	1.72-2.70	< 0.001
NUGENT							
Normal	19	13.9	79	56.4	1.00		
Abnormal	118	86.1	61	43.6	1.98	1.62-2.41	< 0.001
Total cure							
Yes	17	12.4	79	56.4	1.00		
No	120	87.6	61	43.6	2.01	1.65-2.45	< 0.001
Partial improvement							
*							
Yes	66	56.9	35	67.3	1.00		
No	50	43.1	17	32.7	1.56	0.85-2.05	0.27
Persistence of symptoms**							
Discharge	45	34.1	34	26.0	1.31	0.90 – 1.91	0.15
Fish odor	35	26.5	21	16.0	1.65	1.02 – 2.68	0.04

* among the 168 patients who concluded the study protocol but did not reach the criteria for complete cure

** main symptoms persisting after treatment

TABLE 3. Comparison of the side effects from the treatment for bacterial vaginosis with pepper tree extract and metronidazole for topical vaginal use.

Side effects	Pepper tree extract n (135)		Metronidazole n (134)		Relative risk	95% CI	<i>P</i>
	n	%	n	%			
Total number of women *	20	14.8	21	15.7	0.95	0.54-1.66	0.84
Heat	5	3.7	2	1.5			
Rash	1	0.7	0				
Itching	5	3.7	3	2.2			
Burning	4	3.0	0				
Abdominal pain	11	8.1	16	11.9			

* Some patients may have presented more than one symptom.

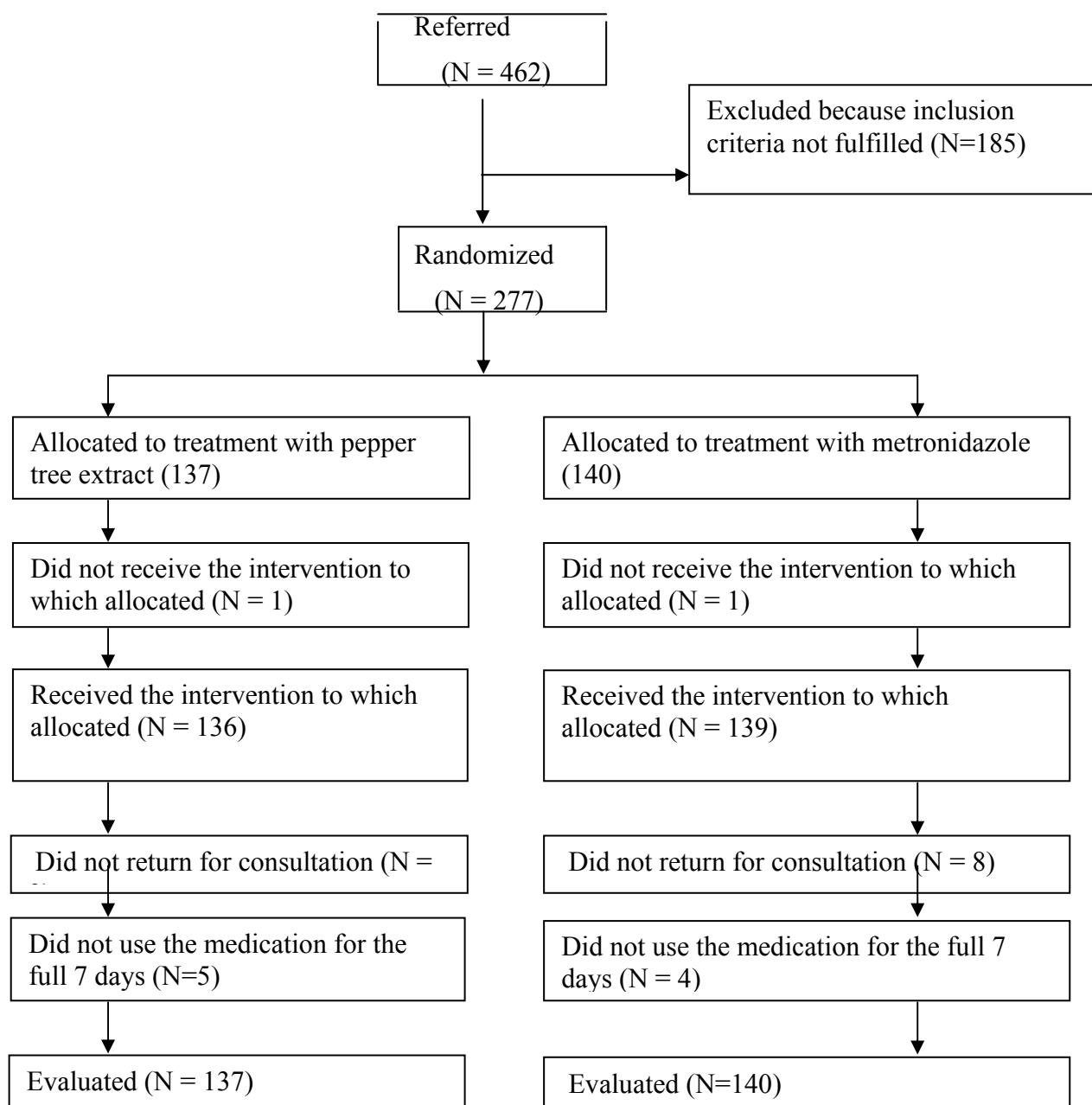
TABLE 4. Effects from treatment for bacterial vaginosis with pepper tree extract and metronidazole for topical vaginal use, on the vaginal ecosystem.

Parameter	Pepper tree extract		Metronidazole		Relative risk	95% CI	P
	n	%	n	%			
Colpocytology *	(124)		(119)				
Lactobacillus	13	11	64	54	0.20	0.11-0.33	<0.001
Culture/Gram **	(133)		(128)				
Gardnerella	111	84	51	40	2.09	1.67-2.62	<0.001
Mobiluncus	59	44	18	14	3.15	1.97-5.04	<0.001
Lactobacillus	60	45	83	65	0.69	0.55-0.87	<0.001
Gram+ cocci	116	87	71	56			<0.001
Gram- cocci	0		01	0.8			-
Gram+ bacilli	131	98.5	127	99.2			0.58
Gram- bacilli	100	75	52	41			<0.001
Fungi	15	11	12	09	1.20	0.58-2.46	0.61
Gonococci	0		01	0.8			
Corynebacterium	124	93	118	92			0.74

* Data on 21 post-treatment colpocytological tests could not be located: nine in the pepper tree extract group and 12 in the metronidazole group.

** Three post-treatment cultures in the metronidazole group went missing.

FIGURE 1 – Flow diagram showing patient recruitment and procedures.



ARTIGO 2

PERFIL CLÍNICO, EPIDEMIOLÓGICO E MICROBIOLÓGICO DE MULHERES COM VAGINOSE BACTERIANA PARTICIPANTES DE UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Clinical, epidemiological and microbiological profile of women with bacterial vaginosis enrolled in a randomized clinical trial

Sonia Regina Ribeiro de Figueiredo Leite¹

Melania Maria Ramos de Amorim²

Waldylene Barbosa Calábria³

Tessália Natasha de Figueiredo Leite⁴

Viviane Santos de Oliveira⁵

José Alfredo Alves Ferreira Júnior⁶

Ricardo Arraes de Alencar Ximenes⁷

Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira-Recife (PE), Brasil

¹Pós-graduanda (Doutorado) em Medicina Tropical pela Universidade Federal de Pernambuco –UFPE- Recife- PE

² Professora de Pós-graduação em Saúde Materno-Infantil Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP –Recife –PE; Pesquisadora do Instituto de Pesquisa Professor Joaquim Amorim Neto – IPESQ – Campina Grande – (PB) – Brasil.

³ Farmacêutica Bioquímica do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP –Recife -PE

⁴ Psicóloga Clínica

⁵ Enfermeira-chefe do Ambulatório da Mulher do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP –Recife -PE

⁶ Estudante de Medicina da Universidade de Pernambuco – UPE - Bolsista do PIBIC

⁷ Prof. Doutor da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife – PE

Correspondência:

Sonia Regina Ribeiro de Figueiredo Leite

Rua Félix de Brito e Melo, 854, apt.1302

CEP 51020-260 – Recife(PE)- Brasil

Fone: (81)3465-3900

Email: soniarfigueiredo@uol.com.br

RESUMO

OBJETIVO: estudar o perfil clínico, epidemiológico e microbiológico de mulheres portadoras de vaginose bacteriana participantes de um ensaio clínico randomizado, duplamente mascarado, que comparou aroeira e metronidazol, em uso vaginal, para tratamento do corrimento genital.

MÉTODOS: Constitui-se em uma série de casos com 277 mulheres, utilizando informações colhidas antes da intervenção, quando foram empregados, concomitantemente, os critérios de Amsel e Nugent para o diagnóstico de vaginose bacteriana. Além dos parâmetros diagnósticos, foram também colhidas cultura do conteúdo vaginal e uma citologia de Papanicolaou.

RESULTADOS: Entre as queixas clínicas, as mais frequentes foram o corrimento genital, observado em 206 participantes (74,4%) e o odor de peixe da secreção vaginal, que ocorreu em 68,6% dos casos (190 pacientes). Dentre os critérios clínicos diagnósticos, a presença de clue-cells foi positiva em 275 mulheres (99,3%), o teste de Whiff positivo apareceu em 266 participantes (96,0%), seguido do pH $\geq$ 4,5, que ocorreu em 92,8% dos casos e da presença de corrimento fluido e acinzentado, citado por 206 participantes (74,4%). Com relação ao Critério de Nugent, a mediana dos escores foi o valor 8,0. As culturas de conteúdo vaginal permitiram a identificação de *Gardnerella vaginalis* em 96,8% e de *Mobiluncus* em 53,1% dos casos. Apenas uma terça parte dos exames mostrou a presença de *Lactobacillus* (89 mulheres – 32,1%). Houve crescimento de fungos em culturas de 14 participantes (5,1%). Na maior parte dos casos, os resultados das culturas demonstraram a presença de *Corynebacterium* (94,2%), Cocos Gram positivos (98,2%), além de Bacilos Gram positivos (99,3%) e negativos (91,0%). As colpocitologias oncóticas mostraram

presença muito escassa de lactobacilos, que estiveram presentes em apenas 8 citologias (2,9%) do total de 273 exames realizados.

CONCLUSÕES: Houve predominância dos sintomas clássicos de corrimento genital e odor fétido de peixe entre as portadoras de vaginose bacteriana. A presença de clue cells e o odor característico de peixe exalado nos testes de Whiff foram os critérios clínicos mais observados no diagnóstico. Houve predominância do Escore de Nugent 8, no diagnóstico bacteriológico. A presença de lactobacilos foi extremamente baixa nas colpocitologias. E, finalmente, as bactérias mais identificadas nas culturas e esfregaço de Gram foram *Corynebacterium*, *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus*. Os autores afirmam que permanecem necessários novos estudos para melhor elucidar as inter-relações entre os achados microbiológicos e a expressão clínica da vaginose bacteriana.

Palavras-chave: Vaginose bacteriana, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*, *Lactobacillus* e microbiota vaginal.

Registro do Ensaio Clínico: ISRCTN18987156

ABSTRACT

PURPOSE: to study the clinical, epidemiological and microbiological profiles of women with bacterial vaginosis that participated in a randomized, double-blinded clinical trial in order to compare aroeira (*Shinus terebinthifolius* Raddi) and metronidazole, in vaginal application, as treatment for bacterial vaginosis discharge.

METHODS: the study is a case series of 277 women, whose information were obtained before the intervention, in which the Amsel and Nugent criteria were both used for the diagnosis of bacterial vaginosis. Culture swabs and Pap smears were also collected.

RESULTS: the most frequent clinical complaints were the vaginal discharge, which was observed in 206 participants (74.4%), and fishy malodor, in 68.6% (190 participants). According to the clinical criteria, clue-cells were positive in 275 women (99.3%), a positive “whiff” test was present in 266 participants (96.0%), followed by vaginal pH greater than 4.5 in 92.8% and a thin, homogeneous, white-gray discharge in 206 (74.4%) of cases. In the Nugent criteria, the median score was 8.0. Vaginal cultures identified *Gardnerella vaginalis* in 96.8% and *Mobiluncus* in 53.1% of the cases. The presence of *Lactobacillus* was demonstrated in only one third of the patients (89 women – 32.1%). Fungal cultures were positive in 14 participants (5.1%). The majority of the vaginal cultures showed *Corynebacterium* (94.2%), Gram-positive cocci (98.2%), Gram-positive rods (99.3%) and Gram-negative rods (91.0%). The Pap smears identified lactobacilli in only 8 smears (2.9%).

CONCLUSIONS: the most frequent symptoms observed were vaginal discharge and fishy malodor. The clue-cells and the fishy smell, presented in the Whiff tests, were the most observed criteria at the time of diagnosis. The value 8 was the most frequent in Nugent scoring system. Lactobacilli were barely founded in Pap smears. Finally, the most frequently identified bacteria in cultures and Gram stains were: *Corynebacterium*, *Gardnerella*

vaginalis and *Mobiluncus*. The authors suggest that further studies are needed to elucidate the interactions between microbiological finds and the clinical expression of the bacterial vaginosis.

Keywords: Bacterial vaginosis, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*, *Lactobacillus* and vaginal microflora.

Clinical Trial Register: ISRCTN18987156

Perfil Clínico, Epidemiológico e Microbiológico de Mulheres com Vaginose Bacteriana Participantes de um Ensaio Clínico Randomizado.

Clinical, epidemiological and microbiological profile of women with bacterial vaginosis enrolled in a randomised clinical trial.

INTRODUÇÃO

A Vaginose Bacteriana (VB) é um distúrbio do ecossistema vaginal de etiologia polimicrobiana, onde há predomínio de microorganismos anaeróbios. É a mais frequente causa de corrimento genital, responsável por 40 a 50% dos casos, sendo que cerca de metade das mulheres portadoras são assintomáticas ¹⁻³.

As bactérias que habitam a vagina são uma importante barreira de defesa do organismo⁴, representando um complexo sistema microbiológico, com cerca de 10⁹ unidades formadoras de colônias bacterianas por grama de secreção e dúzias de diferentes espécies⁵. Os lactobacilos produtores de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) mostram, in vitro, capacidade de inibir várias bactérias, incluindo-se entre elas a *Gardnerella vaginalis*, os anaeróbios, a *Neisseria gonorrhoeae*, entre outras¹. A proliferação de bactérias como *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus sp*, pouco frequentes na flora vaginal normal, determinam redução acentuada dos *Lactobacillus* ou *Bacilos de Doderlein* e elevação do pH vaginal acima de 4,5, propiciando o surgimento dos sintomas de VB ⁶⁻⁸. A VB está associada a um risco aumentado de infecção pelo vírus HIV⁹. Mulheres de países com elevada frequência de HIV-AIDS, como Uganda, apresentam prevalência de VB superior a 50% ¹⁰.

O decréscimo do número de lactobacilos, particularmente os produtores de H₂O₂ (principalmente *L. crispatus* e *L. jensenii*), parece ser o maior fator para o aparecimento de complicações associadas com a VB ^{11, 12}. Como complicações da doença, devido à ascensão de bactérias anaeróbias ao trato genital superior, podem ocorrer endometrites, doença inflamatória pélvica aguda (DIPA) e infecções pós-cirúrgicas, como a celulite de cúpula vaginal pós-histerectomia ^{8,12,13}. Durante a gravidez determinam abortamentos infectados, corioamnionites, amniorrexe prematura, parto pré-termo, endometrites e infecções de parede pós-cesárea ^{3, 14, 15}.

Estudos mostram que um dos maiores fatores de risco para VB é o uso de DIU. Outros fatores predisponentes seriam novos ou múltiplos parceiros sexuais, o uso de duchas vaginais, sexo oral, sexo durante as menstruações, entre outros⁶. O uso de métodos de barreira e anticoncepcionais orais parece proteger contra a VB².

Significante progresso tem sido alcançado no entendimento dos aspectos imunológicos da Vaginose Bacteriana. Cauci e colaboradores, em 1993, identificaram uma IgA específica para *Gardnerella vaginalis*. Platz-Christensen identificaram altos níveis de citocina pro-inflamatória IL-1 α na secreção vaginal de mulheres portadoras de VB. Estudos subseqüentes demonstraram também níveis de 10 a 20 vezes maiores de IL-1 β nestas mulheres. A citocina IL-8, um potente quimiostático e o fator ativador dos leucócitos polimorfonucleares (LPN), em geral, não estão aumentados na VB e podem explicar a ausência dos LPN nesta patologia².

Alguns autores têm demonstrado que a VB não é a mesma doença em todas as mulheres e que entre as pacientes diagnosticadas como portadoras de VB há uma grande variedade de diferentes microfloras ¹⁶.

No presente estudo, que faz parte de um ensaio clínico duplo cego randomizado comparando dois diferentes tratamentos para VB, foi estudada a microbiota encontrada em culturas de conteúdo vaginal, em mulheres portadoras deste corrimento vaginal e também foi pesquisada a presença de lactobacilos nas citologias oncóticas realizadas.

MÉTODOS

O presente estudo correspondeu a uma série de casos e foi realizado no Ambulatório da Mulher do Centro de Atenção à Mulher do Instituto Materno Infantil Professor Fernando Figueira (CAM-IMIP) – Recife, PE, como parte de um ensaio clínico randomizado, duplamente mascarado, que comparou dois esquemas tópicos de tratamento para Vaginose Bacteriana prescritos às mulheres atendidas em consulta ginecológica por médico participante do projeto, em ambulatório especialmente criado para este fim.

Ao todo, 462 mulheres foram recrutadas para a pesquisa, porém 185 não preencheram os critérios de inclusão ou exclusão. As restantes 277 mulheres, que efetivamente participaram tinham idade entre 18 e 40 anos e eram portadoras de vaginose bacteriana diagnosticada, concomitantemente, pelos critérios de Amsel e Nugent. Não foram incluídas no estudo mulheres grávidas ou com suspeita de gravidez, aquelas com história de uso de qualquer medicação (tópica ou sistêmica), principalmente antimicrobianos, nos últimos trinta dias, as que apresentassem candidíase ou tricomoníase, aquelas com integridade himenal e as que relataram história sugestiva de doença inflamatória pélvica aguda.

Os critérios descritos por Amsel e colaboradores fazem o diagnóstico de VB, observando-se as características do corrimento genital de aspecto bolhoso, branco ou acinzentado, o pH vaginal maior que 4,5, a positividade do teste das aminas (*whiff test*), com odor de peixe exalando após adição de duas gotas de hidróxido de potássio a 10% ao conteúdo vaginal depositado em uma lâmina e a presença de células-guia (clue cells) ao exame a fresco ou em esfregaço corado pelo Gram do corrimento genital. A presença de três destes critérios firma o diagnóstico clínico de vaginose bacteriana¹⁷.

O critério desenvolvido por Nugent e colaboradores, em 1991, consiste na coloração pelo Gram de esfregaço do conteúdo vaginal, com contagem dos morfotipos de Lactobacilos, Gardnerellas/Bacteróides e Mobiluncus existentes. Os tipos morfológicos são quantificados de 1+ a 4+ de acordo com o número deles por campo e somados. Considera-se Vaginose Bacteriana com escore 7 ou acima de 7. Um escore de 4 a 6 é considerado intermediário e um escore de 0 a 3 é considerado normal ¹⁸. É o método mais utilizado e avaliado em pesquisas para o diagnóstico da VB, sendo considerado padrão-ouro ^{1,6}.

Na consulta inicial, além dos exames referentes aos critérios diagnósticos citados anteriormente, foram também colhidos três swabs da secreção vaginal para cultura e lâmina com esfregaço duplo do colo uterino para citologia de Papanicolaou. O material foi semeado nos meios de Thayer Martin (gonococo), Sabouraud (fungos), Diamond (trichomonas) e Agar-sangue (anaeróbios). Foram realizadas ainda as dosagens de uréia, sacarose, maltose, glicose e lactose na secreção. Culturas em meios específicos para Gardnerella e Mycoplasma não foram procedidas. Nos esfregaços colpocitológicos foram identificadas as presenças de Gardnerella e Mobiluncus ou clue-cells e observada a ausência ou escassez de bacilos de Döderlein.

Após devidamente orientadas e esclarecidas sobre o projeto, as participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e tiveram seus dados sociodemográficos e reprodutivos coletados em questionário estruturado, aplicado por profissional treinado.

O presente estudo obedeceu aos postulados da Declaração de Helsinque e às recomendações da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. O projeto inicial foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IMIP.

RESULTADOS

Com relação à idade das 277 participantes do estudo, verificou-se que quase metade delas tinha de 25 a 34 anos (49,5%), seguida daquelas com 35 anos ou mais, que totalizaram 99 mulheres (35,7%). As mais jovens (18-24 anos) corresponderam a 14,8% do total. A média das idades foi de 31,4 anos com DP de 5,8. Chamou atenção a alta escolaridade das mulheres, tendo 59,9% delas, mais de nove anos de estudo, o que equivale ao ensino médio e ensino superior. As pacientes que nunca frequentaram a escola ou estudaram até quatro anos foram 49, número que representou 17,7% do total. Mais de metade das participantes da pesquisa (161 pacientes - 58,1%) tinha parceiro fixo no período da entrevista. Com relação ao uso de anticoncepção, 54,9% do total de mulheres utilizavam algum método para evitar gestações, sendo os mais prevalentes a laqueadura tubária, realizada anteriormente em 61 mulheres (40,2%) e a pílula, mencionada por 50 participantes, o que correspondeu a 32,9% das usuárias. O DIU estava inserido em somente 21 pacientes, correspondendo a pouco mais de 13% do total. Apenas uma paciente relatou utilizar preservativo masculino como método anticoncepcional, sendo incluída nos dois casos designados como outros (Tabela 1).

A Tabela 2 apresenta as queixas clínicas referidas pelas mulheres durante a entrevista inicial, sendo mais frequentes o corrimento genital, observado por 206 participantes (74,4%) e o odor de peixe da secreção vaginal, identificado por 190 pacientes, o que ocorreu em 68,6% dos casos. Outro sintoma bastante relatado foi o prurido genital, acusado por 112 mulheres (40,4%). Tanto a dispareunia de introdução, como a dispareunia profunda e o ardor foram queixas menos frequentes. Algumas mulheres queixaram-se de mais de um destes sintomas ao mesmo tempo (Tabela 2).

Segundo protocolo da pesquisa, o diagnóstico de Vaginose Bacteriana foi firmado utilizando-se os critérios de Amsel e Nugent concomitantemente. A Tabela 3 demonstra o

número de pacientes que apresentaram positividade para cada critério de Amsel em separado. A presença de clue-cells foi positiva na quase totalidade das mulheres (275 – 99,3%), seguida pela positividade ao teste de Whiff, que foi observada em 266 participantes (96,0%), ficando em terceiro lugar a aferição do $\text{pH} \geq 4,5$, que ocorreu em 92,8% dos casos. O critério menos frequente foi a presença de corrimento fluido e acinzentado, citado por 206 (74,4%) das participantes. Com relação aos Critérios de Nugent, a Tabela 3 mostra o número de mulheres classificadas em cada escore considerado diagnóstico (7-10). A mediana foi o valor 8,0.

As colpocitologias oncóticas colhidas nas mulheres portadoras de vaginose bacteriana mostraram presença muito escassa de lactobacilos, que estiveram presentes em apenas 8 citologias (2,9%) do total de 273 exames realizados (Tabela 4).

As culturas de conteúdo vaginal e os esfregaços corados pelo Gram permitiram a identificação de *Gardnerella vaginalis* em 96,8% e de *Mobiluncus* em 53,1% dos casos. Apenas uma terça parte dos exames mostrou a presença de *Lactobacillus* (89 mulheres – 32,1%). Houve crescimento de fungos em culturas de 14 participantes (5,1%). Na maior parte dos casos, os resultados das culturas de conteúdo vaginal demonstraram a presença de *Corynebacterium* (94,2%), componente normal do ecossistema vaginal, Cocos Gram positivos (98,2%) e Bacilos tanto Gram positivos (99,3%), quanto negativos (91,0%) (Tabela 4).

DISCUSSÃO

O presente estudo apresenta o perfil clínico, epidemiológico e bacteriológico no momento da primeira consulta, observado em mulheres portadoras de vaginose bacteriana, participantes de um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, realizado no Centro de Atenção à Mulher do Instituto Materno Infantil Professor Fernando Figueira (IMIP) – Recife, PE, onde foram utilizados, concomitantemente, os critérios de Amsel e Nugent para o diagnóstico etiológico do corrimento genital, sendo apresentados os parâmetros diagnósticos que com maior frequência mostraram-se positivos nos dois critérios. Foram também estudadas as bactérias pertencentes à microbiota vaginal das participantes, que foram isoladas de culturas de secreção e colpocitologias oncóticas realizadas previamente ao início do tratamento.

A faixa etária onde foi observada a maior distribuição percentual de vaginose bacteriana (VB) no presente estudo foi de 25 a 34 anos. Na literatura pesquisada, a idade constitui-se em fator de risco para o desenvolvimento da doença, sendo referida maior incidência entre a terceira e a quinta décadas de vida¹⁹. Tanaka et al, em 2007 encontraram resultados conflitantes, com predomínio de VB na faixa etária entre 15 e 19 anos (41,1%), seguida da faixa dos 10 aos 14 anos (33,3%). Como a idade mínima para ingressar na presente pesquisa foi de 18 anos, não houve a participação de adolescentes, não sendo possível a comparação entre os resultados obtidos.

O grau de escolaridade das mulheres participantes no atual estudo foi considerado bom, tendo quase 60% delas estudado durante um mínimo de nove anos (ensino médio ou superior). A metodologia utilizada não nos permite verificar associação entre escolaridade e vaginose bacteriana, mas em recente trabalho, os anos de estudo não foram considerados como fator de risco para VB²¹. Um fator referido como associado ao aumento do risco de aquisição de VB é o fato de a mulher ser solteira, possivelmente devido a uma maior

possibilidade de troca de parceiros. Na presente amostra, 58,1% das mulheres eram casadas ou tinham companheiro fixo. Não dispomos de um grupo de comparação que nos permita avaliar se essa frequência é diferente daquela de mulheres sem vaginose bacteriana.

Quanto ao uso de métodos contraceptivos, os mais utilizados foram a laqueadura tubária e a pílula, achados compatíveis com a literatura consultada, que mostra serem os dois métodos, as opções contraceptivas preferenciais das mulheres pernambucanas e nordestinas, estando cerca de metade das mulheres já esterilizadas (51%) e 24% serem usuárias de métodos hormonais, principalmente a pílula ²². A Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher, publicada em 2006, mostrou que 29% das mulheres no Brasil, atualmente vivendo em união conjugal, são esterilizadas, 21% tomam pílulas e pouco mais de 10% utilizam o preservativo masculino ²³. O uso de anticoncepcionais hormonais está associado com menor probabilidade de adquirir VB, assim como o uso consistente de camisinhas ²¹. O DIU, tradicionalmente associado à VB, esteve presente, na amostra em estudo, em 21 mulheres (13,8%) ⁶.

Com relação às queixas clínicas apresentadas pelas pacientes no momento do diagnóstico de VB, foram prevalentes as queixas clássicas de corrimento genital branco ou acinzentado e odor de peixe do conteúdo vaginal. Estudos recentes mostram que apenas uma minoria das portadoras de VB refere queixas de corrimento (42%) e odor fétido (25%) ²⁴. O relato de corrimento genital, entre as portadoras ou não de VB, não mostrou diferença estatisticamente significativa em pesquisa anterior ²⁴. A diferença entre as queixas referidas no estudo atual e nos que o antecederam se devem, provavelmente, ao fato de as pacientes terem sido indagadas quanto ao sintoma, o que deve ter determinado a frequência aumentada de resposta afirmativa. As queixas de ardor e prurido vaginais referidas pelas mulheres foram consideradas inesperadas, em virtude destes sintomas, em geral, não estarem presentes na VB, sendo frequentes nos casos de candidíase, que não pode ser identificada nos esfregaços

vaginais destas pacientes realizados naquele momento. Da mesma forma, Schwiertz et al descreveram terem encontrado alta incidência de queixas vaginais referidas (prurido, queimação, corrimento, odor e vermelhidão), que não puderam ser associadas com a presença de nenhum organismo específico ⁵. Também não se conseguiu relacionar as queixas de dispareunia, tanto a superficial, como a profunda, com o quadro de VB.

A pesquisa dos diferentes critérios diagnósticos de Amsel mostrou que o critério mais vezes positivo foi a presença de clue-cells, demonstrada na quase totalidade dos casos (99,3%), seguida do teste de Whiff, positivo em 96% das mulheres portadoras de VB. Trabalho publicado por O'Brien mostra que o critério mais sensível para o diagnóstico de VB é o pH vaginal (89%) e o que apresenta maior especificidade é o odor de peixe (93%). O corrimento branco ou acinzentado é, dentre os critérios diagnósticos de Amsel, o que apresenta menor especificidade (54%) ^{6,25}.

O critério de Nugent tem apresentado especificidade de 83% e sensibilidade de 89% quando comparado com os sinais clínicos ²⁶, embora seja pouco utilizado na prática clínica, porque requer um tempo maior para sua realização e um profissional treinado na leitura das lâminas ²⁷. O escore avalia o número de *Lactobacillus* (bacilos gram positivos, grandes) somado ao número de *Gardnerella* (organismos cocobacilares gram negativos) e também ao de *Mobiluncus* (bacilos curvos, finos, gram variáveis). O escore mais encontrado, no presente estudo, foi 8, o que correspondeu também à mediana. Estudos têm demonstrado diferentes morfotipos bacterianos entre as mulheres com escores de Nugent entre 7 e 10, reforçando a hipótese de que diferentes perfis de VB estão associadas com diferentes variáveis demográficas e sinais clínicos. *Mobiluncus* são associados com maior presença de clue-cells e maior frequência de liberação de aminas, após contato com hidróxido de potássio ¹⁶.

Na avaliação da microbiota vaginal, em apenas oito mulheres foram observados lactobacilos nos esfregaços colpocitológicos, o que correspondeu a 2,9% do total. A

colpocitologia oncótica não é adequada para o diagnóstico de VB porque a identificação da presença dos microorganismos não firma o diagnóstico, por estarem presentes também em pacientes assintomáticas⁸ e também não é um exame de escolha para avaliação da microbiota vaginal, provavelmente porque é colhido material da cérvix e não da vagina²⁸.

A microbiota vaginal normal apresenta um total de 10^8 a 10^9 de colônias bacterianas por mililitro de secreção vaginal, sendo que a concentração de espécies aeróbias e anaeróbias varia em diferentes momentos do ciclo menstrual. Qualitativamente, o número de diferentes espécies bacterianas varia de 17 a 29, enquanto quantitativamente, os anaeróbios são cerca de cinco vezes mais frequentes que os microorganismos aeróbios²⁹.

Na pesquisa em questão, em culturas de secreção vaginal realizadas na primeira consulta, antes de instituído o tratamento, observou-se predomínio de *Gardnerella*, identificada em 96,8% dos casos, seguido dos *Mobiluncus*, presentes em 53% das mulheres. A *Gardnerella vaginalis* e os anaeróbios podem ser isolados de mulheres com ecossistema vaginal normal, porém na vigência de VB, suas concentrações aumentam inúmeras vezes, associadas a declínio acentuado dos lactobacilos²⁹. Os *Lactobacillus*, como esperado, só estiveram presentes em 32% das amostras, enquanto os fungos cresceram em 5% dos casos estudados. A *Candida*, normalmente presente na secreção vaginal, em algumas condições adversas, como a diminuição dos lactobacilos e alteração do pH vaginal, podem proliferar e provocar uma vulvovaginite²⁰.

A proliferação de cocos está mais relacionada à invasão de bactérias provenientes do meio externo por hábitos higiênicos inadequados do que propriamente a alterações do pH vaginal¹⁹.

Como conclusões, poder-se-ia destacar a predominância dos sintomas clássicos de corrimento genital e odor fétido de peixe entre as portadoras de vaginose bacteriana, sendo os

demais sintomas menos prevalentes. A presença de clue cells nos esfregaços vaginais das mulheres e o odor característico de peixe exalado nos testes de Whiff foram os critérios clínicos mais observados no diagnóstico de VB. Houve predominância do escore 8 no critério bacteriológico, embora este número provavelmente represente diferentes microbiotas vaginais, com diferentes populações bacterianas. As colpocitologias não se prestam para diagnóstico de VB, porém a presença de Lactobacilos foi extremamente baixa nos exames realizados, podendo levar a suspeita diagnóstica. E, finalmente, que as bactérias mais identificadas nas culturas e no Gram foram *Corynebacterium*, *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus*. Permanecem necessários novos estudos que melhor elucidem as inter-relações entre os achados microbiológicos e a expressão clínica da doença.

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS E REPRODUTIVAS DE PACIENTES COM VAGINOSE BACTERIANA

Características	n	%
Idade (anos)		
18 - 24	41	14,8
25 - 34	137	49,5
≥35	99	35,7
Média ± DP	31,4 ± 5,8	
Anos de Estudo		
0-4	49	17,7
5-8	62	22,4
> 9	166	59,9
Com companheiro	161	58,1
Uso Anticoncepcional	152	54,9
Laqueadura	61	40,2
Pílula	50	32,9
DIU	21	13,8
Injetável	18	11,8
Outros	2	1,3

TABELA 2. QUEIXAS CLÍNICAS EM PACIENTES COM VAGINOSE BACTERIANA

Queixa clínica *	n	%
Corrimento	206	74,4
Odor de peixe	190	68,6
Dispareunia de introdução	51	18,4
Dispareunia profunda	72	26,0
Ardor	46	16,6
Prurido	112	40,4

* Uma mesma paciente pode ter apresentado mais de um sintoma.

TABELA 3. CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS (AMSEL E NUGENT) EM PACIENTES COM VAGINOSE BACTERIANA

Critérios	n	%
AMSEL		
Corrimento	206	74,4
Teste de Whiff	266	96,0
pH > 4,5	257	92,8
Presença de clue-cells	275	99,3
NUGENT		
7	69	24,9
8	100	36,1
9	66	23,8
10	42	15,2
Mediana	8,0	

TABELA 4. MICROBIOTA VAGINAL EM PACIENTES COM VAGINOSE BACTERIANA

PARÂMETRO	n	%
Colpocitologia*	(273)	
<i>Lactobacillus</i>	8	2,9
Cultura + Gram	(277)	
<i>Gardnerella</i>	268	96,8
<i>Mobiluncus</i>	147	53,1
<i>Lactobacillus</i>	89	32,1
Fungos	14	5,1
Cocos Gram+	272	98,2
Cocos Gram-	0	
Bacilos Gram+	275	99,3
Bacilos Gram-	252	91,0
<i>Corynebacterium</i>	261	94,2

*Não foram localizadas quatro citologias

REFERÊNCIAS

1. Yudin MH. Bacterial Vaginosis in Pregnancy: Diagnosis, Screening, and Management. *Clinics in Perinatology* 2005; 32: 617-627.
2. Sobel JD. What's New in Bacterial Vaginosis and Trichomoniasis? *Infectious Disease Clinics of North America* 2005; 19: 387-406.
3. Centers for Diseases Control and Prevention (CDC). Guidelines for Treatment of Sexually Transmitted Diseases. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002; 51(RR-6): 42.
4. Yamamoto T, Zhou X, Williams CJ, Hochwalt A, Forney LJ. Bacterial Populations in the Vaginas of Healthy Adolescent Women. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2009; 22:11-18.
5. Schwiertz A, Taras D, Rusch K, Rusch V. Throwing the dice for the diagnosis of vaginal complaints? *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2006; 5:4.
6. O'Brien RF. Bacterial vaginosis: many questions – any answers? *Curr Opin Pediatr* 2005; 17: 473-479.
7. Donders GG, Bosmans E, Dekeersmaecker A, Vereecken A, Van Bulck B, Spitz B. Pathogenesis of Abnormal Vaginal Bacterial Flora. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182(4): 872-878.
8. Hay PE. Recurrent Bacterial Vaginosis. *Dermatologic Clinics* 1998; 16(4): 769-773.
9. Atashili J, Poole C, Ndumbe PM, Adimora AA, Smith JS. Bacterial vaginosis and HIV acquisition: a meta-analysis of published studies. *AIDS* 2008; 22(12): 1493-1501.
10. Sewankambo N. HIV-1 infection associated with abnormal vaginal flora morphology and bacterial vaginosis. *Lancet* 1997; 350(9077): 546-50
11. Wilson J. Managing recurrent bacterial vaginosis. *Sex Transm Inf* 2004; 80:8-11.

12. Schwebke JR. Gynecologic consequences of bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol Clin N Am* 2003; 685-694.
13. Hay PE, Ugwumadu A, Chowns J. Sex, thrush, and bacterial vaginosis. *Int J STD AIDS* 1997; 8:603-608.
14. Carvalho MHB, Bittar RE, Maganha PPAS, Pereira SV, Zugaib M. Associação da vaginose bacteriana com o parto prematuro espontâneo. *Rev Bras Ginec Obstet* 2001; 23:529-33.
15. Gravett MG, Nelson HP, DeRouen T, Critchlow C, Eschenbach DA, Holmes KK. Independent associations of bacterial vaginosis and *Chlamydia trachomatis* infection with adverse pregnancy outcome. *JAMA* 1986; 256:1899-1903.
16. Pereira L, Culhane J, McCollum K, Agnew K, Nyirjesy P. Variation in microbiologic profiles among pregnant women with bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 2005; 193: 746-51.
17. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med* 1983; 74: 14-22.
18. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of Diagnosing Bacterial Vaginosis is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation. *J. Clin Microbiol* 1991; 29: 297-301.
19. Nai GA, Mello ALP, Ferreira AD, Barbosa RL. Frequência de *Gardnerella vaginalis* em esfregaços vaginais de pacientes histerectomizadas. *Rev Assoc Med Bras* 2007; 53(2):162-5.
20. Tanaka VA, Fagundes LJ, Catapan A, Gotlieb SLD, Belda Jr W, Arnone M et al. Perfil Epidemiológico de mulheres com vaginose bacteriana, atendidas em um

- ambulatório de doenças sexualmente transmissíveis, em São Paulo, SP. Na Bras Dermatol 2007; 82 (1): 41-6.
21. Smart S, Singal A, Mindel A. Social and sexual risk factors for bacterial vaginosis. Sex Transm Inf 2004; 80:58-62.
 22. Fernandes MFM. Mulher, família e reprodução: um estudo de caso sobre o planejamento familiar em periferia do Recife, Pernambuco, Brasil. Cad. Saúde Pública 2003; 19 (Sup 2): S253-S261.
 23. Ministério da Saúde - Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde, 2006.
 24. Klebanoff MA, Schwebke JR, Zhang J, Nansel TR, Yu KF, Andrews WW. Vulvovaginal Symptoms in Women With Bacterial Vaginosis. Obstet Gynecol 2004; 104 (2): 267-272.
 25. Gutman RE, Peipert JF, Weitzen S, Blume J. Evaluation of Clinical Methods for Diagnosing Bacterial Vaginosis. ACOG 2005; 105 (3): 551-556.
 26. Ness RB, Hillier SL, Richter HE. Douching in relation to bacterial vaginosis, lactobacilli, and facultative bacteria in the vagina. Obstet Gynecol 2002; 100:765-72.
 27. Yen S, Shafer MA, Moncada J, Campbell CJ, Flinn SD, Boyer CB. Bacterial Vaginosis in Sexually Experienced and Non-Sexually Experienced Young Women Entering the Military. Obstet Gynecol 2003; 102 (5) Part 1:927-933.
 28. Karani A, De Vuyst H, Luchters S, Othigo J, Mandaliya K, Chersich MF et al. The Pap smear for detection of bacterial vaginosis. Int J Gynecol Obstet 2007; 98:20-23.
 29. Katz. Comprehensive Gynecology, 5th ed. 2007.
- <http://www.mdconsult.com/das/book/body/170009617-2/0/1524/0.html>

5. CONCLUSÕES

- 1- Os índices de cura de Vaginose Bacteriana, com a utilização do gel vaginal de Aroeira, foram mais baixos que os obtidos com Metronidazol gel.
- 2- Os efeitos colaterais observados, após o uso das medicações foram pouco frequentes, sem maior gravidade e semelhantes, em ambos os grupos.
- 3- A Aroeira, em uso tópico vaginal, não mostrou melhor recuperação da microbiota, sendo necessárias novas pesquisas de tratamentos mais eficazes e que proporcionem menores índices de recorrência.
- 4- A descrição da microbiota das mulheres com Vaginose Bacteriana não mostrou diferenças em relação aos padrões já estabelecidos e as inter-relações entre os achados microbiológicos e a expressão clínica da doença precisam ser melhor esclarecidos.

6. REFERÊNCIAS

- ALLSWORTH, JE; PEIPERT, JF. **Prevalence of Bacterial Vaginosis 2001-2004 National Health and Nutrition Examination Survey Data**. Obstet Gynecol, 109 (1): 114-120, 2007.
- AMORIM, MMR; SANTOS, LC. **Tratamento da Vaginose Bacteriana com Gel Vaginal de Aroeira (Schinus terebinthifolius Raddi): Ensaio Clínico Randomizado**. RBGO, 2(25): 95-102, 2003.
- AMSEL, R.; TOTTEN, P.A.; SPIEGEL, L.C.A.; CHEN, K.C.; ESCHENBACH, D.; HOLMES, K.K. **Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations**. Am J Med, 74: 14-22, 1983.
- ANDREEVA, PM; OMAR, HA. **Effectiveness of current therapy of bacterial vaginosis**. Int J Adolesc Med Health, 14(2): 145-148, 2002.
- ATASHILI, J; POOLE, C; NDUMBE, PM; ADIMORA, AA; SMITH, JS. **Bacterial vaginosis and HIV acquisition: a meta-analysis of published studies**. AIDS, 22(12): 1493-1501, 2008.
- AUSTIN, MN; BEIGI, RH; MEYN, LA; HILLIER, SL. **Microbiologic Response to Treatment of Bacterial Vaginosis with Topical Clindamycin or Metronidazole**. J Clin Microbiol, 43: 4492-4497, 2005 .
- BACKER, ED; VERHELST, R; VERSTRAELEN, H; CLAEYS, G; VERSCHRAEGEN, G; TEMMERMAN, M; et al. **Antibiotic susceptibility of Atopobium vaginae**. BMC Infectious Diseases, 6:51, 2006.
- BARCELOS, MRB; VARGAS, PRM; BARONI, C; MIRANDA, AE. **Infecções genitais em mulheres atendidas em Unidade Básica de Saúde: prevalência e fatores de risco**. RBGO, 30(7): 349-54, 2008.
- BEIGI, RH; AUSTIN, MN; MEYN, LA; KROHN, MA; HILLIER, SL. **Antimicrobial Resistance associated with the treatment of bacterial vaginosis**. Am J Obstet Gynecol, 191: 1124-9, 2004.
- BIRLEY, H; DUERDEN, BI; HART, CA. **Sexually transmitted diseases: microbiology and management**. J Med Microbiol, 51: 793-807, 2002.
- BISTOLETTI, P; FREDRICSON, B; HAGSTRÖM, B; NORD, CE. **Comparison of Oral and Vaginal Metronidazole Therapy for Nonspecific Bacterial Vaginosis**. Gynecol Obstet Invest, 21: 144-149, 1986.

- BRANDT, M; ABELS, C; MAY, T; LOHMANN, K; SCHMIDTS-WINKLER, I; HOYME, UB. **Intravaginally applied metronidazole is as effective as orally applied in the treatment of bacterial vaginosis, but exhibits significantly less side effects.** Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 141:158-62, 2008.
- BROTMAN, RM; ERBELDING, EJ; JAMSHIDI, RM; KLEBANOFF, MA; ZENILMAN, JM; GHANEM, KG. **Findings associated with recurrence of bacterial vaginosis among adolescents attending sexually transmitted diseases clinics.** J Pediatr Adolesc Gynecol, 20: 225-31, 2007.
- BURTIN, P; TADDIO, A; ARIBURNU, O; EINARSON, TR; KOREN, G. **Safety of metronidazol in pregnancy: a meta-analysis.** Obstet Gynecol, 172: 525-9, 1995.
- CAMARGO, RPS. **Comparação entre Acidform e metronidazol gel para o tratamento da vaginose bacteriana: ensaio clínico piloto fase II.** Campinas 2004 [Tese Doutorado- Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP].
- CARVALHO, M.H.B.; BITTAR, R.E. MAGANHA, P.P.A.S.; PEREIRA, S.V., ZUGAIB, M. **Associação da vaginose bacteriana com o parto prematuro espontâneo.** Rev Bras Ginecol Obstet, 23: 529-33, 2001.
- CAUCI, S; HITTI, J; NOONAN, C; AGNEW, K; QUADRIFOGLIO, F; HILLIER, SL; et al. **Vaginal hydrolytic enzymes, immunoglobulin A against Gardnerella vaginalis toxin, and risk of early preterm labor with bacterial vaginosis or intermediate flora.** Am J Obstet Gynecol, 187: 877-81, 2002.
- CENTER FOR DISEASES CONTROL. **Guidelines for Treatment of Sexually Transmitted Diseases.** MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 51 (RR-6): 42, 2002.
- CENTER FOR DISEASES CONTROL. **Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines.** MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 55 (RR-11): 50, 2006.
- CORREIA, MP. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil.** Rio de Janeiro, Editora Nacional, Reimpressão MEC/IBAMA, vol 6, 1978.
- COSTERTON, W; VEEH, R; SHIRTIFF, M; et al. **The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections.** J Clin Inves, 112: 1466-77, 2003.

- DECENA, DCD; CO, JT; MANALASTAS JR, RM; PALAYPAYON, EP; PADOLINA, CS; SISON, JM; et al. **Metronidazole with Latacyd vaginal gel in bacterial Vaginosis**. J Obstet. and Gynaecol. Res., 32 (2): 243-251, 2006.
- DEGÁSPARI, CH; WASZCZYNSKYJ, N; PRADO, MRM. **Atividade Antimicrobiana de Schinus terebinthifolius Raddi**. Ciênc agrotec, Lavras, v 29, n 3, p 617-622, 2005.
- DEGÁSPARI, CH; WASZCZYNSKYJ, N; SANTOS, RJ DOS. **Atividade Antioxidante de Extrato de Fruto de Aroeira (Schinus terebinthifolius Raddi)**. Visão Acadêmica, Curitiba v5, n2, p 83-90, 2004.
- DONDERS, G.G.; BOSMANS, E.; DEKEERSMAECKER, A.; VEREECKEN, A.; VAN BULCK, B.; SPITZ, B. **Pathogenesis of abnormal vaginal bacterial flora**. Am J Obstet Gynecol, 182(4): 872-878, 2000.
- DRAGO, L; De VECCHI, E; NICOLA, L; ZUCCHETTI, E; GISMONDO, MR; VICARIOTTO, F. **Activity of Lactobacillus acidophilus – Based Douche for the Treatment of Bacterial Vaginosis**. The Journal of Alternative and Complementary Medicine, 13(4): 435-438, 2007.
- ELEUTÉRIO JR, J. **Vaginose Bacteriana. É a falta de infiltrado inflamatório vaginal um fator importante?** RBAC, 37(4): 219-221, 2005.
- ERB, T; BEIGI, RH. **Update on Infectious Diseases in Adolescent Gynecology**. J Pediatr Adolesc Gynecol, 21: 135-143, 2008.
- FERNANDES, MFM. **Mulher, família e reprodução: um estudo de caso sobre o planejamento familiar em periferia do Recife, Pernambuco, Brasil**. Cad. Saúde Pública, 19 (Sup 2): S253-S261, 2003.
- FERRIS, DG; LITAKER, MS; WOODWARD, L; MATHIS, D; HENDRICH, J. **Treatment of bacterial vaginosis: a comparison of oral metronidazole, metronidazole vaginal gel, and clindamycin vaginal cream**. J Fam Pract, 41(5): 443-9, 1995.
- FERRIS, MJ; MASZTAL, A; ALDRIDGE, KE; FORTENBERRY, JD; FIDEL JR, PL; MARTIN, DH. **Association of Atopobium vaginae, a recently described metronidazole resistant anaerobe, with bacterial vaginosis**. BMC Infectious Diseases, 4:5, 2004.

- FIORILLI, A; MOLTENI, B; MILANI, M. **Successful treatment of bacterial vaginosis with a polycarbophil-carbopol acidic vaginal gel: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial.** Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 120: 202-5, 2005.
- FREDRICKS, DN; **Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis.** J Clin Microbiol, 45 (10): 3270-6, 2007.
- FURONES MOURELLE, J. A. **Anti-inflammatory activity of Schinus terebinthifolius (Copal) in Rats.** Rev Cub Farm, 27: 139-44, 1993.
- GARDNER, H.L.; DUKES, C.D. **Haemophilus vaginalis vaginitis: A newly defined specific infection previously classified "nonspecific" vaginitis.** Am J Obstet Gynecol, 69:962-965, 1955.
- GIBBS, RS. **Asymptomatic bacterial vaginosis: is it time to treat?** Am J Obstet Gynecol, 495-6, June, 2007.
- GOMES, FAM. **Valor do exame clínico especular e da anamnese para o diagnóstico do corrimento vaginal.** Campinas, 2003. [Tese Doutorado-Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP].
- GRAVETT, M.G.; NELSON, H.P.; DeROUEN, T.; CRITCHLOW, C.; ESCHENBACH, D.A.; HOLMES, K.K. **Independent associations of bacterial vaginosis and Chlamydia trachomatis infection with adverse pregnancy outcome.** JAMA, 256:1899-1903, 1986.
- GUERREIRO, HMN; BARBOSA, HS; CONCEIÇÃO FILHO, JL; TISHCHENKO, LM; HAGGE, S. **Flora Vaginal e Correlação com Aspectos Citológicos.** Rev Saúde públ S Paulo, 20 (6): 415-20, 1986.
- GUTMAN, RE; PEIPERT, JF; WEITZEN, S; BLUME, J. **Evaluation of clinical methods for diagnosing bacterial vaginosis.** ACOG, 105 (3): 551-6, 2005.
- HANSON, JM; MCGREGOR, JA; HILLIER, SL; ESCHENBACH, DA; KREUTNER, AK; GALASK, RP; et al. **Metronidazole for Bacterial Vaginosis: a comparison of vaginal gel vs. oral therapy.** The Journal of Reproductive Medicine, 45(11), 889-896, 2000.

- HAY, P.E. **Recurrent bacterial vaginosis**. Dermatologic Clinics, 16(4): 769-773, 1998.
- HAY, P.E., UGWUMADU, A.; CHOWNS, J. **Sex, thrush, and bacterial vaginosis**. Int J STD AIDS, 8:603-608, 1997.
- HILLIER, SL; LIPINSKI, C; BRISELDEN, AM; ESCHENBACH, DA. **Efficacy of intravaginal 0.75% metronidazole gel for the treatment of bacterial vaginosis**. Am J Obstet Gynecol, 81: 963-7, 1993.
- HILMARSDÓTTIR, I; HAUKSDÓTTIR, GS; JÓHANNESDÓTTIR, JD; DANÍELSDÓTTIR, T; THORSTEINSDÓTTIR, H.; ÓLAFSSON, JH. **Evaluation of a Rapid Gram Stain Interpretation Method for Diagnosis of Bacterial Vaginosis**. Journal of Clinical Microbiology, 44 (3), 1139-1140, 2006.
- HOLZMAN, C; LEVENTHAL, JM; QIU, H; JONES, NM; WANG, J AND BV STUDY GROUP. **Factors Linked to Bacterial Vaginosis in Nonpregnant Women**. American Journal of Public Health, 91 (10): 1664-1670, 2001.
- JOHNSON, GL. **Tinidazole (Tindamax) for Trichomoniasis and Bacterial Vaginosis**. Steps. New Drug Reviews. www.aafp.org/afp.
- JOSEY, WE; SCHWEBKE, JR. **The polymicrobial hypothesis of bacterial vaginosis causation: a reassessment**. Int J STD AIDS, 19: 152-154, 2008.
- KARANI, A; DE VUYST, H; LUCHTERS, S; OTHIGO, J; MANDALIVA, K; CHERSICH, MF; et al. **The Pap smear for detection of bacterial vaginosis**. Int J Gynecol Obstet, 98:20-23, 2007.
- KATZ. **Comprehensive Gynecology**, 5th ed. 2007.
<http://www.mdconsult.com/das/book/body/170009617-2/0/1524/0.html>
- KLEBANOFF, S.J.; HILLIER, S.L.; ESCHENBACH, D.A.; et al. **Control of the microbial flora of the vagina by H202-generating lactobacilli**. J Infect Dis, 164:94-97, 1991.
- KLEBANOFF, S.J.; COOMBS, R.W. **Viricidal effect of Lactobacillus acidophilus on human immunodeficiency virus type 1: Possible role in heterosexual transmission**. J Exp Med, 174:289-292, 1991.

KLEBANOFF, MA; SCHWEBKE, JR; ZHANG, J; NANSEL, TR; YU, KF; ANDREWS, WW. **Vulvovaginal Symptoms in Women With Bacterial Vaginosis**. *Obstet Gynecol*, 104 (2): 267-272, 2004.

KLEPSER, TB; KLEPSER, ME. **Unsafe and potentially safe herbal therapies**. *Am J Health Syst Pharm*, 56: 125-38, 1999.

KLOMP, J.M.; BOON, M.E.; VAN HAAFTEN, M.; HEINTZ, P.M. **Cytologically diagnosed Gardnerella vaginalis infection and cervical (pre)neoplasia as established in population-based cervical screening**. *Am J Obstet Gynecol*, 199: 480e1 - 480e5, 2008.

LAMONT, RF; DUNCAN, SLB; MANDAL, D; BASSET, P. **Intravaginal clindamycin to reduce preterm birth in women with abnormal genital tract flora**. *Obstet Gynecol*, 101: 516-22, 2003.

LANDERS, DV; WIESENFELD, HC; HEINE, RP; KROHN, MA; HILLIER, SL. **Predictive value of the clinical diagnosis of lower genital tract infection in women**. *Am J Obstet Gynecol*, 190, 1004-10, 2004.

LARSSON, PG; FORSUM, U; **Bacterial vaginosis- a disturbed bacterial flora and treatment enigma**. *APMIS*, 113/5: 305-16, 2005.

LARSSON, PG; PEDERSEN, BS; RYTTIG, KR; LARSEN, S. **Human lactobacilli as supplementation of clindamycin to patients with bacterial vaginosis reduce the recurrence rate; a 6-month, double-blind, randomized, placebo-controlled study**. *BMC Women's Health*, 8:3, 2008.

LIMA, EO; PEREIRA, FO; LIMA, IO; TRAJANO, VM; SOUZA, EL. **Schinus terebinthifolius Raddi: avaliação do espectro de ação antimicrobiana de seu extrato aquoso**. *Infarma*, v 16, n 7-8, 2004.

LIVENGOD III, CH; FERRIS, DG; WIESENFELD, HC; HILLIER, SL; SOPER, DE; NYIRJESY, P; et al. **Effectiveness of Two Tinidazole Regimens in Treatment of Bacterial Vaginosis: a randomized controlled trial**. *Obstet Gynecol*, 110 (2) part 1: 302-309, 2007.

- MARTINEZ, M.J.; GONZALEZ, N.A.; BADELL, J.B. **Actividad antimicrobiana del *Schinus terebinthifolius* Raddi (Copal).** Ver Cub Plant Med, 1: 37-9, 1996.
- MATOS, FJA. **Farmácias Vivas.** 2a. Edição. Fortaleza, EDUFCE, 1994.
- MAZULLI, T; SIMOR, AE; LOW, DE. **Reproducibility of Interpretation of Gram-stained vaginal smears for the diagnosis of bacterial vaginosis.** J Clin Microbiol, 28(7): 1506-8, 1990.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde,** 2006.
- MINOZZI, M; GERLI, S; DI RENZO, GC; PAPALEO, E; FERRARI, A. **The efficacy and safety of a single dose of polyhexamethylene biguanide gynaecologic solution versus a seven-dose regimen of vaginal clindamycin cream in patients with bacterial vaginosis.** Eur Rev Med Pharmacol Sci, 12: 59-65, 2008.
- MOHER, D; SCHULTZ, KF; ALTMAN, DG; for the CONSORT Group. **The CONSORT Statement: Revised Recommendations for Improving the Quality of Reports of Parallel-Group Randomised Trials.** The Lancet, 357: 1191-1194, 2001.
- MOI, H; ERKKOLA, R; JERVE, F; NELLEMAN, G; BYMOSE, B; ALAKSEN, K et al. **Should male consorts of women with bacterial vaginosis be treated?** Genitourin Med, 65: 263-268, 1989.
- MRAVCAK SA. **Primary Care for Lesbians and Bisexual Women.** Am Fam Physician, 74: 279-86, 287-8, 2006.
- NAI, GA; MELLO, ALP; FERREIRA, AD; BARBOSA, RL. **Frequência de *Gardnerella vaginalis* em esfregaços vaginais de pacientes hysterectomizadas.** Rev Assoc Med Bras, 53(2):162-5, 2007.
- 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, 194: 381-6, 2006.
- NESS, RB; HILLIER, SL; RICHTER, HE. **Douching in relation to bacterial vaginosis, lactobacilli, and facultative bacteria in the vagina.** Obstet Gynecol, 100:765-72, 2002.
- NEWTON, ER; PIPER, JM; SHAIN, RN; PERDUE, ST; PEAIRS, W. **Predictors of the vaginal microflora.** Am J Obstet Gynecol, 184 (5): 845-55, 2001.

- NYIRJESY, P; MCINTOSH, MJ; GATTERMEIR, DJ; SCHUMACHER, RJ; STEINMETZ, JI; JOFFRION, JL. **The effects of intravaginal clindamycin and metronidazole therapy on vaginal lactobacilli in patients with bacterial vaginosis.** Am J Obstet Gynecol, 194: 1277-82, 2006.
- NYIRJESY, P; MCINTOSH, MJ; STEINMETZ, JI; SCHUMACHER, RJ; JOFFRION, JL. **The effects of intravaginal clindamycin and metronidazole therapy on vaginal mobiluncus morphotypes in patients with bacterial vaginosis.** Sex Transm Dis, (4): 197-202, 2007.
- NYIRJESY, P. **Vulvovaginal Candidiasis and Bacterial Vaginosis.** Infect Dis Clin N Am, 22: 637-652, 2008.
- NUGENT RP; KROHN, MA; HILLIER, SL. **Reliability of Diagnosing Bacterial Vaginosis is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation.** J. Clin Microbiol, 29: 297-301, 1991.
- O'BRIEN, R.F. – **Bacterial vaginosis: many questions – any answers?** - Current Opinion in Pediatrics, 17: 473-479, 2005.
- PATTERSON, JL; GIRERD, PH; KARJANE, NW; JEFFERSON, KK. **Effect of biofilm phenotype on resistance of Gardnerella vaginalis to hydrogen peroxide and lactic acid.** Am J Obstet Gynecol, 197: 170.e1-170.e7, 2007.
- PEREIRA, L; CULHANE, J; MCCOLLUM, K; AGNEW, K; NYIRJESY, P. **Variation in microbiologic profiles among pregnant women with bacterial vaginosis.** Obstet Gynecol, 193: 746-51, 2005.
- PIPER, JM; MITCHEL, EF; RAY, WA – **Prenatal use of metronidazol and birth defects: no association.** Obstet Gynecol, 82: 348-52, 1993.
- PLOURD, DM. **Practical Guide to Diagnosing and Treating Vaginitis.** Medscape Women's Health, 2 (2), 1997.
<http://www.medscape.com/medscape/WomensHealth/journal/1997/v02.n02/w293.plourd/w293.plourd.html>

- POTTER, J. **Should sexual partners of women with bacterial vaginosis receive treatment?** British Journal of General Practice, 49: 913-918, 1999.
- RIBAS, MO; SOUSA, MH; SARTORETTO, J; LANZONI, TA; NORONHA, L; ACRA, LA. **Efeito da Schinus terebinthifolius Raddi sobre o Processo de Reparo Tecidual das Lesões Ulceradas Induzidas na Mucosa Bucal do Rato.** Revista Odonto Ciência, 21 (53): 245-252, 2006.
- RIO, SMP – **Corrimento Vaginal** in CAMARGOS, AF; MELO, VH – Ginecologia Ambulatorial – 646p - Belo Horizonte: Coopmed, 2001.
- RISSE, JMH; RISSE, WL; RISSE, AL. **Epidemiology of Infections in Women.** Infect Dis Clin N Am, 22: 581-599, 2008.
- SANDERS, MH. **Clinical Use of Probiotics: What Physicians Need to Know.** American Family Physician, 78(9): 1026, 2008.
- SANTOS, L.C.; AMORIM, M.M.R. – **Uso da Aroeira (Schinus terebinthifolius Raddi) para tratamento de infecções vaginais.** Femina, 30: 339-42, 2002.
- SCHLICHT, JR. **Treatment of Bacterial Vaginosis.** The Annals of Pharmacotherapy, 28: 483-487, 1994.
- SCHWEBKE, JR; DESMOND, R. **A Randomized trial of metronidazole in asymptomatic bacterial vaginosis to prevent the acquisition of sexually transmitted diseases.** Am J Obstet Gynecol, 196: 517. e1- 517.e6, 2007.
- SCHWEBKE, JR – **Gynecologic Consequences of Bacterial Vaginosis.** Obstetrics and Gynecology Clinics of North America, 30: 685-694, 2003.
- SCHWEBKE, JR; HILLIER, SL; SOBEL, JD; MCGREGOR, JA; SWEET, RL. **Validity of the Vaginal Gram Stain for the Diagnosis of Bacterial Vaginosis.** Obstetrics and Gynecology, 88 (4) Part 1: 573-576, 1996.
- SCHWIERTZ, A; TARAS, D; RUSCH, K; RUSCH, V. **Throwing the dice for the diagnosis of vaginal complaints?** Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 5:4, 2006.

- SEWANKAMBO, N; GRAY, R.H; WAWER, M.J; PAXTON, L; McNAIM, D; WABWIRE MANGEN, F; et al. **HIV-1 infection associated with abnormal vaginal flora morphology and bacterial vaginosis**. Lancet, 350:546-550, 1997.
- SILVA, LBL; ALBUQUERQUE, EM; ARAUJO, EL; SANTANA, DP. **Avaliação clínica preliminar de diferentes formulações de uso vaginal à base de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. RBM Rev Bras Med, 61 (6): 381-4, 2004.
- SIMBAR, M; AZARBAD, Z; MOJAB, F; ALAVI MAJD, H. **A comparative study of the therapeutic effects of the *Zataria multiflora* vaginal cream and metronidazole vaginal gel on bacterial vaginosis**. Phytomedicine, 15: 1025-31, 2008.
- SIMÕES, CM. **Plantas da Medicina Popular do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, Editora da Universidade (UFRGS), 1988.
- SIMÕES, JA; BEHAMONDES, LG; CAMARGO, RPS; ALVES, VMN; ZENEVELD, LJD; WALLER, DP; et al. **A pilot clinical trial comparing an acid-buffering formulation (ACIDFORM gel) with metronidazole gel for the treatment of symptomatic bacterial vaginosis**. Br J Clin Pharmacol, 61:2:211-7, 2005.
- SMART, S; SINGAL, A; MINDEL, A. **Social and sexual risk factors for bacterial vaginosis**. Sex Transm Inf, 80:58-62, 2004.
- SOBEL, JD – **What's New in Bacterial Vaginosis and Trichomoniasis?**. Infectious Disease Clinics of North America, 19:387-406, 2005.
- SOBEL, JD; FERRIS, D; SCHWEBKE, J; NYIRJESY, P; WIESENFELD, HC; PEIPERT, J; et al. **Suppressive antibacterial therapy with 0.75% metronidazole vaginal gel to prevent recurrent bacterial vaginosis**. Am J Obstet Gynecol, 194: 1283-9, 2006.
- SPIEGEL, CA; AMSEL, R; HOLMES, KK. **Diagnosis of bacterial vaginosis by direct Gram stain of vaginal fluid**. J Clin Microbiol, 18: 170-7, 1983.
- 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, 198: 97.e1- 97.e6, 2008.

- SWIDSINSKI, A; MENDLING, W; LOENING-BAUCKE, V; LANDHOFF, A;
SWIDSINSKI, S; HALE, LP; LOCHS, H. **Adherent Biofilms in Bacterial Vaginosis.** Obstet Gynecol, 106 (5) Part 1:1013-1023, 2005.
- SWEET, RL. **New approaches for the treatment of bacterial vaginosis** Am J Obstet Gynecol, 169 (2) part 2: 479-482, 1993.
- TANAKA, VA; FAGUNDES, LJ; CATAPAN, A; GOTLIEB, SLD; BELDA, Jr W;
ARNONE, M; et al. **Perfil Epidemiológico de mulheres com vaginose bacteriana, atendidas em um ambulatório de doenças sexualmente transmissíveis, em São Paulo, SP.** Na Bras Dermatol, 82 (1): 41-6, 2007.
- TAYLOR-ROBINSON, D.; HAY, P.E. – **The pathogenesis of the clinical signs of bacterial vaginosis and possible reasons for its occurrence.** Int J STD AIDS, 8(S1):13, 1997.
- THOMAS, KK; SANCHES, S; GARCIA, P; HOLMES, KK. **Why do different criteria for “cure” yield different conclusions in comparing two treatments for bacterial vaginosis?** Sexually Transmitted Diseases, 32 (9): 526-530, 2005.
- VERTERAMO, R.; PIERANGELI, A.; MANCINI, E.; CALZOLARI, E.; BUCCI, M.; OSBORN, J. et al. **Human Papillomaviruses and genital co-infections in gynaecological outpatients.** BMC Infectious Diseases, 9: 16, 2009.
- WILSON, J. **Managing Recurrent Bacterial Vaginosis.** Sexually Transmitted Infections, 80: 8-11, 2004.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005.** WHO, Geneva, 2002.
- WU, JP; FIELDING, SL; FISCELLA, K. **The effect of polycarbophil gel (Replens®) on bacterial vaginosis: A pilot study.** Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 130:132-6, 2007.
- YAMAMOTO, T; ZHOU, X; WILLIAMS, CJ; HOCHWALT, A; FORNEY, LJ. **Bacterial Populations in the Vaginas of Healthy Adolescent Women.** J Pediatr Adolesc Gynecol, 22:11-18, 2009.

YEN, S; SHAFER, MA; MONCADA, J; CAMPBELL, CJ; FLINN, SD; BOYER, CB.
Bacterial Vaginosis in Sexually Experienced and Non-Sexually Experienced Young Women Entering the Military. Obstet Gynecol, 102 (5) Part 1:927-933, 2003.

YUDIN, MH – **Bacterial Vaginosis in Pregnancy: Diagnosis, Screening, and Management.** Clin Perinatol, 32: 617-627, 2005.

ZAMITH, R; LIMA, GR; GIRÃO, MJBC – **Doenças Sexualmente Transmissíveis** in LIMA, GR; GIRÃO, MJBC; BARACAT, EC - Ginecologia de Consultório – 397p – São Paulo: Editora Projetos Médicos, 2003.

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. Microbiology, 150 (Pt8): 2565-73, 2004.

APÊNDICE I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(De acordo com os critérios da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Pesquisa)

EU, _____, PACIENTE

MATRICULADA NO INSTITUTO MATERNO INFANTIL PROF. FERNANDO

--	--	--	--	--	--	--	--

RO

, ABAIXO-ASSINADA, CONCORDO EM PARTICIPAR, VOLUNTARIAMENTE, DO ESTUDO “ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO COMPARANDO A EFICÁCIA ENTRE METRONIDAZOL E AROEIRA EM USO TÓPICO VAGINAL NO TRATAMENTO DA VAGINOSE BACTERIANA”.

Fui devidamente informada, pela Dra. Sonia Figueiredo e sua equipe, que será feito um sorteio entre dois tratamentos, para ver qual será administrado no meu caso.

Serão comparados os tratamentos feitos com gel vaginal de Metronidazol, que é o mais comumente utilizado para tratar a Vaginose Bacteriana, e outro, com o gel vaginal de Aroeira (*Shinus terebinthifolius* Raddi), também comprovadamente eficaz para o tratamento. Ambos serão utilizados durante 07 dias, em aplicações vaginais à noite, ao deitar.

Ao concordar em participar, estou perfeitamente consciente que:

1. Aceitei fazer parte da pesquisa sem receber qualquer tipo de pressão dos médicos que conduzem o projeto.
2. Continuarei sendo atendida neste serviço e recebendo toda a atenção, independente de minha participação na pesquisa ou não.
3. Os exames, que serão realizados, são os mesmos utilizados em vários serviços, no Brasil e no exterior, em casos semelhantes ao que apresento.
4. Fui informada que, se forem observadas complicações e/ou efeitos adversos durante a pesquisa, o estudo será suspenso **e terei a garantia de receber o tratamento mais indicado para cada caso, pela equipe da pesquisa.**
5. Sei também que, se um tratamento durante a pesquisa, for muito melhor que o outro, o estudo será interrompido, e o melhor tratamento será dado para todas as mulheres.
6. Poderei desistir de participar do estudo a qualquer momento, caso não me sinta satisfeita, sem que isso venha a prejudicar meu atendimento no referido serviço.

7. Meus dados pessoais serão mantidos em absoluto sigilo pela equipe da pesquisa.
8. Em caso de dúvidas ou surgimento de um sintoma inesperado poderei, a qualquer momento, entrar em contato ou com a pesquisadora principal, Dra. Sonia Figueiredo, através dos telefones (81) 91115811 e (81) 34653900 ou com a Emergência da Ginecologia do IMIP, pelos números (81) 21224180 e (81) 2122 4707.

Recife, _____/_____/_____

Assinatura da paciente

Assinatura do profissional responsável pelo atendimento

Assinatura do pesquisador

Assinatura do orientador

APÊNDICE II

Ensaio Clínico Randomizado Comparando a Eficácia entre Metronidazol e Aroeira em Uso Tópico Vaginal no Tratamento da Vaginose Bacteriana

FORMULÁRIO DA PESQUISA

DADOS GERAIS		
1. Número do Formulário (Preenchido pelo Coordenador) 	2. Auxiliar de Pesquisa _____	
3. Data da Entrevista ____/____/____	4. Número do Prontuário 	
IDENTIFICAÇÃO		
5. Nome da Paciente _____		
6. Nome da Mãe _____		
7. Qual a sua idade? Anos (incluir mulheres entre 18 e 40 anos)	8. Qual a data de seu nascimento? ____/____/____	
DADOS DO DOMICÍLIO		
9. Rua _____	10. Número 	11. Apto
12. Ponto de Referência (máximo de detalhes possíveis para localização posterior, se necessário) _____ _____ _____ _____		
13. Bairro _____	14. CEP (se souber) —	

15. Telefone										Ramal					
CRITÉRIOS PARA EXCLUSÃO															
16. Você é virgem? 1. Sim 2. Não 3. Não sabe informar													☐		
17. Existe alguma possibilidade de você estar grávida? 1. Sim 2. Não 3. Não sabe informar													☐		
18. Você tomou, nos últimos 30 dias, algum antibiótico? 1. Sim 2. Não 3. Não sabe informar													☐		
19. Nos últimos 30 dias, você tomou algum remédio ou colocou na vagina? 1. Sim 2. Não 3. Não sabe informar													☐		
Se nos itens 16,17,18 ou 19 a resposta for <u>SIM</u> , a paciente não poderá participar do estudo. Se não houver nenhuma resposta SIM , continuar o questionário.															
DADOS PESSOAIS															
20. Você sabe ler e escrever? 1. Sim 2. Não														☐	
21. Qual foi o último ano que você estudou na escola, sendo aprovada? _____															
22. Qual o seu estado civil? 1. Solteira 2. Casada/vive junto 3. Viúva 4. Separada/divorciada														☐	
HISTÓRIA CLÍNICO-GINECOLÓGICA															
23. Qual a data da sua última menstruação? _____/_____/_____							24. Você tem menstruações regulares? (menstrua mais ou menos apenas uma vez por mês) 1. Sim 2. Não							☐	
25. Você usa DIU? 1. Sim 2. Não							☐	26. Você usa outro anticoncepcional? 1. Sim 2. Não							☐

27. Qual? _____	28. Atualmente, você tem relações sexuais? 1. Sim 2. Não ☐
29. Você toma algum remédio regularmente? 1. Sim ☐ 2. Não	30. Qual? _____
31. Quais dentre os sintomas abaixo você sente?	
1. Corrimento fino branco ou acinzentado ☐ ☐ ☐ 2. Ardor ☐ ☐ ☐ 3. Odor desagradável de peixe que piora com a menstruação/relação ☐ ☐ ☐ 4. Coceira ☐ ☐ ☐ 5. Dor à penetração na relação sexual ☐ ☐ ☐ 6. Dor profunda na relação sexual ☐ ☐ ☐	
DADOS DIAGNÓSTICOS	
32. Colpocitologia oncótica pré-tratamento 1. Citologia insatisfatória para avaliação 2. Citologia satisfatória para avaliação 3. Lesão de baixo-grau (HPV e NIC I) 4. Lesão de alto-grau (NIC II e NIC III) ☐	33. Bactérias identificadas na Citologia Oncótica pré-tratamento: _____ _____ _____ _____ _____
34. Bactérias isoladas na Cultura de Secreção Vaginal pré-tratamento _____ _____ _____	
35. Presença de Lactobacilos na Citologia pré-tratamento 1. Sim ☐ 2. Não	36. Resultado pH vaginal pré-tratamento _____
37. Teste das Aminas pré-tratamento 1. Positivo ☐ 2. Negativo	38. Presença de Células-Guia pré-tratamento 1. Sim ☐ 2. Não

39. Escore de Nugent pré-tratamento	
PRIMEIRO CONTROLE PÓS-TRATAMENTO	
40. Data do retorno da paciente	41. Você usou o creme vaginal nos sete dias?
	1. Sim 2. Não ☐
42. Se não, por quê?	
43. Você teve alguma complicação enquanto usou o creme vaginal?	44. Se houve complicação, qual (is) foi (ram)?
1. Sim 2. Não ☐	1. Ardor 2. Queimação 3. Assadura 4. Inchaço 5. Vermelhidão 6. Ferida 7. Coceira 8. Sangramento ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐
45. Teve relações sexuais enquanto estava usando o creme vaginal?	46. Usou camisinha na relação sexual que teve enquanto estava usando o creme vaginal?
1. Sim 2. Não ☐	1. Sim 2. Não ☐
SEGUNDO CONTROLE PÓS-TRATAMENTO	
47. Data do retorno da paciente	48. Data da última menstruação
49. Teve relações sexuais desde quando acabou de usar o creme vaginal até hoje?	50. Usou camisinha em todas as relações sexuais que teve desde quando acabou de usar o creme vaginal até hoje?
1. Sim 2. Não ☐	1. Sim 2. Não ☐

51. Quais dentre os sintomas abaixo você está sentindo? 1 Corrimento fino branco ou acinzentado 2 Ardor 3 Odor desagradável de peixe que piora com a menstruação/relação 4 Coceira 5 Dor à penetração na relação sexual 6 Dor profunda na relação sexual 7 Nenhum sintoma	
52. Colpocitologia oncótica pós-tratamento 1. Citologia insatisfatória para avaliação 2. Citologia satisfatória para avaliação 3. Lesão de baixo-grau (HPV e NIC I) 4. Lesão de alto-grau (NIC II e NIC III) ☐	53. Bactérias identificadas na Citologia Oncótica pós-tratamento: _____ _____ _____ _____ _____
54. Bactérias isoladas na Cultura de Secreção Vaginal, pós-tratamento. _____ _____ _____	
55. Presença de Lactobacilos na Citologia pós-tratamento 1. Sim 2. Não	56. Resultado pH vaginal pós-tratamento _____
57. Teste das Aminas pós-tratamento 1. Positivo 2. Negativo	58. Presença de Células-Guia pós-tratamento 1. Sim 2. Não
59. Escore de Nugent pós-tratamento _____	
RESULTADO PÓS -TRATAMENTO	
60. Resultado Final 1. Curada 2. Não Curada	61. Falha Terapêutica 1. Melhora parcial 2. Quadro inalterado 3. Piora clinica ou laboratorial

APÊNDICE III

ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO COMPARANDO A EFICÁCIA ENTRE METRONIDAZOL E AROEIRA EM USO TÓPICO VAGINAL NO TRATAMENTO DA VAGINOSE BACTERIANA

FICHA DE ACOMPANHAMENTO INDIVIDUAL

IDENTIFICAÇÃO			
1. Número do Formulário 		2. Número do Prontuário 	
3. Nome da Paciente			
4. Nome da Mãe			
5. Idade Anos		6. Data da Inclusão ____/____/____	
7. Telefone Ramal			
ACOMPANHAMENTO			
8. Entrevista 		9 Termo Consentimento Livre e Esclarecido 	
		10. Caixa da medicação Nº _____	
11. Colpocitologia oncótica pré-tratamento		12. Cultura de secreção vaginal pré-tratamento	
Coleta	Resultado	Coleta	Resultado
13. Resultado pH vaginal pré-tratamento		14. Teste das Aminas pré-tratamento	
Coleta	Resultado	Coleta	Resultado

15. Presença de Células-Guia pré-tratamento Coleta Resultado ☐ ☐	16. Escore de Nugent pré-tratamento Coleta Resultado ☐ ☐
SEGUNDO CONTROLE PÓS -TRATAMENTO	
17. Colpocitologia oncológica pós-tratamento Coleta Resultado ☐ ☐	18. Cultura de secreção vaginal pós-tratamento Coleta Resultado ☐ ☐
19. Resultado pH vaginal pós-tratamento Coleta Resultado ☐ ☐	20. Teste das Aminas pós-tratamento Coleta Resultado ☐ ☐
21. Presença de Células-Guia pós-tratamento Coleta Resultado ☐ ☐	22. Escore de Nugent pós-tratamento Coleta Resultado ☐ ☐
RESULTADO PÓS -TRATAMENTO	
23. Resultado Final 1. Curada 2. Não Curada ☐	24. Falha Terapêutica 1. Melhora parcial 2. Quadro inalterado 3. Piora clinica ou laboratorial ☐

DECLARAÇÃO

Declaro que o Projeto de pesquisa nº 935, intitulado **“Comparação da eficácia entre Metronidazol e Aroeira em uso tópico vaginal no tratamento da vaginose bacteriana: Ensaio clínico randomizado”**, apresentado pela Pesquisadora **Sonia Regina Ribeiro de Figueiredo Leite**, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira – IMIP, em Reunião Ordinária de 08 de março de 2007.

Recife, 12 de março de 2007.



Dr. José Eulálio Cabral Filho
Coordenador do Comitê de Ética
em Pesquisa em Seres Humanos do
Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira