

Estado da publicação: O preprint foi submetido para publicação em um periódico

# ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Schinus terebinthifolia* Raddi METRONIDAZOL, CLINDAMICINA E CONTRA *Lactobacillus* *gassari* Lauer and Kandler, IN VITRO, E SUAS IMPLICAÇÕES NA VAGINOSE BACTERIANA RECIDIVANTE

Carlos Alberto Sá Marques, Paloma Barros Henrique, Haliny da Silva Magalhães, Tahira Souza  
Melo, Jan Carlo Delorenzi

<https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.9665>

Submetido em: 2024-08-26

Postado em: 2024-08-27 (versão 1)

(AAAA-MM-DD)

A moderação deste preprint recebeu o endosso de:

Severino Barbosa dos Santos (ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-3562-8374>)

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Schinus terebinthifolia* Raddi  
METRONIDAZOL, CLINDAMICINA E CONTRA *Lactobacillus gasseri* Lauer  
and Kandler, *IN VITRO*, E SUAS IMPLICAÇÕES NA VAGINOSE  
BACTERIANA RECIDIVANTE**

***IN VITRO* ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Schinus terebinthifolia* Raddi  
METRONIDAZOLE, CLINDAMYCIN AGAINST *Lactobacillus gasseri* Lauer  
and Kandler AND ITS IMPLICATIONS IN RECURRENT BACTERIAL  
VAGINOSIS**

**Carlos Alberto Sá Marques**

Mestre em Ginecologia e Obstetrícia

Instituição: Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP e Grupo Hebron  
Farmacêutica

Endereço: Rua Do Príncipe, 526, Boa Vista – Recife – PE, CEP: 50050-900

e-mail: [csamarques@hebron.com.br](mailto:csamarques@hebron.com.br)

ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8627-3606>

**Paloma de Barros Henrique**

Especialista em Pneumologia e Clínica Médica

Instituição: Hospital Universitário Oswaldo Cruz e Grupo Hebron Farmacêutica

Endereço: Rua Arnóbio Marques, s/n, Santo Amaro – Recife – PE, CEP: 50100-130

e-mail: [paloma@hebron.com.br](mailto:paloma@hebron.com.br)

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-3118-3370>

**Haliny da Silva Magalhães**

MBA em Gestão de Pessoas

Instituição: Grupo Hebron Farmacêutica

Endereço: Rua Barão de Souza Leão, 425, Boa Viagem – Recife – PE, CEP: 51030-300

e-mail: [haliny@hebron.com.br](mailto:haliny@hebron.com.br)

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-4811-9350>

**Tahira Souza Melo**

Mestranda em Ciências do Desenvolvimento Humano

Instituição: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Presbiteriana  
Mackenzie

Endereço: Rua Da Consolação, 896, Consolação – São Paulo – SP, CEP: 01930-907

e-mail: [tahira.melo@mackenzie.br](mailto:tahira.melo@mackenzie.br)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5918-7944>

**Autor Correspondente: Jan Carlo Morais Oliveira Bertassoni Delorenzi**

Doutor em Ciências – Ciências Biológicas (Biofísica)

Instituição: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Presbiteriana  
Mackenzie e Grupo Hebron Farmacêutica

Endereço: Rua Da Consolação, 896, Consolação – São Paulo – SP, CEP: 01930-907

e-mail: [jan.bertassoni@mackenzie.br](mailto:jan.bertassoni@mackenzie.br) e [jancarolo@hebron.com.br](mailto:jancarolo@hebron.com.br)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0100-6482>

## RESUMO

A vaginose bacteriana (VB) é muito prevalente e é a causa mais comum de corrimento vaginal em todo o mundo. Trata-se de uma disbiose resultante da substituição dos lactobacilos produtores de peróxido de hidrogênio e ácido láctico por bactérias anaeróbicas em altas concentrações, incluindo *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella*, *Mobiluncus*, *Atopobium* e outros anaeróbios. A VB pode ser autodiagnosticada, quando a paciente apresenta a sintomatologia clássica, ou clínica e laboratorialmente obedecendo aos critérios de Amsel ou pela determinação do escore de Nugent. Os tratamentos recomendados para a VB são o Metronidazol, o Secnidazol e o Tinidazol por via oral, bem como o metronidazol gel, a clindamicina creme e o gel de *S. terebinthifolia* Raddi por via vaginal. O presente estudo teve por objetivo determinar a capacidade da Clindamicina creme vaginal, do Metronidazol gel vaginal e do *S. terebinthifolia* Raddi gel vaginal em inibir o crescimento ou preservar a população dos microrganismos *Lactobacillus gasseri* ATCC 19992 *in vitro*. A metodologia utilizada foi de perfuração em placa, formando poços de 6mm, onde as amostras foram inoculadas. As placas foram incubadas por 48 horas à temperatura de 30°C. A análise visual das placas, após o período de incubação, evidenciou que *L. gasseri* é resistente ao gel vaginal de *S. terebinthifolia* Raddi gel, uma vez que não foi observado qualquer halo de inibição. Contudo, *L. gasseri* foi moderadamente susceptível ao gel vaginal de Metronidazol e altamente sensível ao creme vaginal de Clindamicina. Como os lactobacilos, dos quais se destaca *L. gasseri*, representam acima de 95% dos microrganismos que habitam o meio vaginal, mantendo a higidez desse microbioma, a ação da Clindamicina e do Metronidazol pode levar ao desequilíbrio da microbiota vaginal, permitindo as recidivas quando esses agentes terapêuticos são usados para o tratamento da VB.

**Palavras-chaves:** recidivas, vaginose bacteriana, *Lactobacillus gasseri*, *Schinus terebinthifolia* Raddi, metronidazol, clindamicina.

## ABSTRACT

Bacterial vaginosis (BV) is very prevalent and is the most common cause of vaginal discharge worldwide. It is a dysbiosis resulting from the replacement of hydrogen peroxide and lactic acid-producing lactobacilli by anaerobic bacteria in high concentrations, including *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella*, *Mobiluncus*, *Atopobium* and other anaerobes. BV can be self-diagnosed when the patient presents the classic symptoms, or clinically and laboratory-based, following the Amsel criteria or by determining the Nugent score. The recommended treatments for BV are oral metronidazole, secnidazole and tinidazole, as well as vaginal metronidazole gel, clindamycin cream and *Schinus terebinthifolia* Raddi gel. The present study aimed to determine the ability of vaginal clindamycin cream, vaginal metronidazole gel and *S. terebinthifolia* Raddi vaginal gel to inhibit the growth or preserve the population of *Lactobacillus gasseri* ATCC 19992 microorganisms *in vitro*. The methodology used was perforation in plates, forming 6 mm wells, where the samples were inoculated. The plates were incubated for 48 hours at 30°C. After this period, by visual plates analysis, was observed that *L. gasseri* is resistant to *S. terebinthifolia* Raddi vaginal gel since no inhibition halo was observed. However, *L. gasseri* was moderately susceptible to Metronidazole vaginal gel and highly sensitive to Clindamycin vaginal cream. As lactobacilli, of which *L. gasseri* stands out, represent over 95% of the microorganisms that inhabit the vaginal environment, maintaining the health of this microbiome, the

action of Clindamycin and Metronidazole can lead to an imbalance in the vaginal microbiota, allowing relapses when these therapeutic agents are used to treat BV.

**Keywords:** relapses, bacterial vaginosis, *Lactobacillus gasseri*, *Schinus terebinthifolia* Raddi, metronidazole, clindamycin.

## 1 INTRODUÇÃO

A vaginose bacteriana (VB) é uma alteração da microbiota vaginal decorrente da substituição dos lactobacilos produtores de peróxido de hidrogênio e ácido láctico pela proliferação exagerada de microrganismos anaeróbios em altas concentrações, incluindo *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella* sp, *Mobiluncus* sp, *Atopobium* sp e outros anaeróbios. Uma característica da VB é o aparecimento de biofilmes no epitélio vaginal das portadoras dessa patologia<sup>1</sup>.

Algumas mulheres experimentam frequentes mudanças na composição do microbioma vaginal, enquanto outras apresentam essas alterações muito raramente<sup>2</sup>. A vaginose bacteriana é patologia frequente e a causa mais comum de corrimento vaginal em todo o mundo<sup>3</sup>, representando 30% das consultas ginecológicas.

A causa da alteração microbiana que precipita a VB não é totalmente conhecida. Alguns estudos como o de Kenyon et al (2016) fazem a associação da VB com fatores comportamentais, como: multiplicidade de parceiros sexuais masculinos, relações sexuais com mais de uma pessoa e prática sexual entre mulheres<sup>4</sup>, novo parceiro, relações sexuais não protegidas pelo uso preservativo de barreira<sup>5</sup> e uso de duchas vaginais<sup>6</sup>. Sabe-se que a prevalência é maior em portadoras de HSV-2<sup>7</sup> e em usuárias de DIU de cobre<sup>3,8</sup>, bem como durante as menstruações<sup>9</sup>. Mulheres que nunca tiveram atividade sexual raramente são acometidas<sup>10</sup>.

A contracepção hormonal não aumenta o risco para VB<sup>9,8,3</sup> e pode representar fator de proteção<sup>11,12</sup>.

As mulheres com VB têm um risco aumentado para aquisição de infecções sexualmente transmissíveis, como: gonococcia, *Chlamidia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*<sup>13</sup>, micoplasma<sup>14,15</sup> e HSV-2<sup>16</sup>; complicações após cirurgia ginecológica e complicações da gestação<sup>2,17,18</sup>; também aumenta o risco para aquisição de infecção pelo HIV<sup>19</sup> e para a transmissão do HIV para o parceiro masculino.

Embora os anaeróbios causadores da VB possam ser identificados na genitália masculina<sup>20,21</sup>, o tratamento do parceiro sexual masculino não se mostra benéfico na prevenção das recidivas pós-tratamento da parceira<sup>22</sup>. Considerando-se relações sexuais entre mulheres, observa-se um elevado índice de concordância entre as parceiras sexuais<sup>23</sup>; no entanto, nenhum estudo avaliou se o tratamento de ambas as parceiras previne a recorrência da VB.

Além do autodiagnóstico, a VB pode ser diagnosticada considerando os critérios de Amsel<sup>24</sup> ou pela determinação do escore de Nugent pela bacterioscopia em lâmina corada pelo método de Gram<sup>25</sup>, que é considerada uma referência no diagnóstico da VB, fazendo a determinação da concentração relativa dos lactobacilos gram-positivos em comparação com os anaeróbios gram-negativos, como a *G. vaginalis*, os Bacteroides ou *Mobiluncus* que caracterizam a patologia.

Para o diagnóstico de VB é necessário que sejam identificados, pelo menos, 3 dos critérios de Amsel: i) Corrimento vaginal homogêneo, de consistência leitosa, aderido às paredes vaginais; ii) Presença de *clue cells* ao exame direto de esfregaço vaginal diluído em soro fisiológico a 0,9% ao exame microscópico; iii) pH vaginal >4.5; iv) Corrimento vaginal com odor de “peixe” antes ou após a adição de KOH a 10%.

Também deve existir correlação com o resultado do estudo microscópico da lâmina corada pelo método de Gram<sup>26</sup>.

Os agentes terapêuticos preconizados pelos *guidelines*<sup>58</sup>, os antibióticos Clindamicina e Metronidazol, embora eficazes em termos de cura primária da VB, apresentam um elevado índice de recidivas. Por isso, existe uma contínua preocupação na busca de alternativas terapêuticas, considerando que embora sejam capazes de agir contra os microrganismos anaeróbios causadores da VB, esses antibióticos não permitem a recomposição efetiva do microbioma vaginal em função da ação deletéria desses fármacos sobre os lactobacilos que são os principais agentes protetores da microbiota vaginal<sup>36</sup>.

Quando da reavaliação ginecológica, entre 6 a 12 meses após o término do tratamento antibiótico, cerca de 50% a 80% das mulheres apresentarão VB recidivante<sup>52, 53</sup>. Atribui-se como causa para esses elevados índices de falhas terapêuticas à resistência bacteriana e à falta de ação dos antibióticos sobre os biofilmes<sup>36, 40, 59</sup>.

Os principais componentes da microbiota vaginal, responsáveis pela produção do ácido láctico e do peróxido de hidrogênio, permitem a manutenção do pH ácido na cavidade vaginal. O tratamento da VB utilizando um agente terapêutico não-antibiótico clássico ocasiona a disrupção dos biofilmes, devolvendo a integridade das condições fisiológicas do ambiente vaginal<sup>59</sup>. thus, effective nonantibiotic treatments for BV are needed

Considerando que a persistência ou recidiva na VB é comum, as mulheres submetidas ao tratamento devem ser informadas para retornar quando reaparecerem os sintomas, para nova avaliação. A indisponibilidade de dados quanto às estratégias de manejo das pacientes com persistência ou recidiva da VB, limitam a terapêutica ideal para essas situações. No entanto, o uso de um tratamento diferente daquele que foi usado anteriormente é recomendado<sup>33</sup>. Para pacientes com múltiplas recorrências após completar o tratamento recomendado, o metronidazol gel vaginal a 0,75 mg ou 750 mg de metronidazol comprimidos vaginais, duas vezes por semana, por 3 meses, tem mostrado redução das recidivas. Porém, o benefício não é persistente quando essa terapia supressiva é descontinuada<sup>34,35</sup>.

Marques et al (2024) demonstrou a atividade do gel vaginal de *Schinus terebinthifolia* Raddi em inibir o crescimento da *G. vaginalis* preservando a população *Lactobacillus gasseri*, *in vitro*. Um halo de inibição de 8.0 mm foi observado quando o gel foi aplicado à placas de cultura de *G. vaginalis*, contudo, nas culturas de *Lactobacillus gasseri* não foi observado nenhum halo de inibição, evidenciando culturas características de *L. gasseri*. Tais dados, fortemente sugerem que o gel de *S. terebinthifolia* Raddi tem ação anaerobicida contra microrganismos causadores da VB e, ao mesmo tempo, não possui quaisquer atividades para a população dos *Lactobacillus*, principais componentes do microbioma vaginal<sup>51</sup>.

Em busca de melhores evidências para a existência de alta prevalência de recidivas pós-tratamento da VB, o objetivo do presente estudo foi analisar a atividade antimicrobiana de clindamicina creme vaginal, de metronidazol gel vaginal e do *S. terebinthifolia* Raddi gel vaginal sobre *Lactobacillus gasseri*, evidenciando, portanto, se os medicamentos utilizados no estudo afetam ou não o crescimento de *L. gasseri*, uma das principais bactérias formadoras da microbiota vaginal.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais foram realizados segundo preconizado no *guideline* CLSI M2-A11, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – 11<sup>th</sup> Edition, Vol. 32, nº 1, 2012.

### 2.1 BACTÉRIAS

*Lactobacillus gasseri* ATCC 19992 Lauer and Kandler - Anteriormente classificada como *Lactobacillus acidophilus* (Moro) Hansen and Mørcquot, isolada de amostras de fezes. As amostras utilizadas nos experimentos foram adquiridas pela empresa DOSAGE da representante da ATCC no Brasil, PensaBio (São Paulo, SP, Brasil).

As culturas de trabalho foram preparadas através do repique da cultura estoque em meio ágar MRSA Merk (Ágar Base Cromogênico Staphylococcus Aureus resistente à Meticilina) com incubação a  $36^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Das culturas de trabalho foram retiradas de 3 a 5 colônias de *L. gasseri*, com auxílio de uma alça calibrada a  $10\mu\text{L}$  e transferidas para frasco contendo 10mL de caldo TSB Merk (Tryptonic Soy Broth) e 5g de pérolas de vidro para auxiliar na dissolução das colônias, observando-se a turvação do TSB. Após, a suspensão foi transferida para outro frasco com outros 10mL de caldo TSB, homogeneizado. A turbidez final foi obtida em comparação à escala McFarland (0.5 a 3) e concentração de  $10^8$  UFC/mL

### 2.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICROBIANA – PERFURAÇÃO EM PLACA

Foi adicionado 25mL do meio de cultura, ágar MRSA, em placa de Petri e, com auxílio de alça calibrada a  $10\mu\text{L}$  para obtenção de  $10^6$  UFC/mL da suspensão do microrganismo testado. O meio foi disperso vagarosamente no centro da placa até sua completa solidificação.

Após a solidificação, com auxílio de furador esterilizado e bomba de vácuo, foram efetuados pequenos poços de 6mm de diâmetro nas placas com meio de cultura e  $50\mu\text{L}$  de cada medicamento foi inoculado nos poços. As placas foram incubadas à  $30^{\circ}\text{C}$  por 48h, quando foram analisadas para formação de halo.

### 2.3 PRODUTOS INVESTIGACIONAIS

- *Schinus terebinthifolia* 3,966mL/6g gel vaginal, vendido comercialmente com o nome de Kronel Gel, fabricado pela INFAN – Indústria Química Farmacêutica Nacional S/, foram cedidas pelo fabricante.
- Metronidazol 100mg/g gel vaginal, medicamento genérico vendido comercialmente, foram enviadas pelo patrocinador do estudo.
- Clindamicina 20mg creme vaginal, medicamento manipulado, foram enviadas pelo patrocinador do estudo.

### 3 RESULTADO E DISCUSSÃO

Os dados obtidos no presente estudo evidenciam a importância do desenvolvimento de alternativas terapêuticas no tratamento de VB, uma vez que os casos de recidivas são elevadas, atingindo uma prevalência de até 50% dos casos tratados com os medicamentos de escolha após 6 a 12 meses pós tratamento<sup>54</sup>. Ademais, também infere que a utilização dos medicamentos amplamente difundidos pode agravar e/ou iniciar a proliferação de bactérias oportunistas do trato vaginal, causando o desconforto e outros sintomas gerados na VB.

A Figura 1, evidencia a avaliação da atividade antimicrobiana em imagem sem qualquer equipamento de suporte ou aumento (zoom) dos três produtos objeto do estudo. Cada medicamento foi avaliado em seis replicatas em cada experimento. Em A, pode ser observado a aplicação de 50µL do gel vaginal de *S. terebinthifolia* Raddi em cada um dos poços. O contorno acastanhado ao redor da perfuração não se trata de halo de inibição da sobrevivência das UFCs de *L. gasseri* e sim a difusão apresentada pelo gel vaginal de *S. terebinthifolia* Raddi pelo meio de cultura da placa. Não foi possível observar a formação de halo de inibição em nenhuma das replicatas, o que indica que o gel de *S. terebinthifolia* Raddi não possui ação antimicrobiana contra *L. gasseri* (Bacilo de Doderlëin). Tais achados estão de acordo com os que já foram evidenciados por nosso grupo<sup>51</sup>, em que o gel vaginal não foi capaz de inibir o crescimento de *L. gasseri in vitro*, ainda que tenha apresentado significativa atividade antimicrobiana contra *G. vaginales*<sup>51</sup>. Em B, é possível observar a aplicação de 50µL do creme vaginal de Clindamicina e a formação de grandes halos de inibição ao redor de cada poço, havendo superposição dos halos de

cada replicata. Tal observação indica que, *in vitro*, o creme vaginal de Clindamicina é capaz de inibir a sobrevivência das colônias de *L. gasseri*. Da mesma maneira em C, é observado o que, após a aplicação de 50µL do gel vaginal de Metronidazol, houve a formação de halo de inibição ao redor de cada poço, indicando também que o Metronidazol interfere na sobrevivência das colônias de *L. gasseri*.

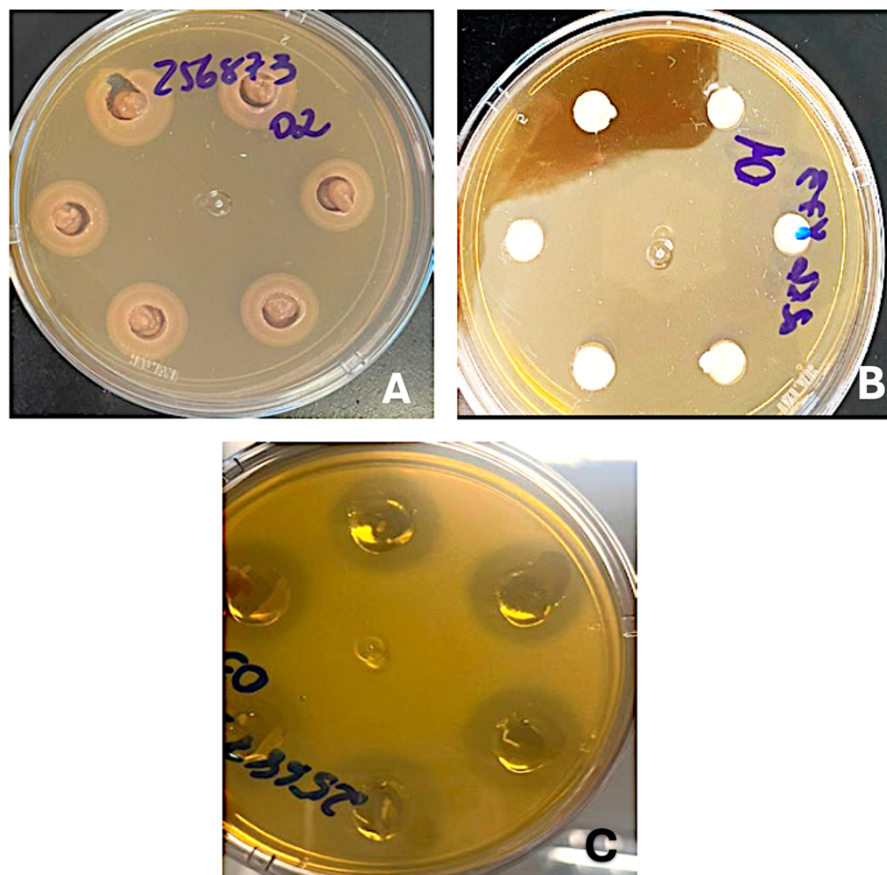


Figura 1 – Avaliação do efeito antimicrobiano dos géis vaginais de *Schinus terebinthifolia* Raddi (A) e de Metronidazol (B) e do creme vaginal de Clindamicina (C) em *Lactobacillus gasseri* Lauer and Kandler. Em A, *S. terebinthifolia* não apresentou formação de halo de inibição e foi utilizada com padrão negativo. Em B, Clindamicina apresentou a formação de grandes e confluentes halos de inibição. Em C, Metronidazol apresentou evidente formação de halo de inibição.

A susceptibilidade de *L. gasseri* para Metronidazol e Clindamicina já havia sido reportada por Happel et al (2020)<sup>55</sup>, dentre outros autores. Entretanto, no estudo de Happel, a susceptibilidade ao Metronidazol mostrou-se variável e cepa-dependente. De forma divergente, todas as cepas de *L. gasseri* forma suscetíveis para Clindamicina.

A Figura 2 evidencia de modo mais detalhado, com aproximação de cinco vezes, o tamanho do halo de inibição e conseqüentemente, a susceptibilidade de *L. gasseri* frente aos produtos avaliados. Em A aos poços perfurados foi inoculado 50µL do gel vaginal *S.*

*terebinthifolia* Raddi. Como discutido na Figura 1, *L. gasseri* é resistente ao gel vaginal de *S. terebinthifolia* Raddi. Em B tem-se a inoculação de 50µL do creme vaginal de Clindamicina. O halo de inibição tem um diâmetro de 6.40 mm, o que indica alta susceptibilidade de *L. gasseri* ao antibiótico Clindamicina. Em C, observa-se os poços perfurados inoculados com 50µL do gel vaginal Metronidazol. Houve formação de halo de inibição, mas, diferente da Clindamicina, *L. gasseri* apresentou susceptibilidade moderada, uma vez que o halo de inibição foi de 2.61 mm.

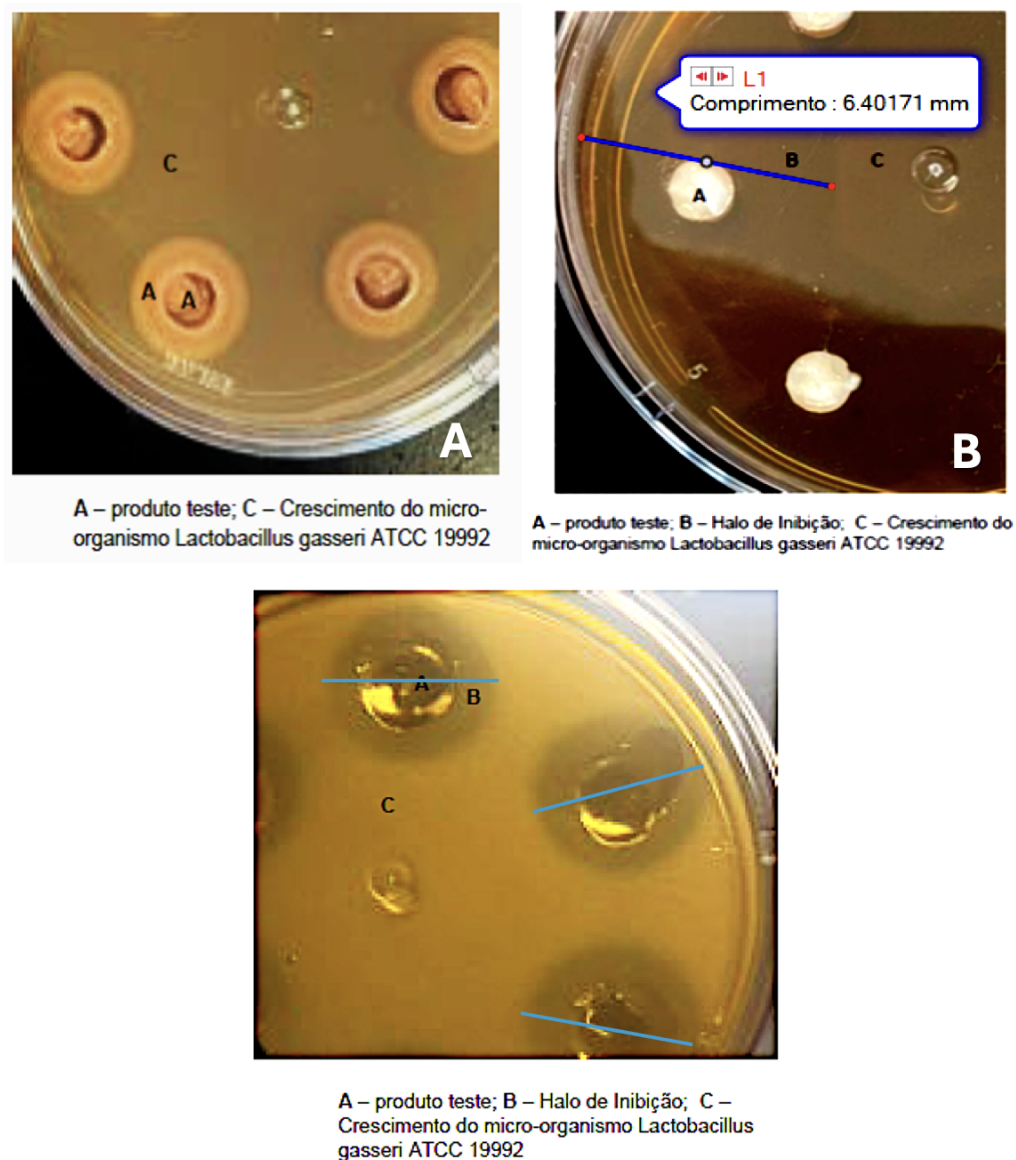


Figura 2 – Avaliação do efeito antimicrobiano dos géis vaginais de *Schinus terebinthifolia* Raddi (A) e de Metronidazol (B) e do creme vaginal de Clindamicina (C) em *Lactobacillus gasseri* Lauer and Kandler. Em A, *S. terebinthifolia* não apresentou formação de halo de inibição e foi utilizada com padrão negativo. Em B, Clindamicina apresentou a formação de grandes e confluentes halos de inibição com diâmetro de 6.4 mm. Em C, Metronidazol apresentou evidente formação de halo de inibição, com diâmetro de 2,81 mm.

Otrosky et al. (2008)<sup>56</sup> sugere que, halos de inibição entre 2 e 3 mm indicariam moderada susceptibilidade bacteriana, enquanto, halos de inibição acima de 3 mm indicariam que o microrganismo é totalmente sensível. Considerando as observações da autora e nossos achados é possível sugerir a susceptibilidade moderada de *L. gasseri* para o gel vaginal de Metronidazol e susceptibilidade elevada (cepa é sensível) de *L. gasseri* para o creme vaginal de Clindamicina. Por outro lado, *L. gasseri* foi totalmente resistente ao gel vaginal de *S. terebinthifolia* Raddi.

Nossos achados, uma vez que corroboram outros estudos tanto de cepas ATCC quando clínicas<sup>55, 57</sup>, destacam a importância de a manutenção dos Bacilos de Doderlëin (ex.: *L. gasseri*) possuem para um resultado positivo na antibioticoterapia do tratamento de BV. Uma vez que observamos a susceptibilidade de *L. gasseri* contra Metronidazol e, principalmente, Clindamicina, estimula a busca de novas opções para o tratamento da BV. Também foi observado que o gel vaginal de *S. terebinthifolia* Raddi não apresentou nenhuma alteração na formação das colônias de *L. gasseri*. Ademais, é possível destacar que os dados experimentais reforçam o que já consta da etnofarmacologia e também dos anos de uso do produto produzido a partir do de *S. terebinthifolia* Raddi na ginecologia (gel vaginal) e na clínica médica (comprimidos revestidos).

Os resultados corroboram os obtidos por Pacheco e colaboradores<sup>49</sup>, em que extratos etanólicos de *S. terebinthifolia* foram capazes de produzir halo de inibição nas culturas de *Staphylococcus aureus*. Também, Amorim e Santos<sup>50</sup> realizou um estudo clínico randomizado em que se observou uma taxa de cura de 84% no tratamento com o gel de *S. terebinthifolia* em relação ao tratamento com o placebo. Além disso, evidenciaram uma melhora na proliferação de Bacilos de Doderlëin e redução significativa de *Gardnerella*, no grupo tratado em relação ao grupo placebo.

## CONCLUSÃO

O ideal para o tratamento da VB é um agente terapêutico que além de atuar como anaerobicida, tenha um efeito protetor sobre a população de *Lactobacillus* no ambiente vaginal, como demonstrado *in vitro* pela avaliação da formação (no caso, da não-formação) de halo de inibição em culturas com os *Lactobacillus* do gel vaginal de *S. terebinthifolia* Raddi e já amplamente verificado na clínica<sup>51</sup>.

Novos estudos serão realizados com outras espécies de bactérias anaeróbias causadoras de VB e com outras espécies de Lactobacilos do tipo Bacilos de Doderlëin

buscando evidenciar de forma mais clara e detalhada a provável ação seletiva do gel de *Schinus terebinthifolia*, preservando a população de *Lactobacillus*.

## CONFLITO DE INTERESSE

CASM, PBH, JCD declaram que são consultores da Coordenação de Pesquisa Clínica do Grupo Hebron Farmacêutica. HSM é vinculada à Gerência de Assuntos Regulatórios do Grupo Hebron Farmacêutica. TSM declara que não possui qualquer conflito de interesse.

## CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

A concepção e o desenho do estudo foram realizados por Carlos Alberto Sá Marques Paloma de Barros Henrique Haliny Magalhães Silva e Jan Carlo Delorenzi. A preparação do material, coleta e análise de dados foram realizadas por Haliny Magalhães Silva, Tahira Souza Melo e Jan Carlo Delorenzi. O primeiro rascunho do manuscrito foi escrito por Carlos Alberto Sá Marques, Paloma de Barros Henrique e Haliny Magalhães. Todos os autores comentaram versões anteriores do manuscrito. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

## REFERÊNCIAS

1. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, et al. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 2005;106:1013–23. P M I D: 16260520 <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000183594.45524.d2>
2. Brotman RM, Klebanoff MA, Nansel TR, et al. Bacterial vaginosis assessed by Gram stain and diminished colonization resistance to incident gonococcal, chlamydial, and trichomonal genital infection. *J Infect Dis* 2010;202:1907–15. PMID:21067371 [external icon](#)
3. Peebles K, Vellozo J, Balkus JE, McClelland RS, Barnabas RV. High global burden and costs of bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Dis* 2019;46:304–11. PMID:30624309 [external icon](#) <https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000000972> [external icon](#)
4. Kenyon CR, Buyze J, Klebanoff M, Brotman RM. Association between bacterial vaginosis and partner concurrency: a longitudinal study. *Sex Transm Infect* 2018;94:75–

7. PMID:27645157 [external icon https://doi.org/10.1136/sextrans-2016-052652](https://doi.org/10.1136/sextrans-2016-052652) [external icon](#)
5. Sanchez S, Garcia PJ, Thomas KK, Catlin M, Holmes KK. Intravaginal metronidazole gel *versus* metronidazole plus nystatin ovules for bacterial vaginosis: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1898–906. PMID:15592270 <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2004.06.089>
  6. Ness RB, Soper DE, Holley RL, et al.; PID Evaluation and Clinical Health (PEACH) Study Investigators. Douching and endometritis: results from the PID evaluation and clinical health (PEACH) study. *Sex Transm Dis* 2001;28:240–5. PMID:11318257 <https://doi.org/10.1097/00007435-200104000-00010>
  7. Abbai NS, Reddy T, Ramjee G. Prevalent bacterial vaginosis infection—a risk factor for incident sexually transmitted infections in women in Durban, South Africa. *Int J STD AIDS* 2016;27:1283–8. PMID:26538552 <https://doi.org/10.1177/0956462415616038>
  8. Achilles SL, Austin MN, Meyn LA, Mhlanga F, Chirenje ZM, Hillier SL. Impact of contraceptive initiation on vaginal microbiota. *Am J Obstet Gynecol* 2018;218:622.e1–10. PMID:29505773 <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.02.017>
  9. Srinivasan S, Liu C, Mitchell CM, et al. Temporal variability of human vaginal bacteria and relationship with bacterial vaginosis. *PLoS One* 2010;5:e10197. PMID:20419168 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010197>
  10. Fethers KA, Fairley CK, Morton A, et al. Early sexual experiences and risk factors for bacterial vaginosis. *J Infect Dis* 2009;200:1662–70. PMID:19863439 <https://doi.org/10.1086/648092>
  11. Vodstrcil LA, Plummer ME, Fairley CK, et al. Combined oral contraceptive pill-exposure alone does not reduce the risk of bacterial vaginosis recurrence in a pilot randomised controlled trial. *Sci Rep* 2019;9:3555. PMID:30837554 <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39879-8>
  12. Brooks JP, Edwards DJ, Blithe DL, et al. Effects of combined oral contraceptives, depot medroxyprogesterone acetate and the levonorgestrel-releasing intrauterine system on the vaginal microbiome. *Contraception* 2017;95:405–13. PMID:27913230 <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2016.11.006>
  13. Lokken EM, Balkus JE, Kiarie J, et al. Association of recent bacterial vaginosis with acquisition of *Mycoplasma genitalium*. *Am J Epidemiol* 2017;186:194–201. PMID:28472225 <https://doi.org/10.1093/aje/kwx043>
  14. Brusselaers N, Shrestha S, van de Wijgert J, Verstraelen H. Vaginal dysbiosis and the risk of human papillomavirus and cervical cancer: systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2019;221:9–18.e8. PMID:30550767 <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.12.011>
  15. Abbai NS, Nyirenda M, Naidoo S, Ramjee G. Prevalent herpes simplex virus-2 increases the risk of incident bacterial vaginosis in women from South Africa. *AIDS Behav* 2018;22:2172–80. PMID:28956191 <https://doi.org/10.1007/s10461-017-1924-1>
  16. Laxmi U, Agrawal S, Raghunandan C, Randhawa VS, Saili A. Association of bacterial vaginosis with adverse fetomaternal outcome in women with spontaneous preterm labor:

- a prospective cohort study. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; 25:64–7. PMID: 21557693 <https://doi.org/10.3109/14767058.2011.565390>
17. Nelson DB, Hanlon A, Hassan S, et al. Preterm labor and bacterial vaginosis-associated bacteria among urban women. *J Perinat Med* 2009;37:130–4. PMID:18999913 <https://doi.org/10.1515/JPM.2009.026>
  18. Atashili J, Poole C, Ndumbe PM, Adimora AA, Smith JS. Bacterial vaginosis and HIV acquisition: a meta-analysis of published studies. *AIDS* 2008;22:1493–501. PMID:18614873 <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3283021a37>
  19. Zozaya M, Ferris MJ, Siren JD, et al. Bacterial communities in penile skin, male urethra, and vaginas of heterosexual couples with and without bacterial vaginosis. *Microbiome* 2016;4:16. PMID:27090518 <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0161-6>
  20. Liu CM, Hungate BA, Tobian AA, et al. Penile microbiota and female partner bacterial vaginosis in Rakai, Uganda. *MBio* 2015;6:e00589. PMID:26081632 <https://doi.org/10.1128/mBio.00589-15>
  21. Mehta SD. Systematic review of randomized trials of treatment of male sexual partners for improved bacteria vaginosis outcomes in women. *Sex Transm Dis* 2012;39:822–30. PMID:23007709 <https://doi.org/10.1097/OLQ.0b013e3182631d89>
  22. Marrazzo JM, Koutsky LA, Eschenbach DA, Agnew K, Stine K, Hillier SL. Characterization of vaginal flora and bacterial vaginosis in women who have sex with women. *J Infect Dis* 2002;185:1307–13. PMID:12001048 <https://doi.org/10.1086/339884>
  23. 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. PMID:6600371 [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(83\)91112-9](https://doi.org/10.1016/0002-9343(83)91112-9)
  24. 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. PMID:1706728 <https://doi.org/10.1128/JCM.29.2.297-301.1991>
  25. Schwebke JR, Hillier SL, Sobel JD, McGregor JA, Sweet RL. Validity of the vaginal Gram stain for the diagnosis of bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 1996;88:573–6. PMID:8841221 [https://doi.org/10.1016/0029-7844\(96\)00233-5](https://doi.org/10.1016/0029-7844(96)00233-5)
  26. Schwebke JR, Morgan FG Jr, Koltun W, Nyirjesy P. A phase-3, double-blind, placebo-controlled study of the effectiveness and safety of single oral doses of secnidazole 2 g for the treatment of women with bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 2017;217:678.e1–9. Erratum in: *Am J Obstet Gynecol* 2018;219:110. PMID:28867602 <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2017.08.017>
  27. Chavoustie SE, Jacobs M, Reisman HA, et al. Metronidazole vaginal gel 1.3% in the treatment of bacterial vaginosis: a dose-ranging study. *J Low Genit Tract Dis* 2015;19:129–34. PMID:24983350 <https://doi.org/10.1097/LGT.0000000000000062>
  28. Schwebke JR, Marrazzo J, Beelen AP, Sobel JD. A phase 3, multicenter, randomized, double-blind, vehicle-controlled study evaluating the safety and efficacy of metronidazole vaginal gel 1.3% in the treatment of bacterial vaginosis. *Sex Transm Dis* 2015;42:376–81. PMID:26222750 <https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000000300>

29. Marrazzo JM, Dombrowski JC, Wierzbicki MR, et al. Safety and efficacy of a novel vaginal anti-infective, TOL-463, in the treatment of bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis: a randomized, single-blind, phase 2, controlled trial. *Clin Infect Dis* 2019;68:803–9. PMID:30184181 <https://doi.org/10.1093/cid/ciy554>
30. Antonio MA, Meyn LA, Murray PJ, Busse B, Hillier SL. Vaginal colonization by probiotic *Lactobacillus crispatus* CTV- 05 is decreased by sexual activity and endogenous *Lactobacilli*. *J Infect Dis* 2009;199:1506–13. PMID:19331578 <https://doi.org/10.1086/598686> 1022. Senok AC, Verstraelen H, Temmerman M, Botta GA
31. Hemmerling A, Harrison W, Schroeder A, et al. Phase 2a study assessing colonization efficiency, safety, and acceptability of *Lactobacillus crispatus* CTV-05 in women with bacterial vaginosis. *Sex Transm Dis* 2010;37:745–50. PMID:20644497 <https://doi.org/10.1097/OLQ.0b013e3181e50026>
32. Bunge KE, Beigi RH, Meyn LA, Hillier SL. The efficacy of retreatment with the same medication for early treatment failure of bacterial vaginosis. *Sex Transm Dis* 2009;36:711–3. PMID:19652628 <https://doi.org/10.1097/OLQ.0b013e3181af6cfd>
33. Aguin T, Akins RA, Sobel JD. High-dose vaginal maintenance metronidazole for recurrent bacterial vaginosis: a pilot study. *Sex Transm Dis* 2014;41:290–1. PMID:24722380 <https://doi.org/10.1097/OLQ.000000000000123>
34. Sobel JD, Ferris D, Schwebke J, et al. Suppressing antibacterial therapy with 0.75% metronidazole vaginal gel to prevent recurrent bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:1283–9. PMID:16647911 <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2005.11.041>
35. Reichman O, Akins R, Sobel JD. Boric acid addition to suppressive antimicrobial therapy for recurrent bacterial vaginosis. *Sex Transm Dis* 2009;36:732–4. PMID:19704395 <https://doi.org/10.1097/OLQ.0b013e3181b08456>
36. Cohen CR, Wierzbicki MR, French AL, et al. Randomized trial of Lactin-V to prevent recurrence of bacterial vaginosis. *N Engl J Med* 2020;382:1906–15. PMID:32402161 <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1915254>
37. Turner AN, Carr Reese P, Fields KS, et al. A blinded, randomized controlled trial of high-dose vitamin D supplementation to reduce recurrence of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 211:479. e1–13. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.06.023>
38. Schwebke J, Carter B, Waldbaum A, et al. Results of a phase 3, randomized, double-blind, placebo-controlled study to evaluate the efficacy and safety of astodrimer gel for prevention of recurrent bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 2019; 221:672–3. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.10.087>
39. Grzegorz Raba, et al. Efficacy of Dequalinium Chloride vs Metronidazole for the Treatment of Bacterial Vaginosis – A randomized clinical trial. *JAMA Network Open*. 2024;7(5):e248661. Doi10.1001/jamaworkopen.2024.8661
40. Eckel, Fanny et al. Dequalinium Chloride for the Treatment of Vulvovaginal Infections: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Lower Genital Tract Disease* 28(1):p 76-83, January 2024. Doi 10.1097/LGT.0000000000000790
41. Tohill BC, Heilig CM, Klein RS, Rompalo A, Cu-Uvin S, Piwoz EG, et al. Nutritional biomarkers associated with gynecological conditions among US women with or at risk

- of HIV infection. *Am J Clin Nutr.* (2007) 85(5):1327–34. doi: 10.1093/ajcn/85.5.1327  
*Brazilian Journal of Health Review* ISSN: 2595-6825 11
42. Castro J, Alves P, Sousa C, Cereija T, França Â, Jefferson KK, et al. Using an in vitro biofilm model to assess the virulence potential of bacterial vaginosis or nonbacterial vaginosis *Gardnerella vaginalis* isolates. *Sci Rep.* (2015) 5:1–10. doi: 10.1038/srep11640
  43. Muzny CA, Schwebke JR. Biofilms: an underappreciated mechanism of treatment failure and recurrence in vaginal infections. *Clin Infect Dis.* (2015) 61 (4):601–6. doi: 10.1093/cid/civ353
  44. Abdelmaksoud AA, Koparde VN, Sheth NU, Serrano MG, Glascock AL, Fettweis JM, et al. Comparison of *Lactobacillus crispatus* isolates from *Lactobacillus*-dominated vaginal microbiomes with isolates from microbiomes containing bacterial vaginosis-associated bacteria. *Microbiology.* (2016) 162 (3):466–75. doi: 10.1099/mic.0.000238
  45. Fethers KA, Fairley CK, Hocking JS, Gurrin LC, Bradshaw CS. Sexual risk factors and bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis.* (2008) 47(11):1426–35. doi: 10.1086/592974
  46. Vodstrcil LA, Hocking JS, Law M, Walker S, Tabrizi SN, Fairley CK, et al. Hormonal contraception is associated with a reduced risk of bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* (2013) 8(9):73055. doi: 10.1371/journal.pone.0073055
  47. Santos LC, Amorim MMR. Uso da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para tratamento de infecções vaginais. *Femina;* 30(6): 339-342, 2002 (Jul)
  48. CLSI M2-A11, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – 11th Edition, Vol. 32, N° 1, 2012
  49. Pacheco EBA, Martins DS, Rocha MP. Atividade antibacteriana in vitro de extratos etanólicos e aquosos de *Schinus terebinthifolius* (aroeira-vermelha) e *Cymbopogon nardus* (citronela) frente a *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Journal of Health Review*, Curitiba, v. 5, n. 6, p.24872-24888, nov./dec., 2022
  50. Amorim MMR, Santos LC. Tratamento da vaginose Bacteriana com Gel Vaginal de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Ensaio Clínico Randomizado. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2003, vol.25, n.2.
  51. Marques CAS, Henrique PB, Magalhães HS, Melo TS, Mourad AM e Delorenzi JCMOB. Vaginose bacteriana – avaliação da atividade antimicrobiana seletiva de gel de *Schinus terebinthifolia* Raddi. *Brazilian Journal of Health Review*, Curitiba, v. 7, n. 2, p. 01-13, mar./apr., 2024. 10.34119/bjhrv7n2-202
  52. Bradshaw CS, Morton AN, Hocking J, Garland SM, Morris MB, Moss LM, et al. High recurrence rates of bacterial vaginosis over the course of 12 months after oral metronidazole therapy and factors associated with recurrence. *J Infect Dis.* (2006) 193(11):1478–86. doi: 10.1086/503780
  53. Fought BM, Reyes S. Characterization and treatment of recurrent bacterial vaginosis. *J Womens Health (Larchmt).* (2019) 28(9):1218–26. doi: 10.1089/jwh.2018.7383
  54. Javed A, Parvaiz F, Manzoor S, Bacterial vaginosis: An insight into the prevalence, alternative regimen treatments and it's associated resistance patterns, *Microbial Pathogenesis* (2018), doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.11.046>.

55. Happel A-U, Kullin B, Gamielien H, Wentzel N, Zauchenberger CZ, Jaspan HB, et al. (2020) Exploring potential of vaginal *Lactobacillus* isolates from South African women for enhancing treatment for bacterial vaginosis. *PLoS Pathog* 16 (6): e1008559. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008559>
56. Elissa A. Ostrosky, Miriam K. Mizumoto, Marcos E. L. Lima, Telma M. Kaneko, Suzana O. Nishikawa, Beatriz R. Freitas. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn.* 18(2): Abr./Jun. 2008
57. Pendharkar, S., Brandsborg, E., Hammarström, L. *et al.* Vaginal colonisation by probiotic lactobacilli and clinical outcome in women conventionally treated for bacterial vaginosis and yeast infection. *BMC Infect Dis* 15, 255 (2015). <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0971-3>
58. Christine M. Johnston, Christina A. Muzny, Kimberly A. Workowski, Laura H. Bachmann; Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021. *MMWR* / July 23, 2021 / Vol. 70 / No. 41
59. Grzegorz Raba, MD; Anton Ďurkech, MD; Tomáš Malík, MD; Doerthe Bassfeld, CAS; Philipp Grob, PhD; Anahí Hurtado-Chong, MD, PhD; Efficacy of Dequalinium Chloride vs Metronidazole for the Treatment of Bacterial Vaginosis. A Randomized Clinical Trial. *JAMA Network Open.* 2024;7(5):e248661.

## Este preprint foi submetido sob as seguintes condições:

- Os autores declaram que estão cientes que são os únicos responsáveis pelo conteúdo do preprint e que o depósito no SciELO Preprints não significa nenhum compromisso de parte do SciELO, exceto sua preservação e disseminação.
- Os autores declaram que os necessários Termos de Consentimento Livre e Esclarecido de participantes ou pacientes na pesquisa foram obtidos e estão descritos no manuscrito, quando aplicável.
- Os autores declaram que a elaboração do manuscrito seguiu as normas éticas de comunicação científica.
- Os autores declaram que os dados, aplicativos e outros conteúdos subjacentes ao manuscrito estão referenciados.
- O manuscrito depositado está no formato PDF.
- Os autores declaram que a pesquisa que deu origem ao manuscrito seguiu as boas práticas éticas e que as necessárias aprovações de comitês de ética de pesquisa, quando aplicável, estão descritas no manuscrito.
- Os autores declaram que uma vez que um manuscrito é postado no servidor SciELO Preprints, o mesmo só poderá ser retirado mediante pedido à Secretaria Editorial do SciELO Preprints, que afixará um aviso de retratação no seu lugar.
- Os autores concordam que o manuscrito aprovado será disponibilizado sob licença [Creative Commons CC-BY](#).
- O autor submissor declara que as contribuições de todos os autores e declaração de conflito de interesses estão incluídas de maneira explícita e em seções específicas do manuscrito.
- Os autores declaram que o manuscrito não foi depositado e/ou disponibilizado previamente em outro servidor de preprints ou publicado em um periódico.
- Caso o manuscrito esteja em processo de avaliação ou sendo preparado para publicação mas ainda não publicado por um periódico, os autores declaram que receberam autorização do periódico para realizar este depósito.
- O autor submissor declara que todos os autores do manuscrito concordam com a submissão ao SciELO Preprints.