

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

RODRIGO MANIERI ROCHA

“EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE NORFLOXACINA EM INFECÇÕES
URINÁRIAS NO DESENVOLVIMENTO DE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL
(CVV).”

Maringá
2014

RODRIGO MANIERI ROCHA

“EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE NORFLOXACINA EM INFECÇÕES
URINÁRIAS NO DESENVOLVIMENTO DE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL
(CVV).”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde
Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias,
Micoses Humanas

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Márcia Edilaine Lopes Consolaro

Maringá
2014

FOLHA DE APROVAÇÃO

RODRIGO MANIERI ROCHA

Efeito da utilização de norfloxacina em infecções urinárias no desenvolvimento de candidíase vulvovaginal (CVV)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Profa. Dra. Fabrícia Gimenes
Universidade Estadual de Maringá

Profa. Dra. Cinthia Gandolfi Boer
Universidade Estadual de Maringá

Profa. Dra. Márcia Edilaine Lopes Consolaro
Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 17/02/2014

Local de defesa: Sala 01, Bloco 126, campus da Universidade Estadual de Maringá.

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação à minha família, a todos, sem exceção.

AGRADECIMENTOS

Ao Grande Arquiteto e Criador dos Mundos, pela oportunidade indescritível de viver.

Aos meus Pais, Ubiracira e Carlos, por todo o imenso amor dispensado e pelo apoio incondicional a tudo que desejei fazer.

À minha amada esposa, Ionara, pela compreensão, pelo carinho, pela paciência nos muitos momentos difíceis e pelo entusiasmo contagiante pela ciência.

Aos meus adorados filhos, Larissa e Tiago, por trazerem a maior felicidade do mundo, que é amar incondicionalmente.

Ao meu irmão, Carlos, por toda ajuda e apoio e por ser um de meus maiores ídolos.

Às amigas Sylvia e Pamela, por toda a disponibilidade e apoio, e por me mostrarem que ainda existe gentileza nesse mundo.

À querida Mary e demais técnicos do LEPAC, pelo carinho e pelo profissionalismo exemplar.

À minha amiga Glaci, por todo o empenho e dedicação em me auxiliar na eterna luta conciliando minha prática clínica, minha pós-graduação e a docência.

Às minhas pacientes, pelo desprendimento e pela compaixão. Espero que algum dia eu e a ciência possamos retribuir.

À minha querida orientadora Márcia, por ter confiança em minha capacidade, por me dar força e apoio, por ser, em suas atitudes, um exemplo a ser seguido.

Muito obrigado, de todo meu coração!

EPÍGRAFE

*Se Deus existisse, então não haveria mal no mundo.
Há mal no mundo. Logo, Deus não existe.
O que pode ser explicado por poucos princípios,
não o é por muitos.
Todas as coisas que aparecem no mundo podem ser
explicadas por outros princípios que não Deus.
Logo, não há necessidade da existência de Deus.
No mundo, algumas coisas são movidas.
Tudo o que é movido, é movido por outro.
Não se pode proceder até ao infinito
nos moventes e movidos.
Logo, é necessário um primeiro motor, que é Deus.
No mundo, todas as coisas têm uma causa eficiente.
Nada pode ser a causa eficiente de si mesmo.
Não é possível que se proceda até ao
infinito nas causas eficientes.
Logo, existe uma causa primeira eficiente, que é Deus.
No mundo, há coisas contingentes, i.e
. que existem mas poderiam não existir.
Mas é preciso que algo seja necessário entre as coisas.
Não é possível que se proceda até ao
infinito nas coisas necessárias.
Logo, existe um primeiro necessário, que é Deus.
No mundo, as coisas têm diferentes graus de perfeição.
Os graus de perfeição atribuem-se em relação à proximidade
do grau máximo.
O grau máximo de um género é a causa de todas as coisas
desse género.
Logo, há algo que é a causa da existência
para todas as coisas, que é Deus.
No mundo, algumas coisas operam por causa de um fim.
Estas coisas não atingem o fim por acaso.
Estas coisas não tendem para um fim
a não ser dirigidas por algo inteligente.
Logo, existe algo inteligente, que é Deus,
que dirige as coisas a um fim.*

São Tomás de Aquino

EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE NORFLOXACINA EM INFECÇÕES URINÁRIAS NO DESENVOLVIMENTO DE CANDIDÍASE VULVOVAGINAL (CVV)

RESUMO

Candidíase vulvovaginal (CVV) é uma patologia extremamente importante na prática clínica diária em ginecologia. Alguns estudos mostram que o uso de antibióticos pode interferir na incidência da CVV. O presente estudo propõe avaliar o efeito da utilização de norfloxacina para infecções urinárias no desenvolvimento de CVV através da realização de exames laboratoriais para detecção de leveduras antes e após a utilização deste antibiótico com a indicação supracitada. Foram alocadas 77 pacientes (30 pacientes tratadas e 47 pacientes no grupo controle) onde foram coletados citologia oncótica, bacterioscopia e cultura para fungos no primeiro atendimento e 4 semanas após. Foram encontradas 2 amostras positivas para candidíase no grupo caso (um colonização e um pós tratamento) e 11 culturas positivas no grupo controle (4 casos de colonização e 7 de infecções agudas assintomáticas). Encontramos que o uso do antibiótico não alterou as taxas de detecção de leveduras, com *Odds Ratio* (OR) no grupo caso de 0,19 (IC 0,02 – 1,63, $p > 0,13$), em comparação ao grupo controle. Concluímos que, para a norfloxacina, não há aumento de incidência de CVV. Essa constatação evidencia que o uso de antibióticos específicos pode não aumentar a incidência de CVV e são necessárias avaliações pormenorizadas para cada sítio de infecção e classe diferente de antibióticos, a fim de definir quais antibióticos específicos podem, eventualmente, aumentar essa incidência.

Palavras-Chave: *Candidíase Vulvovaginal; Candida albicans; Norfloxacina; Antibióticos.*

**VAGINAL *Candida* sp. ISOLATION AFTER NORFLOXACIN TREATMET
OF ACUTE UNCOMPLICATED LOWER URINARY TRACT INFECTION**

ABSTRACT

Vulvovaginal candidiasis (VVC) is an extremely important pathology in the clinical practice. Some studies revealed that antibiotics can interfere in VVC incidence. The present study evaluated the effect of norfloxacin to treat uncomplicated urinary infections on the incidence of VVC. Microbiological methods were performed to identify the presence of yeast infections. 77 patients (30 patients in the case group and 47 patients in the control group) were enrolled in the study. Were performed Pap smear, bacterioscopy and yeast culture in the patient first visit and 4 weeks after. Were found 2 positive samples of candidiasis, (1 prior and 1 after treatment) and 11 positive samples in the control group (4 in the first sample and 7 in the second sample).The results shows that the use of antibiotic did not changed the yeast detection rates, with *Odds Ratio* (OR) in the case group of 0.19 (CI 0.02 – 1.63, $p > 0,13$), relative to the control group. The use of norfloxacin does not increase the VVC incidence. This information shows that the use of specific antibiotics do not increase vaginal yeast infections and another studies must be performed individualizing antibiotics and infection sites, to correctly define witch situations can increase VVC incidence.

Keywords: *Vulvovaginal candidiasis; Candida albicans; Norfloxacin; Antibiotics.*

Dissertação elaborada e formatada conforme as
normas da ABNT (Capítulo I) e das publicações
científicas da (Capítulo II) *Biomed Research International* (Artigo1)

disponível em:

<<http://www.hindawi.com/journals/bmri/guidelines/>>

SUMÁRIO

GÊNERO <i>Candida</i>	4
CANDIDÍASE VULVOVAGINAL.....	4
FATORES DE VIRULÊNCIA DE LEVEDURAS.....	5
Running title: Vaginal <i>Candida</i> after norfloxacin treatment.....	7
ABSTRACT.....	8
1. Introduction.....	8
The present prospect study aims to evaluate the effect of norfloxacin treatment for symptomatic acute uncomplicated lower urinary tract infection (UTI) on prevalence of vaginal <i>Candida</i> spp. isolation and symptomatic VVC.....	8
2. Materials and Methods.....	8
2.5. Statistical analysis.....	8
3. Results.....	8
Table 2. Vaginal <i>Candida</i> spp. culture prior and after treatment with norfloxacin for acute uncomPLICATE lower urinary tract infection (antibiotic group).....	9
Table 3. Vaginal <i>Candida</i> spp. culture (control group).....	9
CONCLUSÕES.....	11
PERSPECTIVAS FUTURAS.....	12

CAPÍTULO I

HISTÓRICO

As descrições das “aftas”, ou *thrush*, em inglês, remonta de Hipócrates, em seu “Das Epidemias”: “boca acometida por ulcerações aftóides” (Disponível em <http://etext.library.adelaide.edu.au/h/hippocrates/epidemics/index.html>). Novos relatos documentados surgiram em 1665, no “Diário de Samuel Pepy”: “o paciente apresentou febre, aftas e soluços”. A idéia de que o problema surgia do próprio hospedeiro perdurou até os anos de 1900, quando Castellani postulou que as aftas eram “secreções mórbidas da cavidade oral” (HILL, 1751).

As primeiras idéias de que a afecção poderia corresponder a um agente infeccioso ocorreu em 1771, quando Rosen vonRosenstein descreveu uma forma invasiva de afta. O crédito para a primeira identificação de infecção fúngica em um paciente foi dado a Langenbeck, em 1839, quando descreveu “Aftas de orofaringe e esôfago com pseudomembranas foram encontradas na autópsia. Ao microscópio, as pseudomembranas correspondiam à imensa quantidade de fungos”. Em 1844 J. H. Bennett observou fungo similar no escarro de pulmão de um paciente com pneumotórax. Concluiu que o problema era “indicativo de grande depressão das forças vitais e competição das funções nutritivas do hospedeiro”. Dois anos depois Berg confirmou que as aftas eram causadas por fungos e podiam ser transmitidas por uso comum de vasilhas de alimentação. Após isso, o mesmo patógeno foi descrito como causador de vaginite e infecções gastrointestinais (BARNETT et al., 2004).

Foi C. P. Robin, em 1843, que primeiro classificou o fungo como *Oidium albicans*, causador das aftas. Hill e posteriormente Martin e Jones, em 1851, erroneamente classificaram o fungo no gênero *Monilia*, que contem fungos comuns em plantas. Apesar do erro de classificação, a nomenclatura ficou notória entre os clínicos. Em 1923 C. Berkhout verificou diferenças, principalmente relativas à capacidade de infectar humanos. Assim, foi proposta classificação no atual gênero *Candida* (referindo-se à toga branca utilizada pelos senadores romanos). Em 1954 o “Oitavo Congresso Botânico” endossou o binômio *Candida albicans* (KNOBE et al., 2006).

GÊNERO *Candida*

As leveduras do gênero *Candida* constituem aproximadamente 200 espécies diferentes, que vivem normalmente nos mais diversos sistemas corporais, como orofaringe, cavidade bucal, dobras da pele, secreções brônquicas, vagina, urina e fezes. Dentre as espécies que compõem este gênero, *Candida albicans* apresenta maior relevância em função de sua taxa de prevalência em condições da normalidade e de doença (RIPPON, et al., 1974; ODDS, et al., 1988; KURTZMANN, et al., 1998).

C. albicans está amplamente distribuída na natureza, ocupando diversos *habitats*, ao contrário de outras espécies do gênero, de distribuição limitada (WINNER, et al., 1964). Além disso, está muito bem adaptada ao corpo humano, sendo capaz de colonizá-lo sem produzir sinais

e sintomas em condições de normalidade fisiológica (GHANNOUM, et al., 1990). *C. albicans* é um fungo dimórfico, que se apresenta sob formas leveduriformes (blastocóndios) no estado saprofítico, associado à colonização assintomática ou como formas filamentosas (pseudo-hifas e hifas verdadeiras) observadas em processos patogênicos. Além disto, sob condições sub-ótimas de crescimento, neste fungo pode ocorrer a formação de clamidísporos, que são esporos arredondados que possuem uma espessa parede celular. Desta forma, o fungo tem a capacidade de se adaptar a diferentes ambientes, podendo ser considerado, a rigor, um organismo polimórfico (LACAZ, et al., 1991).

CANDIDÍASE VULVOVAGINAL

Candidíase vulvovaginal (CVV) é um distúrbio causado pelo crescimento anormal de fungos do tipo levedura na mucosa do trato genital feminino (SOBEL, 2007; DALBEN-DOTA, et al., 2010). Consiste em uma patologia causada por leveduras que normalmente habitam a mucosa vaginal, mas que podem tornar-se patogênicas frente a condições predisponentes (SOBEL, 2007; DAMKE, et al., 2010).

Esta infecção caracteriza-se por prurido, ardor, dispareunia e pela eliminação de um corrimento vaginal em grumos, semelhante à nata de leite. Com frequência, vulva e vagina encontram-se edemaciadas e hiperemiadas, algumas vezes acompanhadas de ardor ao urinar e sensação de queimadura (SOBEL, 1990). As lesões podem estender-se pelo períneo, região perianal e inguinal (ALMEIDA FILHO, et al., 1995). O corrimento geralmente é branco e espesso, é inodoro e, quando depositado nas vestes a seco, tem aspecto farináceo. Em casos típicos, nas paredes vaginais e no colo uterino aparecem pequenos pontos branco-amarelados. Os sintomas se intensificam no período pré-menstrual, quando a acidez da vagina aumenta (SALVATORE, 1980).

A principal fonte de leveduras vaginais é o trato gastrointestinal, através de um processo chamado transmissão endógena. As mesmas são veiculadas para a vagina por auto-inoculação, onde se adaptam e se desenvolvem. A transmissão sexual também é aceita, o que a torna uma doença de possível transmissão sexual (DST) (REESE, et al., 1991). Através da ação de enzimas como proteases e hidrolases, as leveduras que chegam à vagina penetram no seu epitélio

superficial, aonde permanecem albergadas, podendo causar distúrbios imediatos ou constituir-se em reservatórios para reinfecções posteriores (FIDEL, et al., 1996).

C. albicans é o agente mais frequente dos casos de CVV (80 a 90%). No entanto, espécies não-*albicans* (10 a 20%) tem sido identificadas como patógenos comuns, incluindo *C. grabrata*, *C. ghilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula* spp. e *Trichosporon* spp. A maior preocupação reside no fato de que essas outras espécies, em geral, tendem a ser mais resistentes aos antifúngicos (PAIVA, et al., 2010).

A CVV está elencada entre os principais problemas ginecológicos que afetam mulheres em idade reprodutiva, atingindo milhares de pessoas no mundo todo, levando à grande desconforto, interferindo na relação sexual e afetiva e prejudicando o desempenho no trabalho (SOBEL, 2007; ADAD, et al., 2001). Sua incidência tem aumentado drasticamente, tornando-a a segunda causa de infecção genital mais frequente nos Estados Unidos e no Brasil (CORSELLO, et al., 2003; ALVARES, et al., 2007). Possui uma incidência aproximada de 25% das mulheres ao ano e ocupa o segundo lugar entre as infecções cérvico-vaginais, precedida apenas pela vaginose bacteriana. A maioria das mulheres apresenta pelo menos um episódio desta vaginite no decorrer de sua vida. A metade delas apresentará ao menos dois ou três episódios anuais e em aproximadamente 5% a CVV se tornará recorrente (CVVR), ou seja, ocorrerão quatro ou mais episódios em um ano, acarretando em significativa alteração na qualidade de vida dessas pacientes (SOBEL, 2007; CARNEIRO, et al., 2006). Aproximadamente 13 milhões de casos são reportados anualmente nos Estados Unidos. O custo estimado com a doença foi de aproximadamente 1,8 bilhões de dólares em 1995, projetando cerca de 3,1 bilhões de dólares em 2014 (XU, et al., 2003).

DIAGNÓSTICO

É conhecida a dificuldade de estabelecer correlação direta entre sintomatologia e infecções especificamente causadas por leveduras. Pelo menos 15% das pacientes sintomáticas não apresentarão indícios laboratoriais de infecção. É importante que o manejo do diagnóstico para infecções suspeitas de CVV consistam de, pelo menos, aferição do pH e microscopia com

KOH. É encorajado o uso de culturas da microbiota vaginal, especialmente em casos recorrentes (BEN-HAROUSH, et al., 2004).

Acredita-se que a sensibilidade e a especificidade da cultura em meio específico seja muito próxima de 100%. A microscopia a fresco tem sensibilidade de 52%, (com 23% de falso-positivos) e, se associada ao teste com KOH, pode chegar a 70%. Alguns kits laboratoriais específicos para testes rápidos tem sensibilidade de 72% (GAUR, et al., 2010).

Sintomas, isoladamente, não devem ser utilizados para direcionar o tratamento em situações onde os recursos permitem avaliações mais completas com testes ambulatoriais, incluindo a microscopia. Falhas de tratamento e incertezas diagnósticas devem ser verificadas por testes laboratoriais específicos (AUGER, et al., 1980). Testes autoaplicados e história clínica não podem ser usados para o diagnóstico adequado de CVV (tampouco de vaginose bacteriana e tricomoníase) em mulheres com queixa de corrimento vaginal. Os custos envolvidos em dispensar o exame especular e utilizar apenas testes autoaplicados não justifica, em longo prazo, devido ao risco de falha diagnóstica (SINGH, et al., 2013).

A vaginite aeróbica, que consiste em uma infecção vaginal comum, frequentemente aparece concomitante a outras infecções, especialmente CVV, vaginose bacteriana e tricomoníase. Os sintomas e sinais dessas infecções mistas são atípicos. Se a paciente apresentar queixas vaginais, é necessário diferenciar entre a presença dos diferentes agentes ou entidades (FAN, et al., 2013).

FATORES PREDISPOONENTES DO HOSPEDEIRO

A transição de *Candida* spp. comensal para patógeno consiste de uma linha muito tênue e que é atribuível a um extenso repertório de determinantes de virulência seletivamente expressos em condições predisponentes adequadas (ANTONY, et al., 2007). Tanto fatores locais como sistêmicos podem contribuir para invasão tecidual por *C. albicans* e por espécies não-*albicans*. A intensa multiplicação no canal vaginal é favorecida por uma série de fatores predisponentes. Do ponto de vista do hospedeiro, a colonização prévia por levedura e posterior diminuição da capacidade de resposta imunológica observada em doenças imunossupressoras, como HIV/AIDS, diabetes melitus, gestantes e usuárias crônicas de corticóides parecem favorecer a

infecção. Ainda parecem contribuir a estrogênio, pequenos traumas como o ato sexual, hábito de usar roupas muito justas ou de fibras sintéticas, além da dieta muito ácida (FERNANDES, et al., 1996; NARDIN, et al., 2000). Na prática, a infecção vaginal por *C. albicans* geralmente é associada com situações de debilidade do hospedeiro ou quando o teor de glicogênio do meio vaginal está elevado, e a conseqüente queda do pH local propicia o desenvolvimento da infecção. Qualquer alteração dos níveis de glicose, especialmente em situações de hiperglicemia, e qualquer estado em que se produz elevação do glicogênio vaginal, pode desencadear CVV (GOSWAMI, et al., 2006). O excesso de glicogênio aumenta o substrato nutritivo dos fungos, promovendo um incremento na sua capacidade de adesão (LACAZ, 1980; PEREIRA, et al., 1996). Altos níveis de produção de hormônios femininos, especialmente progesterona, aumentam os níveis de glicogênio no ambiente vaginal, o qual serve como excelente fonte de carbono para crescimento e germinação de leveduras (SOBEL, 1999). Como muitas mulheres são portadoras assintomáticas de *Candida* em pequenas quantidades, neste estado a levedura é considerada como comensal e as alterações no ambiente vaginal do hospedeiro são necessárias para que a mesma induza seus efeitos patológicos e a paciente desenvolva CVV (SOBEL, 1993).

A microbiota vaginal normal é rica em lactobacilos produtores de peróxido (bacilos de Döderlein), os quais produzem ácido láctico a partir do glicogênio, presente principalmente no citoplasma das células escamosas do tipo intermediárias do epitélio vaginal, cuja produção é estimulada pelos hormônios sexuais femininos. Esse mecanismo propicia acidez adequada do ambiente vaginal (pH em torno de 4,5), dificultando a proliferação da maioria dos patógenos. As leveduras são uma exceção, uma vez que proliferam em ambiente ácido (VAL, et al, 2001).

Fatores predisponentes do hospedeiro, já bem conhecidos, como diabetes mellitus, imunodepressão, gravidez e terapias hormonais, apenas explicam parcialmente a CVV. O uso de antibióticos de amplo espectro, a dieta, o uso de contraceptivo oral, bem como a higiene pessoal e as práticas sexuais têm sido estudadas como fatores de risco para recorrência (PATEL, et al., 2004). O papel da imunidade humoral na proteção contra infecções fúngicas mucosas e sistêmicas permanece controverso, pois a maioria dos pacientes com infecções mucosas por *C. albicans* tem níveis normais ou elevados de anticorpos anti-*Candida* no soro e secreções mucosas. Foi demonstrado ainda resposta acentuada de IgA, IgG1 e IgG4 anti-*C. albicans* no lavado vaginal de mulheres sintomáticas com cultura positiva, sugerindo importante papel desses

anticorpos na resposta imune local estimulada pela presença do fungo (FIDEL, et al., 1996; CARVALHO, et al., 2003). O mecanismo exato pelo qual esses anticorpos protegem contra infecções por *Candida* spp. é desconhecido, mas parece incluir inibição da adesão ou formação do tubo germinativo, opsonização, neutralização de enzimas relacionadas com a virulência e atividade fungicida direta (MORAGUES, et al., 2003).

CVV E ANTIBIÓTICOS: HISTÓRICO DOS ESTUDOS ANTERIORES

Tem sido relatado que entre os fatores predisponentes para CVV está a utilização de antibióticos, que pode incrementar tanto a colonização quanto a infecção por *Candida*. Embora diferentes estudos não tenham sido conclusivos neste sentido, antibióticos podem suprimir a microbiota vaginal lactobacilar, que é o principal mecanismo defensivo vaginal (LARSEN, et al., 1994).

Apesar de lógica a observação, a associação entre a falta ou perda de lactobacilos e a susceptibilidade à CVV não foi demonstrada em mulheres sob uso de antibióticos (AGNEW, et al., 1995). Em primeira análise, a ausência de lactobacilos não aumenta a ocorrência de CVV (HAWES, et al., 1996), sendo que somente foi demonstrado que existe associação entre a presença de *C. albicans* e um decréscimo nas bactérias aeróbicas e predominância de bactérias Gram negativas. Devido a esse fato, é possível sugerir que as bactérias Gram negativas tenham uma maior atividade antagonista em relação ao crescimento de leveduras do que dos lactobacilos. Isto pode justificar a evidência clínica de que antibióticos de maior espectro tenderiam a aumentar em níveis mais elevados a ocorrência de CVV (SMEEKENS, et al., 2013). O mesmo poderia ser extrapolado em relação às bactérias anaeróbicas (WEISBERG, et al., 1988). Pacientes sob maior risco provavelmente já são colonizadas por leveduras na vagina, mas o real papel da microbiota e dos possíveis fatores do hospedeiro não estão claros (WITKIN, et al., 1991).

As primeiras evidências publicadas sobre a interferência de antibióticos na ocorrência de CVV datam da década de 1950 em estudos com animais. Em 1963, foram demonstrados indícios de maior frequência de CVV em pacientes sob tratamento hospitalar (GONZALES, et al., 1963).

Iniciaram-se, então, estudos mais específicos sobre o tipo de antibiótico utilizado em 1965. Verificou-se que poderia haver aumento de incidência de CVV pós uso de metronidazol

para o tratamento de infecções intestinais (ALTERAS, et al., 1965). Em 1976 foi publicado que a presença de *Candida* em regiões de atividade comensal não usual devia-se à alguma agressão ao hospedeiro, ou seja, infecção bacteriana subjacente, uma doença primária ou uso de imunossupressores. Ainda, que o uso de antibióticos poderia eliminar a infecção fúngica concomitante por eliminar o fator causal inicial (MULLER, et al., 1976).

Novas publicações sobre o tema voltaram a surgir apenas na década de 90, quando em 1991, foi observado que dentre 74 mulheres submetidas a tratamento antibiótico por diversas doenças bacterianas, 46 não apresentavam alterações, mas 4 apresentaram vaginite inespecífica e 24 sinais de CVV (por cultura ou por teste com KOH). O objetivo dos autores consistia em identificar a especificidade e sensibilidade do diagnóstico considerando apenas sinais e sintomas e sinais. Os mesmos sugeriram que, no grupo pós-tratamento por antibiótico, a presença de sintomas poderia ser usada para propor tratamento, mesmo sem testes laboratoriais confirmatórios (BLUESTEIN, et al., 1991).

Em 1993, já existiam publicações que relacionavam o uso de antibióticos com o aumento do crescimento fúngico, tendo como base principalmente estudos em pacientes tratados sob terapia intensiva. Este estudo relatava risco relativo de surgimento de CVV de 2,3 no grupo sob uso de antibióticos, sendo pior no grupo sob uso de cefalosporinas. Além disso, maior incidência de CVV no grupo que havia feito tratamentos antifúngicos vaginais prévios (MACDONALD, et al., 1993).

Uma comparação específica entre diferentes antibióticos foi publicada em 2002, correlacionando o pivmecilinam com a norfloxacin. Foi observada menor incidência de CVV no grupo sob uso do pivmecilinam. Porém, estes resultados não foram estatisticamente significantes em relação ao grupo controle e ainda não houve confirmação laboratorial dos casos de CVV, que foi determinada através dos sintomas das pacientes e ainda por meio de tratamentos anteriormente prescritos (MENDAY, et al., 2002).

Em 2003 foi desenvolvido estudo foi então desenvolvido com o objetivo de comparar a incidência de CVV entre pacientes com monitoramento pós compra de antibióticos. De 31588 mulheres, 188 reportaram ocorrência de CVV pós-tratamento com antibióticos, gerando risco de 10 vezes comparado ao grupo controle (WILTON, et al., 2003). Porém, os fatores limitantes deste estudo foram os casos sendo apenas reportados pelas pacientes, não havendo confirmação

laboratorial da CVV, e vários antibióticos foram elencados no estudo, sem discriminar classe específica.

Em estudo de 2003, os autores colocaram em dúvida a associação de CVV após uso de antibióticos. Onde 316 mulheres que usaram antibióticos foram acompanhadas por 6 meses, sendo que 13 foram relatos de tratamento para micoses e 475 foram totais de antibióticos, não apresentando aumento significativo na incidência (GLOVER, et al., 2003). Os tratamentos foram reportados pelos médicos assistentes dessas pacientes, porém não houve qualquer confirmação microbiológica.

Em 2006, 400 pacientes foram acompanhadas por dois anos em outro estudo, que evidenciou prevalência de 12,5% de CVV em geral, sendo que o uso de pílulas anticoncepcionais e de antibióticos foi considerado como fatores predisponentes (FOSCH, et al., 2006). Porém, não houve discriminação quanto aos tipos de antibióticos utilizados bem como ao tempo de uso. Também em 2006, foi realizado estudo caso controle de pacientes em uso de antibióticos para infecções não genitais e foi determinado que o principal fator de risco para desenvolvimento da CVV após uso de antibióticos consistia na colonização prévia, bem como episódios prévios de CVV pós-antibiótico (PIROTTA, et al., 2006). O estudo utilizou amostras coletadas pelas próprias pacientes e não demonstrou aumento de incidência no grupo sob uso de antibiótico comparado ao grupo controle.

FATORES DE VIRULÊNCIA DE LEVEDURAS

A patogenicidade ou virulência de um micro-organismo é definida como sua capacidade de determinar doença, sendo esta mediada por múltiplos fatores (GHANNOUM, et al., 1990). A virulência das espécies patogênicas de *Candida* spp. depende de vários fatores, tais como adesão a substratos inertes e biológicos, formação de tubo germinativo com consequente desenvolvimento da forma filamentosa, variabilidade genotípica, produção de toxinas e enzimas extracelulares hidrolíticas, variabilidade antigênica, imunomodulação dos mecanismos de defesa do hospedeiro e hidrofobicidade de superfície celular (CALDERONE, et al., 2001). Adesão aos tecidos do hospedeiro e produção de enzimas extracelulares são alguns dos maiores atributos de virulência de espécies de *Candida* (FIDEL, et al., 2004).

NORFLOXACINA E INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO (ITU)

As quinolonas (6-fluoroquinolonas) possuem amplo espectro de ação contra micro-organismos Gram positivos, Gram negativos, micobactérias e alguns micro-organismos anaeróbios. Mostram boa a moderada absorção por via oral e posterior penetração nos tecidos, com farmacocinética favorável em humanos, sendo utilizadas para combate de uma grande variedade de infecções. Além disso, exibem perfis de segurança excelentes. O mecanismo de ação principal é a inibição das enzimas bacterianas DNA-girase e topoisomerase IV. As quinolonas se originaram do ácido nalidíxico e a norfloxacin foi patenteada em 1978 (TAKAHASHI, et al., 2003).

A cistite não complicada, ou ITU não complicada, é uma das infecções mais comuns nos adultos. Acredita-se que a percentagem de ocorrência de episódios agudos seja entre 40% e 50% nas mulheres, durante a vida. (RAFALSKY, et al., 2006). Dentre os casos comunitários (não nosocomiais), *Escherichia coli* é a bactéria mais comum (cerca de 80% dos casos). Entre os Gram positivos, destaca-se *Enterococcus faecalis* (cerca de 4% dos casos). Pode-se encontrar uma grande variedade de outras bactérias em frequências menores (LEWIS, et al., 2013).

A suscetibilidade dessas bactérias às fluoroquinolonas é de 94,1% a 95% (LEWIS, et al., 2013), sendo assim seu uso considerado adequado para esse tipo de infecção (RAFALSKY, et al., 2006; GRABE, et al., 2009).

JUSTIFICATIVA

CVV é uma afecção extremamente importante na prática clínica diária em ginecologia e por acometer milhões de mulheres anualmente, determinando grande desconforto, interferindo nas relações sexuais e afetivas e prejudicando o desempenho laboral, sendo assim considerada como um importante problema de saúde pública mundial.

Agentes antimicrobianos do tipo antibióticos podem alterar a microbiota vaginal, e em decorrência disto favorecer o desenvolvimento de CVV. Porém, pouco é conhecido em relação ao efeito de diferentes classes de antibióticos sobre o desenvolvimento de CVV. Assim, torna-se necessário a realização de exames laboratoriais relacionados à detecção, tanto de colonização

vaginal quanto da CVV antes e após a utilização de antibióticos específicos, para determinar o real envolvimento dos mesmos no desenvolvimento de CVV nestas pacientes.

Até onde sabemos o isolamento e a correta identificação das espécies de leveduras de colonização vaginal ou CVV em mulheres pós- tratamento de infecção urinária com norfloxacin ainda não foi realizado e os dados obtidos com o presente estudo poderão auxiliar na elaboração de protocolos para tratamento e controle desta infecção nestas mulheres.

OBJETIVOS

GERAL

Avaliar o efeito do tratamento com norfloxacin em infecções do trato urinário não complicadas (ITU) no isolamento de *Candida* spp. vaginais e no desenvolvimento de candidíase vulvovaginal (CVV).

ESPECÍFICOS

- Identificar pacientes com queixas clínicas de infecção urinária e confirmar ou não a presença da infecção urinária através de análise de urina Tipo 1 e urocultura;
- Indicar o uso de norfloxacin, 400mg em via oral, de 12 em 12 horas, por 7 dias, para o tratamento da infecção urinária laboratorialmente comprovada;
- Coletar material vaginal pré-tratamento, em fundo de saco vaginal para bacterioscopia e cultura para leveduras, e citologia tríplice da cérvix uterina para exame de Papanicolaou;
- Coletar material vaginal três semanas após tratamento, em fundo de saco vaginal para bacterioscopia e cultura para leveduras, e citologia tríplice da cérvix uterina para exame de Papanicolaou;

-Determinar a frequência de leveduras vaginais e CVV antes e após o tratamento através da bacterioscopia, citologia e cultura;

-Avaliar o efeito da utilização de norfloxacin em infecções urinárias no desenvolvimento de CVV bem como na distribuição de gêneros e espécies destas leveduras no ambiente vaginal.

REFERÊNCIAS

ADAD S.J.; LIMA R.V.; SAWAN S.T.E. Frequency of *Trichomonas vaginalis*, *Candida sp* and *Gardnerella vaginalis* in cervical-vaginal smears in four different decades. **Mel J São Paulo**, v. 119, p. 200-205, 2001.

AGNEW K.J.; HILLIER S.L. The effect of treatment regimens for vaginitis and cervicitis on vaginal colonization by lactobacilli. **Sex Transm Dis**, v. 22, p. 269–273, 1995.

ALMEIDA FILHO G.L.; PASSOS M.R.L.; GOUVÊA T.D.V. Candidíase. In: Passos MRL, ed. **Doenças sexualmente transmissíveis**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1995.

ALVARES C.A.; SVIDZINSKI T.I.E; CONSOLARO M.E.L. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência de leveduras. **J Bras Patol Med Lab**, v. 43, p. 319-327, 2007.

ALTERAS I.; GRIGORIU D.; LAZĂR M.; POROJAN I.; GAVRILESCU M. Complications due to candida during treatment with flagyl. **Dermatologica**, v. 131(4), p. 309-14, 1965.

ANTONY G.; SARALAYA V.; BHAT G.K.; SHIVANANDA P.G. Phenotypic switching and its influence on expression of virulence factors by *Candida albicans* causing candidiasis in human immunodeficiency virus-infected patients. **Indian journal of medical microbiology**, v. 25, p. 241-244, 2007.

AUGER P.; JOLY J. Microbial flora associated with *Candida albicans* vulvovaginitis. **Obstet Gynecol**, v. 55, p. 397–401, 1980.

BARNETT J.A. A history of research on yeasts 8: taxonomy. **Yeast**, v. 21(14), p. 1141-93, 2004.

BEN-HAROUSH A.; YOGEV Y.; KAPLAN B. The importance of diagnostic work-up in the management of candida vulvovaginitis. A]prospective study. **Clin Exp Obstet Gynecol**, v. 31(2), p. 113-6, 2004.

BLUESTEIN D.; RUTLEDGE C.; LUMSDEN L. Predicting the occurrence of antibiotic-induced candidal vaginitis (AICV). **Fam Pract Res J**, v. 11, p. 319–326, 1991.

CALDERONE R.A.; FONZI W.A. Virulence factors of *Candida albicans*. **Trends in microbiology**, v. 9, p. 327-335, 2001.

CARNEIRO S.S.; PERALTA R.M.; SVIDZINSKI T.I.E.; CONSOLARO M.E.L. Contribuição da citologia de Papanicolau para o diagnóstico de leveduras em secreção vaginal. **J Bras Doenças Sex Transm**, v. 18, p. 36-40, 2006.

CARVALHO R.J.V.; CUNHA C.M.; SILVA D.A.O. IgA, IgE e subclasses de IgG anti-*Candida albicans* no soro e lavado vaginal de pacientes com candidíase vulvovaginal. **Rev Assoc Med Brs**, v. 49, p. 434-438, 2003.

CORSELLO S.; SPINILLO A.; OSNENGO G. An epidemiological survey of vulvovaginal candidiasis in Italy. **Europ Journ Obstet Gynecol Reprod Biol.**, v. 110, p. 66-72, 2003.

DALBEN-DOTA K.F.; FARIA M.G.; BRUSCHI M.L. Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from vaginal exudates. **J Altern Complement Med**, v. 16, p. 285-290, 2010.

DAMKE E.; STORTI-FILHO A.; IRIE M.M. Ultrastructural imaging of *Candida albicans* adhesion to rat genital epithelium through scanning and transmission electron microscopy. **Microsc Microanal** v. 16, p. 337-345, 2010.

FAN A.; YUE Y.; GENG N.; ZHANG H.; WANG Y.; XUE F. Aerobic vaginitis and mixed infections: comparison of clinical and laboratory findings. **Arch Gynecol Obstet**, v. 287(2), p. 329-35, 2013.

FERNANDES C.E.; MACHADO R.B. Aspectos etiopatogênicos, diagnósticos e terapêuticos da candidíase vulvovaginal. **Rev Bras Med**, v. 7, p. 100-104, 1996.

FIDEL P.L.JR., SOBEL J.D. Immunopathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. **Clinical Microbio Rev**, v. 9, p. 335-348, 1996.

FIDEL PL, JR.; BAROUSSE M.; ESPINOSA T. An intravaginal live *Candida* challenge in humans leads to new hypotheses for the immunopathogenesis of vulvovaginal candidiasis. **Infec Immun**, v. 72, p. 2939-2946, 2004.

FOSCH S.; FOGOLÍN N.; AZZARONI E.; PAIRETTI N.; DANA L.; MINACORI H.; TITA I.; REDONA M.; GRIBAUDO G. Vulvovaginitis: correlation with predisposing factors, clinical manifestations and microbiological studies. **Rev Argent Microbiol**, v. 38(4), p. 202-5, 2006.

GAUR S.K.; FRICK K.D.; DANDOLU V. A cost-effectiveness analysis of rapid yeast detection kits. **Womens Health Issues**, v. 20(1), p. 75-9, 2010.

GHANNOUM M.A.; RADWAN S.S. Candida adherence to epithelial cells. **New York: CRC Press**, 1990.

GLOVER D.D.; LARSEN B. Relationship of fungal vaginitis therapy to prior antibiotic exposure. **Infect Dis Obstet Gynecol**, v. 11(3), p. 157-60, 2003.

GONZALEZ O.A.; GARCIARAMOS E. Frequency of monilia and moniliasis in the vagina: influence of antibiotics. **Rev Trop**, v. 23, p. 87-94, 1963.

GOSWAMI D.; GOSWAMI R.; BANERJEE U. Pattern of *Candida* species isolated from patients with diabetes mellitus and vulvovaginal candidiasis and their response to single dose oral fluconazole therapy. **Journ Infect**, v. 52, p. 111-117, 2006.

GRABE M.; BISHOP M.C.; BJERKLUND-JOHANSEN T.E.; BOTTO H, Ç.E.K. M.; LOBEL B.; NABER K.G.; PALOU J.; TENKE T., WAGENLEHNER F. Guidelines on Urological Infections, **European Association of Urology**, 2009.

HAWES S.E.; HILLIER S.L.; BENEDETTI J. Hydrogen peroxideproducing lactobacilli and acquisition of vaginal infections. **J Infect Dis**, v. 174, p.1058–1063, 1996.

HILL J. A history of plants. London. **Printed for Thomas Osborne in Grey's-Inn Holbourn**, v. 2; p. 69, 1751.

KNOKE M.; BERNHARDT H. The first description of an oesophagealcandidosis. **Mycoses**, v. 49(4), p. 283-7, 2006.

KURTZMANN C.P.; FELL J.W. The Yeast: a taxonomic study, 4 edn. **Amsterdam: Elsevier**; 1998.

LACAZ C.S. Candidíases. **São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo**, 1980.

LACAZ C.S.; PORTO E.; MARTINS J.C.E. Micologia médica: fungos actinomicetos de interesse médico, 8ª edn. **São Paulo Sarvier**, 1991.

LARSEN B. Microbiology of the female genital tract. Obstetric and Gynecologic Infectious Diseases. **NewYork: Raven Press**, v. 11–25, 1994.

LEWIS D.A.; GUMEDE L.Y.; VAN DER HOVEN L.A.; DE GITA G.N.; DE KOCK E.J.; DE LANGE T.; MASEKO V.; KEKANA V.; SMUTS F.P.; PEROVIC O. Antimicrobial susceptibility

of organisms causing community-acquired urinary tract infections in Gauteng Province, South Africa. **S Afr Med J**, v. 103(6), p. 377-81, 2013.

MACDONALD T.M.; BEARDON P.H.; MCGILCHRIST M.M.; DUNCAN I.D.; MCKENDRICK A.D.; MCDEVITT D.G. The risks of symptomatic vaginal candidiasis after oral antibiotic therapy. **Q J Med**, v. 86(7), p. 419-24, 1993.

MENDAY A.P. Symptomatic vaginal candidiasis after pivmecillinam and norfloxacin treatment of acute uncomplicated lower urinary tract infection. **Int J Antimicrob Agents**, v. 20(4), p. 297-300, 2002.

MORAGUES M.D.; OMAETXE BARRIA M.J.; ELGUEZABAL N. A monoclonal antibody directed against a *Candida albicans* cell wall mannoprotein exerts three anti-*C. albicans* activities. **Infect Immun**, v. 71, p. 5273-5279, 2003.

MÜLLER J. Fungal infection after antibiotic therapy (author's transl). **MMW Munch Med Wochenschr**, v. 118(21), p. 669-72, 1976.

NARDIN M.E.; MORANO S.; AHUMADA C. Prevalence de la candidiasis vulvovaginal y su relación con algunos factores de riesgo. **Rev Argent Microbiol**, v 118, p. 669-72, 2000.

ODDS F.C.; WEBSTER C.E.; MAYURANATHAN P.; SIMMONS P.D.; *Candida* concentrations in the vagina and their association with signs and symptoms of vaginal candidosis. **Journ Med Vet Mycol** v. 26, p. 77-283, 1988.

PATEL D.A.; GILLESPIE B.; SOBEL J.D.; Risk factors for recurrent vulvovaginal candidiasis in women receiving maintenance antifungal therapy: results of a prospective cohort study. **Amer Journ Obstet Gynecol**, v. 190, p. 644-653, 2004.

PAIVA L.C.; DONATTI L.; PATUSSI E.V.; SVIZDINSKI T.I.; LOPES-CONSOLARO M.E. Scanning electron and confocal scanning laser microscopy imaging of the ultrastructure and viability of vaginal *Candida albicans* and non-*albicans* species adhered to an intrauterine contraceptive device. **Microsc Microanal** v. 16, p. 537-549, 2010.

PEREIRA I.D.B.; SOUZA A.E.S.; FEIO R.S.; VIEIRA A.B.R.; VIEIRA J.M.S. Vulvovaginites por *Candida albicans* em pacientes ambulatoriais do Hospital Universitário Betina Ferro de Souza. **Rev Bras Anál Clin**, v. 28, p. 53-54, 1996.

PIROTTA M.V.; GARLAND S.M. Genital *Candida* species detected in samples from women in Melbourne, Australia, before and after treatment with antibiotics. **J Clin Microbiol**, v. 44(9), p. 3213-7, 2006.

RAFALSKY V.; ANDREEVA I.; RJABKOVA E. Quinolones for uncomplicated acute cystitis in women. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 33(2), p. 19;(3), 2006

REESE R.E.; BETTS R.F.; Antibiotic use. In: Reese RE, Betts RF, eds A practical approach to infectious disease. **Boston: Little, Brown and Company**, v. 821, 1991.

RIPPON J.W. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes. **Medical Micrology**, 1974.
SALVATORE C.A. Candidíase vulvovaginal. In: Lacaz CS, ed. **Candidíases**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1980.

SINGH R.H.; ZENILMAN J.M.; BROWN K.M.; MADDEN T.; GAYDOS C.; GHANEMKG. The role of physical examination in diagnosing common causes of vaginitis: a prospective study. **Sex Transm Infect**, v. 89(3), p. 185-90, 2013.

SMEEKENS S.P.; VEERDONK F.L.V.; KULLBERG B.J.; NETEA MG. Genetic susceptibility to Candida infections. **Embo Mol Med**, v. 5(6), p. 805–813, 2013.

SOBEL J.D. Vaginal infections in adult women. **Medic Clin Nor Amer**, v. 74, p. 1573-1602, 1990.

SOBEL J.D. Candidal vulvovaginitis. **Clin Obstet Gynecol**, v. 36, p. 153-165, 1993.

SOBEL J.D. Vulvovaginal candidosis. **Lancet**, v. 369, p. 1961-1971, 2007.

TAKAHASHI H.; HAYAKAWA I.; AKIMOTO T. The history of the development and changes of quinolone antibacterial agents. **Yakus Zas**, v. 38(2), p. 161-79, 2003.

WEISBERG M. Considerations in therapy for vulvovaginal candidiasis: when and whom to treat. In Clinical Perspectives: Terconazole, an Advance in Vulvovaginal Candidiasis Therapy, Edited by Sobel JD. **New York: McGraw-Hill**, v. 51, p. 1–8, 1988.

WILTON L.; KOLLAROVA M.; HEELEY E.; SHAKIR S. Relative risk of vaginal candidiasis after use of antibiotics compared with antidepressants in women: postmarketing surveillance data in England. **Drug Saf**, v. 26(8), p. 589-97, 2003.

WINNER H.S.; HURLEY R. *Candida albicans* **London: Churchill**, 1964.

WITKIN S.S. Immunologic factors influencing susceptibility to recurrent candidal vaginitis. **Clin Obstet Gynecol**, v. 34, p. 662–668, 1991.

VAL I.C.C.; ALMEIDA FILHO G.L. Abordagem Atual da Candidíase Vulvovaginal. **J Bras Doenças Sex Transm**, v. 13, p. 3-5, 2001.

XU J.; SOBEL J.D. Antibiotic-associated Vulvovaginal Candidiasis. **Curr Infect Dis Rep**, v. 5(6), p. 481-487, 2003.

CAPÍTULO II

**Artigo1: “VAGINAL *Candida sp.* ISOLATION AFTER NORFLOXACIN TREATMET OF
ACUTE UNCOMPLICATED LOWER URINARY TRACT INFECTION”**

**VAGINAL *Candida sp.* ISOLATION AFTER NORFLOXACIN
TREATMENT OF ACUTE UNCOMPLICATED LOWER URINARY
TRACT INFECTION**

RODRIGO M. ROCHA*, PÂMELA C. M. D. ZANNI*, PATRÍCIA DE S.
BONFIM-MENDONÇA**, FABRÍCIA GIMENES*, SILVIA S.D. ALCZUK*, TEREZINHA I. E.
SVIDZINSKI** & MÁRCIA E. L. CONSOLARO*

**Clinical Cytology Laboratory, Department of Clinical Analysis and Biomedicine, State University of Maringá, Paraná, Brazil*

***Medical Mycology Laboratory, Department of Clinical Analysis and Biomedicine, State University of Maringá, Paraná, Brazil,*

Running title: Vaginal *Candida* after norfloxacin treatment.

Correspondence: Marcia Edilaine Lopes Consolaro, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, Maringá, Paraná 87020-900, Brazil.

E-mail: melconsolaro@gmail.com

ABSTRACT

Vulvovaginal candidiasis (VVC) is an extremely important pathology in the clinical practice. Some studies revealed that antibiotics can interfere in VVC incidence. The present study evaluated the effect of norfloxacin to treat uncomplicated urinary infections in the incidence of VVC. Microbiological methods were performed to identify the presence of yeast infections. Were performed Pap smear, bacterioscopy and yeast culture in the patient first visit and 4 weeks after. Were found 2 positive samples of candidiasis, (1 colonization and 1 after treatment) and 18 positive samples in the control group (4 colonizations and 7 asymptomatic infections). The results showed that the use of antibiotic did not change the yeast detection rates, with *Odds Ratio* (OR) in the case group of 0.19 (CI 0.02 – 1.63, $p > 0,13$), relative to the control group. The use of norfloxacin does not increase the VVC incidence. This information shows that the use of specific antibiotics do not increase vaginal yeast infections and another

studies must be performed individualizing antibiotics and infection sites, to correctly define witch situations can increase VVC incidence.

Keywords: *vaginal Candida, norfloxacin, treatment, urinary infection*

1. Introduction

Vulvovaginal candidiasis (VVC) affects millions of women annually, causing great discomfort, interfering with sexual and affective relations and impairing work performance, being considered an important worldwide public health problem [1, 2, 3]. However, etiology remains poorly understood [4 -7]. VVC is a disease caused mainly by members of the genus *Candida* [8]. These yeasts, in particular *C. albicans*, are well adapted to human body, and are capable of colonizing it without producing signs of disease in conditions of physiological equilibrium. However, under conditions that disrupt the delicate balance between the host and this commensal fungus, a parasitic relationship may occur, resulting in the development of infections, including VVC [9]. For development of VVC predisposing factors related to the host are very important, mainly use of antibiotics [4 - 6, 10].

Although the widespread use of antibiotics has been suggested as one of the major factors contributing to the rising incidence of VVC [4 – 6, 10], the evidence supporting this hypothesis has been limited [10] and sometimes conflicting [4, 10]. Most existing studies have been limited by lack of mycology culture data [11, 12], their retrospective nature [13 - 17], and lack of control groups [18, 19].

In addition to antibiotics, other hypothesized risk factors for VVC include previous vaginal colonization by yeasts; a history of VVC; sexual practices (especially receptive oral sex); African American ethnicity the diminished immunological response observed in immunosuppressive diseases, diabetes mellitus, pregnancy, or chronic use of corticoids. The use of estrogen therapy, minor traumas such as the sexual act, the habit of wearing tight or synthetic clothing, and diet also seem to contribute [3, 4, 20 - 24]. However, definitive evidence relating each of these factors is limited [6, 22]. Also, there has been little progress in understanding pathogenesis of antibiotic-associated VVC. It was described that there is a critical need for high quality, well-controlled clinical studies investigating the relationship between antibiotic use and the development of VVC. Can be added the need for development of clinical studies evaluating the association between the use of specific antibiotic type and the vaginal *Candida* spp. isolation and VVC [6, 10].

The present prospect study aims to evaluate the effect of norfloxacin treatment for symptomatic acute uncomplicated lower urinary tract infection (UTI) on prevalence of vaginal *Candida* spp. isolation and symptomatic VVC.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Population

Participants were recruited from gynecology and obstetrics medicine office named "Da Vinci Ginecologia e Obstetrícia" of Toledo city, Brazil, from January 2 to December 30, 2013.

For inclusion in antibiotic group were used the following criteria: non-pregnant women of 18 years of age or over, without symptoms of VVC or others vaginal infection, with symptomatic acute uncomplicated lower urinary tract infection (UTI), that were treated with norfloxacin (Eurofarma, São Paulo, Brazil) for 7 days/12-12 as according Bishop *et al.* [25], and UTI proved by culture. Were excluded woman with: symptoms of VVC; previous history of CVVR; previous history of complicate UTI; current or recent pregnancy; women who had taken systemic or vaginal antibiotics, systemic or vaginal antifungal agents, or systemic corticosteroids in the previous 12 weeks; systemic diseases including HIV, systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and other collagen diseases; women having some degree of difficulty in understanding the study, vaginal bleeding, or sexual intercourse/vaginal douching within the 48 hours preceding collection of the vaginal sample.

The control group women were age-matched (5 years) to the individuals in the antibiotic group and seen in the same clinic for non ITU or VVC in preventive visits. All other exclusion criteria applied for women of the antibiotic group was also applied to the control group.

The women signed the consent form to participate in the study, and responded to standardized questionnaire with information regarding symptoms of VVC, previous treatment for infections, other medical conditions, socio-demographic characteristics, obstetrical and gynecological history, and sexual behavior. Other important information for research conduction were self-assessed likelihood of developing vulvovaginitis after antibiotic treatment, adherence to the antibiotic regimen, any symptoms of VVC, and time to onset of these symptom. A single doctor was responsible to contact and for the clinical conduction of all patients. This project was approved

by the Committee for Ethics in Research Involving Humans at the State University of Maringá (UEM)/Paraná, Brazil (n°162.249/2012).

After enrollment and samples collection, participants were instructed to return for follow-up visits at 4 weeks after starting the norfloxacin therapy (antibiotic group) or after 4 weeks the enrollment visit (control group). At follow-up visit, symptoms of VVC and UTI were reassessed by short questionnaire and examination was performed by physician who obtained a new ecto/endocervical samples for cervical cytology and vaginal specimen for fungal culture and Gram stain. [26, 27].

The women with positive vaginal *Candida* spp. culture can be usually separated into two groups according to symptoms presented by the women in: colonization (COL) in cases with positive vaginal culture but without symptoms; infection (INF) in those cases with positive vaginal culture and women with at least two symptoms of VVC (vaginal discharge, burning, itching, dysuria and/or dyspareunia). [28].

That criteria was not applied in our study because symptomatic patients were not found in the second sample (**Figure 1**).

2.2. Cervical cytology and Gram bacterioscopy

Ecto/endocervical samples were collected with an Ayre's spatula and cytobrush for cervical cytology (Papanicolaou screening). The cytological smears were sent to the Clinical Cytology Laboratory of UEM and were graded according to the Bethesda System [26]. A vaginal specimen were collected for Gram stain (bacterioscopy). The cervical cytology and Gram stain assays were used to determine the qualitative composition of the vaginal microbiota and the presence of yeast.

2.3. Culture for Candida sp.

Vaginal samples were collected with sterile swabs and disposable vaginal speculum, inoculated in sterile saline, and immediately seeded onto plates containing Sabouraud dextrose agar (SDA) (Merck, Darmstadt, Germany), with the addition of 100 mg/ml chloramphenicol, and incubated at 25°C for up to five days. A pool of the colonies grown on each plate was subcultured on CHROMágar Candida® (BioMerieux, Paris, France) to assure the purity of the isolates and to identify mixed cultures. Beginning with the pure culture, the yeasts were identified by classical phenotypic methods [29]. After identification the isolates were stored in Sabouraud dextrose broth (SDB) (Difco, USA) with 10% glycerol at -20°C. After identification, the yeasts were stored at -80°C in Sabouraud dextrose broth (SDB, Merck, Darmstadt, Germany) with 20% of glycerol. Also, the yeasts species were confirmed using matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectroscopy assay (MALDI TOF-MS). To MALDI TOF-MS identification, yeasts were prepared according to Spanu *et al.* [30] and the measurements were performed according to Pascon *et al.* [31] with Microflex LT mass spectrometer (Bruker Daltonics, Germany) using FlexControl software (version 3.0, Bruker Daltonics, Germany).

2.4. Urine culture

The samples were obtained in the laboratory by collection of the first morning urine in sterile containers, using the technique of midstream of spontaneous urination. Semiquantitative urine culture using the calibrated loop technique and inoculation on cystine-lactose-electrolyte-deficient agar (Difco Laboratories, Detroit, Mich.) was employed as the reference method.[27]. Samples were considered positive if they contained $\geq 10^5$, or 10^4 to $<10^5$, CFU of the urinary pathogen/ml of pure culture. Also considered to indicate a urinary infection was isolation of two potentially pathogenic bacterial species, when the individual counts for the two species were $>10^5$ and $>10^5$, $>10^5$ and $>10^4$, or $>10^4$ and $>10^4$ CFU/ml, or when the count for one

organism was $>10^4$ CFU/ml and it was clearly predominant, i.e., at least 10-fold more than the other. Urine specimens containing $\geq 10^5$ or $<10^5$ CFU of nonpathogenic bacteria (lactobacilli, diphtheroids, *Staphylococcus epidermidis*, or non-group-D *Streptococcus* sp.)/ml or multiple (three or more) species of gram-negative bacteria, obtained from patients without clinical evidence of urinary infection, were considered contaminated and were excluded from the study. Isolated microorganisms were identified by standard biochemical procedures [27].

2.5. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the STATA for Statistics and Data Analysis 9.1 software. All variables were expressed as absolute and relative frequencies. The frequencies of *Candida* spp. isolation from the vaginal mucosa, and also association with norfloxacin treatment were evaluated by Chi-square test (χ^2) with Yates correction and logistic regression analysis by Wald test. A value of $p < 0.05$ was considered significant.

3. Results

3.1. Characteristics of the study population

Seventy seven women between 18 and 50 years of age were enrolled in the study. In the study period, 102 cases of UTI were diagnosed of which 30 fell within the inclusion criteria of the study and consisted of the antibiotic group. Among the 786 women who met fell within the selection criteria for inclusion in the control group, 47 agreed to participate (Figure 1). The mean age of the antibiotic group was 34.61 ± 11.03 and the control group 33.93 ± 12.61 ($p < 0.05$). Table 1 shows the baseline characteristics of the antibiotic and control groups.

3.2. Urine culture

The bacteria isolated in urine of women with UTI (antibiotic group) were: *Escherichia coli* (n = 26, 86%), *Klebsiella* sp. (n = 2, 6.7%), *Streptococcus* sp. and *Enterobacter* sp. (n = 1, 3.3% for both). All women with UTI (antibiotic group) had remission of all symptoms after treatment with norfloxacin.

3.3. Vaginal *Candida* spp. colonization and association with norfloxacin treatment

No woman of antibiotic and control groups had symptoms of VVC on the second clinical visit. Thus, there were no cases of symptomatic VVC after treatment with norfloxacin.

In antibiotic group, *C. albicans* was the only yeast isolated from the same patient in the first and second sampling (2/30, 6.7%). In the control group, in 7 women were isolated *Candida* spp. in the first sampling (14.9%) and 4 (8.5%) in the second, representing 23.4% total. In this group, *C. albicans* also was the most species isolated (6/11, 54.5% ; 7/47, 12.2%), followed by *C. glabrata* (3/11, 27.3%; 3/47, 6.4%) and *C. krusei*, that was isolated from the same patient in the first and second sampling (2/11, 18.2%; 2/47, 4.3%) (Tables 2 and 3). There were no differences in rates of positive culture in the first and second sampling between antibiotic and control groups ($p = 0.385$ and $p = 0.101$, respectively).

In the antibiotic and control groups was observed no increased risk for *Candida* colonization or CVV ($OR = 1.0$ CI (95%) = 0.06 - 15.99 and $OR = 2.33$ CI (95%) = 0.60 - 9.02, respectively). For the antibiotic group, no association was observed between the *Candida* colonization or CVV with norfloxacin treatment ($OR = 0.193$, CI (95%) = 0.004 - 1.63, $p =$

0.136). The same was observed when comparing antibiotic and control groups using logistic regression ($OR = 12.19$, $CI (95\%) = 0.02 - 1.63$, $p = 0.13$).

3.4 Cervical cytology and bacterioscopy

Through citology and Gram, yeasts were detected in 01 same woman of antibiotic group in the first and second sampling, coinciding with the culture. In the control group was detected yeasts in 8 women (17%), showing 72.7% of agreeing with the culture. All cases with positive cytology/Gram for yeasts were also positive in the culture. Bacterial vaginosis was observed in 6 (20%) and 11 (23.4%) cases of antibiotic and control groups, respectively ($p < 0.05$), representing 22.1% of women in the study. In 100% of cases with bacterial vaginosis, yeasts were not isolated by culture.

Predominant lactobacilar vaginal microbiota was observed on 22 (73.3%) and 37 (78.7%) of women in the first sampling and in 24 (80%) and 37 (78.7%) in the second, in the antibiotic and control groups, respectively ($p = 0.66$). In all cases which had isolated *Candida* spp., lactobacillus were the predominant vaginal micro-organism in both groups. Moderate or severe inflammation was observed in 12 (40%) women of antibiotic group and in 10 (21%) women of control group. It was not possible establish a correlation between the presence of inflammation on cytology with the isolation of *Candida* spp. ($p = 0.68$).

4. Discussion

To our knowledge, this is the first prospective study to evaluate the effect of norfloxacin treatment for symptomatic acute UTI on prevalence of *Candida* spp. colonization and symptomatic VVC, being monitored for signs and symptoms of vaginitis both clinically and mycologically and that also compared the results to control group of women not exposed to norfloxacin. We found that a seven days course of oral norfloxacin was not associated with both increased prevalence of positive *Candida* colonization or VVC after 4 weeks of antibiotic therapy.

At baseline, 15% of asymptomatic women aged 18 to 50 years had *Candida* spp. colonization; this figure reached 3.33% after norfloxacin treatment, and was not detected women with symptomatic VVC. A percentage of *Candida* spp. colonization is consistent with the literature, considering that the frequency of vaginal yeasts varies widely among different populations [1, 28, 32]. Previous studies have reported prevalence estimates of *Candida* colonization between 10% and 20% [4, 33] with a range of 10% to 50% of healthy adult women in cross-sectional studies [34, 35]. A longitudinal cohort study [36] demonstrated that vaginal yeast colonization may be transient in most women, although 70% of young, sexually active women were vaginally colonized by *Candida* at some time during a period of 1 year, with an average point prevalence of 30%.

Considering the antibiotic group, 6.7% of women had *Candida* spp. colonization, reached 3.33% before and the same value after norfloxacin treatment. For the control group, 23.4% of women had *Candida* spp. colonization, reached 14.9% before and 8.5% in the second visit sample. The statistical analysis showed no risk for *Candida* spp. colonization in the both groups and no association for *Candida* spp. colonization or VVC after norfloxacin treatment. It is difficult to compare our results with those of other studies since the design of the researches are very different.

Most existing studies have been limited by their retrospective nature [13 - 17], lack of control groups, [18, 19], lack of mycology culture data [11, 12, 37] and study various kinds of antibiotics together and not yet evaluated the use of the antibiotic for a specific pathology [11 - 17].

As far as we know, only one study evaluated the association between the use of specific antibiotics for UTI and VVC. This study analyzed the comparative incidence of symptomatic VVC associated with pivmecillinam and norfloxacin treatment in women with UTI in two randomised, double-blind, clinical trials [37]. However, this study evaluated the presence of *Candida* vaginitis based in the specification as such by investigators, related to presence of specific VVC symptoms. Still, it was not evaluated control group. Thus, although our results are very distinct, the study design was also very different, invalidating other comparisons.

In antibiotic group, *C. albicans* was the only yeast isolated from the same patient in the first and second sampling (2/30, 6.7%). In the control group, *C. albicans* also was the species most isolated (12.2%), followed by *C. glabrata* (6.4%) and *C. krusei*, that was isolated from the same patient in the first and second sampling (4.3%). These results are consistent with most studies that have showed *C. albicans* as the most frequently yeast isolated [1, 9]. However, *C. glabrata* and *C. krusei* showed a significant isolation prevalence. Some studies had showed that, in some populations, there is an increase in the isolation of vaginal non-*albicans* species [8, 28, 32], but most authors agree that this does not seem to be a general trend [1].

Antibiotics are thought to predispose women to VVC supposed by eliminating the protective bacterial microbiota, thus allowing *Candida* overgrowth in the gastrointestinal tract, vagina, or both. In particular, *Lactobacillus* spp. could provide colonization resistance and prevent germination, maintaining low numbers of yeast [10]. However, unlike in bacterial vaginosis, which is associated with increased vaginal pH and where lactobacilli are absent or in

very small quantities [38]; In VVC the vaginal pH remains normal and lactobacilli are as likely to be the dominant bacteria as in asymptomatic women [6] . Our results are in agreement with those descriptions, since that lactobacilar vaginal microbiota was predominant in the first and second sampling, in the antibiotic and control groups. Also, lactobacillus were predominant in all cases which had isolated *Candida* spp., norfloxacin did not lead to change in vaginal lactobacilar microbiota, which may at least in part explain the fact that the treatment with this antibiotic for UTI has not been associated with *Candida* colonization or VVC. Previous studies in healthy volunteers showed that norfloxacin markedly reduces intestinal *Enterobacteriaceae*, has little effect on anaerobes and *Candida* overgrowth is uncommon [39].

5. Conclusions

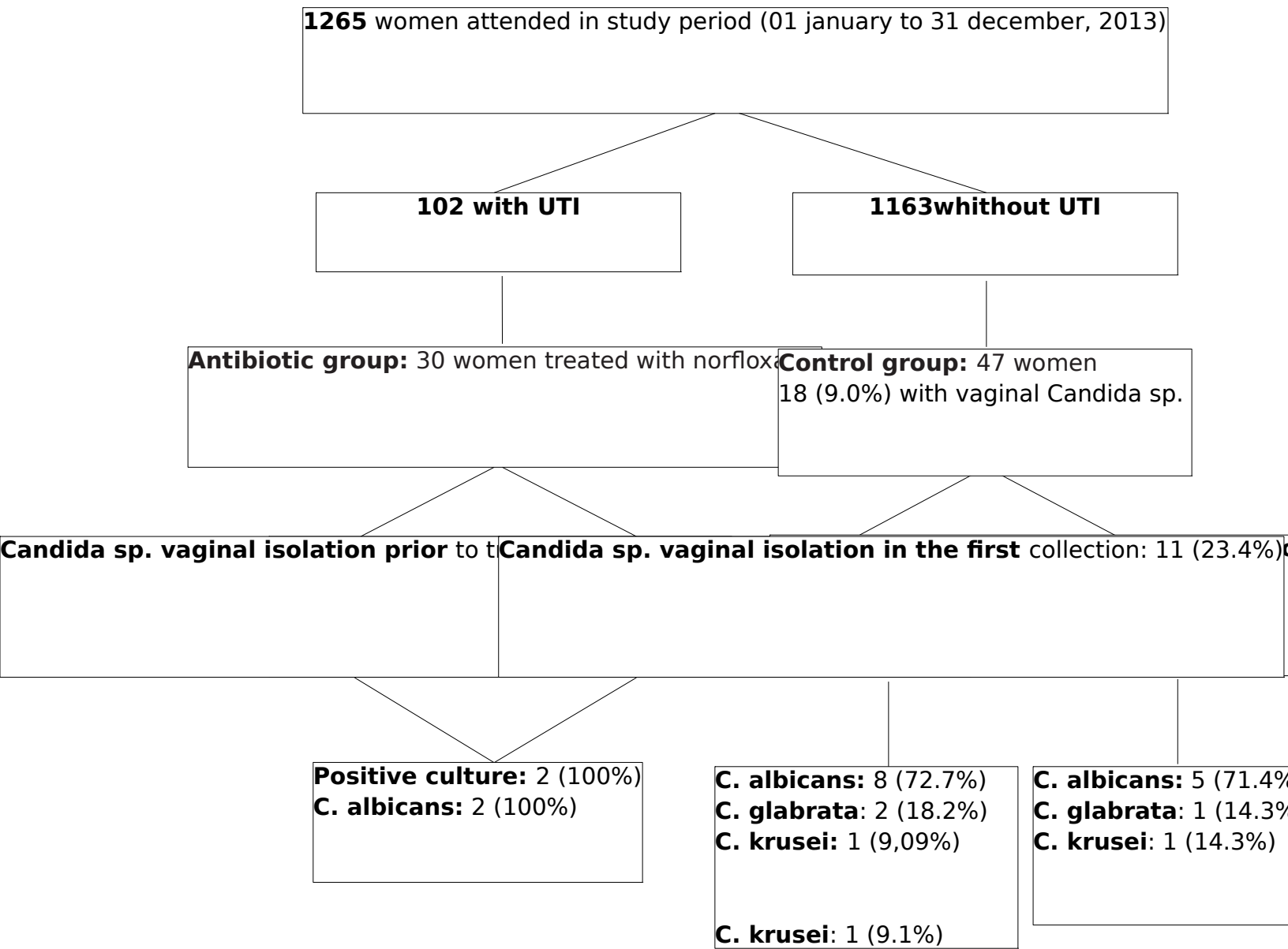
As far as we know, this is the first prospective study to evaluate the effect of norfloxacin treatment for symptomatic acute UTI on prevalence of *Candida* spp. colonization and symptomatic VVC. The main finding is that there was no statistical difference about the incidence of isolation of vaginal yeasts, neither symptomatic VVC. There is a lack of evidence-based information to support that antibiotics in general can increase the incidence of VVC. This information may help practitioners to have more safety treating UTI and move researchers to take a closer look about the real effects of antibiotics on the vaginal microbiota.

Conflict of interest

The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and the writing of the paper.

Acknowledgments

This work was funded by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior (CAPES), Brazilian Government - PROAP.



UTI: symptomatic acute uncomplicate lower urinary tract infection

Table 1. Characteristics of the study population by group status

FIGURE 1. An overview of the study and the results.

Characteristics of Patients

	Antibiotic group (n=30)		Control group (n=47)	
	N	%	N	%
Age (years)				
18 to 30	12	40	19	40,4 2
31 to 40	9	30	17	36,1 7
> 40	9	30	11	23,4
Marital Status				
Married/cohabiting	24	80	35	74,4 6
Unmarried/non-cohabiting	6	20	12	25,5 3
Education				
<8 years	0	0	0	0
>8 years	30	100	47	100
Deliveries				
none	7	23,33	12	25,5 3
<2	22	73,33	30	63,8 2
>2	1	3,33	5	10,6 3
Family Income				
< \$1500/month	2	6,66	16	34,0 4
>\$1500/month	28	93,33	31	65,9 5
Job/Profession				
Housewife	6	20	3	6,38
outside home	24	80	44	93,6 1
Age of first sexual intercourse				
<16	17	56,66	37	78,7 2
>16	13	43,33	10	21,2 7
Contraception				
Hormonal	17	56,66	31	65,9 5
Non-hormonal	13	43,33	16	34,0 4

Table 2. Vaginal *Candida* spp. culture prior and after treatment with norfloxacin for acute uncomPLICATE lower urinary tract infection (antibiotic group)

Vaginal <i>Candida</i> spp. culture prior treatment with norfloxacin	Vaginal <i>Candida</i> spp. culture after treatment with norfloxacin		Total
	Positive	Negative	

Positive	1	1	0	1
Negative	29	-	-	29
Total	30	-	-	30

Table 3. Vaginal *Candida* spp. culture (control group)

	Vaginal <i>Candida</i> spp. culture in the first collection	Vaginal <i>Candida</i> spp. culture in the second collection		Total collection
		Positive	Negative	
Positive	11	7	40	47
Negative	36	-	-	36
Total	47	-	-	47

References

[1] Sobel JD. " Vulvovaginal candidosis". *Lancet* 2007; 369: 1961-1971.

[2] Dalben-Dota KF, Faria MG, Bruschi ML, *et al.*" Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from vaginal exudates". *J Altern Complement Med* 2010; 16: 285-290.

- [3] Nardin ME, Morano S, Ahumada C, Volta G, Fernandez S, Méndez E. Prevalence de la candidiasis vulvovaginal y su relación con algunos factores de riesgo. *Rev Argent Micol* 2000; 22(2/3):13-19.
- [4] Foxman B, Marsh JV, Gillespie B, Sobel JD. Frequency and response to vaginal symptoms among white and African American women: results of a random digit dialing survey. *J Womens Health* 1998; 7:1167–74.
- [5] Monif GR. Classification and pathogenesis of vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol* 1985;152 935–9.
- [6] Sobel JD, Faro S, Force RW, et al. Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:203–11
- [7] Bradford LL, Ravel J, Bruno V." Understanding vulvovaginal candidiasis through a community genomics approach". *Curr Fungal Infec Reports* 2013; 7: 126-131.
- [8] Wei YP, Feng J, Luo ZC." Isolation and genotyping of vaginal non-albicans Candida spp. in women from two different ethnic groups in Lanzhou, China". *Internl Journ Gynaecol Obstet* 010; 110: 227-230.
- [9] Martins HP, da Silva MC, Paiva LC, Svidzinski TI, Consolaro MEL." Efficacy of fluconazole and nystatin in the treatment of vaginal Candida species". *Acta dermato-venereologica* 2012; 92: 78-82.
- [10] Xu J, Sobel JD. Antibiotic-associated vulvovaginal candidiasis. *Curr Infect Dis Rep* 2003;5:481–7.
- [11] Fine JS, Jacobson MS. Single-dose versus conventional therapy of urinary tract infections in female adolescents. *Pediatrics* 1985;75:916 –20.
- [12] Leigh DA, Joy GE, Tait S, Harris K, Walsh B. Treatment of acute uncomplicated urinary tract infections with single daily doses of cefuroxime axetil. *J Antimicrob Chemother* 1989;23:267–73.
- [13] Spinillo A, Capuzzo E, Acciano S, De Santolo A, Zara F. Effect of antibiotic use on the prevalence of symptomatic vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180 14 –7.
- [14] Willmott FE. Genital yeasts in female patients attending a VD clinic. *Br J Vener Dis* 1975;51:119 –24.
- [15] Davis BA. Vaginal moniliasis in private practice. *Obstet Gynecol* 1969;34:40 –5.

- [16] Leegaard M. The incidence of *Candida albicans* in the vagina of “healthy young women.” How often do they have symptoms? Possible etiological factors. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1984;63:85–9.
- [17] Hart G. Factors associated with trichomoniasis, candidiasis and bacterial vaginosis. *Int J STD AIDS* 1993;4:21–5.
- [18] Iravani A, Richard GA. Amoxicillin-clavulanic acid versus cefaclor in the treatment of urinary tract infections and their effects on the urogenital and rectal flora. *Antimicrob Agents Chemother* 1986;29:107.
- [19] Miettinen A, Laine S, Teisala K, Heinonen PK. The effect of ciprofloxacin and doxycycline plus metronidazole on lower genital tract flora in patients with proven pelvic inflammatory disease. *Arch Gynecol Obstet* 1991;249:95–101.
- [20] Rylander E, Berglund AL, Krassny C, Petrini B. Vulvovaginal candida in a young sexually active population: prevalence and association with oro-genital sex and frequent pain at intercourse. *Sex Transm Infect.* 2004;80:54–7.
- [21] Geiger AM, Foxman B. Risk factors for vulvovaginal candidiasis: a case-control study among university students. *Epidemiol* 1996;7:182–7.
- [22] Reed BD. Risk factors for *Candida* vulvovaginitis. *Obstet Gynecol Surv* 1992;47:551–60.
- [23] Patel DA, Gillespie B, Sobel JD, *et al.* Risk factors for recurrent vulvovaginal candidiasis in women receiving maintenance antifungal therapy: results of a prospective cohort study. *Amer Journ Obstet Gynecol* 2004; 190: 644-653.
- [24] Corsello S, Spinillo A, Osnengo G, *et al.* An epidemiological survey of vulvovaginal candidiasis in Italy. *Europ Journl Obstet Gynecol Reproduc Biol* 2003; 110: 66-72.
- [25] Grabe M, Bishop MC, Bjerklund-Johansen TE, Botto H, Çek M, Lobel B, Naber KG, Palou J, Tenke T, Wagenlehner F. Guidelines on Urological Infections, *European Association of Urology*, 2009.
- [26] Solomon D, Nayar R. Bethesda system for cervical–vaginal cytology. *Revinter*, Rio de Janeiro, 2005:67–87.
- [27] Murray, P. R. *Manual of Clinical Microbiology*. 9 ed., Washington, DC: ASM Press, 2007. p. 1004-1020.

- [28] Consolaro MEL, Albertoni TA, Yoshida CS, *et al.* Correlation of *Candida* species and symptoms among patients with vulvovaginal candidiasis in Maringá, Paraná, Brazil". *Rev Iberoam Mic* 2004; 21: 202-205.
- [29] Larone DH. *Medically Important Fungi: A Guide to Identification*, 5 edn. Washington D.C.: ASM Press; 2011.
- [30] Spanu T, Posteraro B, Fiori B, *et al.* Direct maldi-tof mass spectrometry assay of blood culture broths for rapid identification of *Candida* species causing bloodstream infections: an observational study in two large microbiology laboratories". *Journ Clil Microbiol* 2012; 50: 176-179.
- [31] Pascon RC, Bergamo RF, Spinelli RX, *et al.*" Amylolytic microorganism from sao paulo zoo composting: isolation, identification, and amylase production". *Enz Res* 2011; 2011: 679624.
- [32] Holland J, Young OL, Chen SCA: Vulvovaginal carriage of yeasts other than *Candida albicans*. *Sex Transmit Infect* 2003;79:249–250.
- [33] Odds FC. Genital candidosis. *Clin Exp Dermatol* 1982;7:345–54.
- [34] Bluestein D, Rutledge C, Lumsden L. Predicting the occurrence of antibiotic-induced candidal vaginitis (AICV). *Fam Pract Res J* 1991;11:319 –26.
- [35] Tabrizi SN, Pirotta MV, Rudland E, Garland SM. Detection of *Candida* species by PCR in self-collected vaginal swabs of women after taking antibiotics. *Myc* 2006;49:523– 4.
- [36] Beigi RH, Meyn LA, Moore DM, Krohn MA, Hillier SL. Vaginal yeast colonization in nonpregnant women: a longitudinal study. *Obstet Gynecol* 2004; 104 926 –30.
- [37] Menday AP. Symptomatic vaginal candidiasis after pivmecillinam and norfloxacin treatment of acute uncomplicated lower urinary tract infection. *Intern Journ Antimicol Ag*, 2002; 20:4,297–300.
- [38] Klebanoff SJ, Hillier SL, Eschenbach DA, Waltersdorph AM. Control of the microbial flora of the vagina by H₂O₂-generating lactobacilli. *J Infect Dis* 1991; 164:94–100.
- [39] Edlund C, Nord CE. Effect on the human normal microflora of oral antibiotics for treatment of urinary tract infections.. *J Antimicrob Chemother* 2000 Aug;46 Suppl A:41-48.

CAPÍTULO III

CONCLUSÕES

O estudo realizado com 30 mulheres com diagnóstico de infecção urinária e 47 mulheres assintomáticas mostrou que:

- 1) As taxas de isolamento de leveduras nas pacientes tratadas com norfloxacin é estatisticamente igual às pacientes assintomáticas do grupo controle.
- 2) A análise de outros elementos do microambiente vaginal não revelou novas associações de fatores de risco ou proteção.
- 3) As taxas de detecção da presença de lactobacilos foi estatisticamente igual nos dois grupos.
- 4) As taxas de citólise identificável à citologia foi estatisticamente igual nos dois grupos.
- 5) São as maiores taxas de identificação de leveduras através da cultura em comparação à citologia.
- 6) Não houve identificação de leveduras à cultura quando a amostra apresentava positividade para vaginose bacteriana.

Podemos assim concluir que o uso de antibióticos pode não alterar o ambiente vaginal a ponto de aumentar a incidência de candidíase, se for possível individualizar os diversos antibióticos. É necessário que os profissionais clínicos tenham visão mais pormenorizada dos pacientes e dos tratamentos, afim que orientar melhor os pacientes sobre as consequências do uso de antibióticos.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Na mesma linha de pesquisa pretende-se verificar possível aumento de incidência de candidíase vulvovaginal em pacientes com diagnóstico de doença inflamatória pélvica, com indicação de tratamento antibiótico ambulatorial. Pretende-se ainda utilizar métodos moleculares para a detecção de leveduras.

AUTHOR GUIDELINES

Submission

Manuscripts should be submitted by one of the authors of the manuscript through the online Manuscript Tracking System. Regardless of the source of the word-processing tool, only electronic PDF(.pdf) or Word (.doc, .docx, .rtf) files can be submitted through the MTS. There is no page limit. Only online submissions are accepted to facilitate rapid publication and minimize administrative costs. Submissions by anyone other than one of the authors will not be accepted. The submitting author takes responsibility for the paper during submission and peer review. If for some technical reason submission through the MTS is not possible, the author can contact bmri@hindawi.com for support.

Terms of Submission

Papers must be submitted on the understanding that they have not been published elsewhere and are not currently under consideration by another journal published by Hindawi or any other publisher. The submitting author is responsible for ensuring that the article's publication has been approved by all the other coauthors. It is also the authors' responsibility to ensure that the articles emanating from a particular institution are submitted with the approval of the necessary institution. Only an acknowledgment from the editorial office officially establishes the date of receipt. Further correspondence and proofs will be sent to the author(s) before publication unless otherwise indicated. It is a condition of submission of a paper that the authors permit editing of the paper for readability. All enquiries concerning the publication of accepted papers should be addressed to bmri@hindawi.com.

Peer Review

All manuscripts are subject to peer review and are expected to meet standards of academic excellence. Submissions will be considered by an editor and “if not rejected right away” by peer-reviewers, whose identities will remain anonymous to the authors.

Microarray Data Submission

Before publication, the microarray data should be deposited in an appropriate database such as Gene Expression Omnibus (GEO) or Array Express, and an entry name or accession number must be included in the manuscript prior to its publication. Microarray data should be MIAME compliant. During the reviewing process, submitting authors are committed to provide the editor and the reviewers handling his/her manuscript with the login information by which they can access this information in the database.

Article Processing Charges

BioMed Research International is an open access journal. Open access charges allow publishers to make the published material available for free to all interested online visitors. For

more details about the article processing charges of BioMed Research International, please visit the Article Processing Charges information page.

Units of Measurement

Units of measurement should be presented simply and concisely using System International (SI) units.

Title and Authorship Information

The following information should be included: Paper title; Full author names; Full institutional mailing addresses; Email addresses; Home Journals; About Us; Go Hindawi Publishing Corporation; About this Journal Submit a Manuscript Table of Contents; Journal Menu; Impact Factor 2.880.

Abstract

The manuscript should contain an abstract. The abstract should be self-contained and citation-free and should not exceed 200 words.

Introduction

This section should be succinct, with no subheadings.

Materials and Methods

This part should contain sufficient detail so that all procedures can be repeated. It can be divided into subsections if several methods are described.

Results and Discussion

This section may each be divided by subheadings or may be combined.

Conclusions

This should clearly explain the main conclusions of the work highlighting its importance and relevance.

Acknowledgments

All acknowledgments (if any) should be included at the very end of the paper before the references and may include supporting grants, presentations, and so forth.

References

Authors are responsible for ensuring that the information in each reference is complete and accurate. All references must be numbered consecutively and citations of references in text should be identified using numbers in square brackets (e.g., “as discussed by Smith [9]”; “as discussed elsewhere [9, 10]”). All references should be cited within the text; otherwise, these references will be automatically removed.

Preparation of Figures

Upon submission of an article, authors are supposed to include all figures and tables in the PDF file of the manuscript. Figures and tables should not be submitted in separate files. If the article is accepted, authors will be asked to provide the source files of the figures. Each figure should be supplied in a separate electronic file. All figures should be cited in the paper in a consecutive order. Figures should be supplied in either vector art formats (Illustrator, EPS, WMF, FreeHand, CorelDraw, PowerPoint, Excel, etc.) or bitmap formats (Photoshop, TIFF, GIF, JPEG, etc.). Bitmap images should be of 300 dpi resolution at least unless the resolution is intentionally set to a lower level for scientific reasons. If a bitmap image has labels, the image and labels should be embedded in separate layers.

Preparation of Tables

Tables should be cited consecutively in the text. Every table must have a descriptive title and if numerical measurements are given, the units should be included in the column heading. Vertical rules should not be used.

Proofs

Corrected proofs must be returned to the publisher within 2-3 days of receipt. The publisher will do everything possible to ensure prompt publication. It will therefore be appreciated if the manuscripts and figures conform from the outset to the style of the journal.

Copyright

Open Access authors retain the copyrights of their papers, and all open access articles are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided that the original work is properly cited. The use of general descriptive names, trade names, trademarks, and so forth in this publication, even if not specifically identified, does not imply that these names are not protected by the relevant laws and regulations. While the advice and information in this journal are believed to be true and accurate on the date of its going to press, neither the authors, the editors, nor the publisher can accept any legal responsibility for any errors or omissions that may be made. The publisher makes no warranty, express or implied, with respect to the material contained herein.

Disclosure Policy

A competing interest exists when professional judgment concerning the validity of research is influenced by a secondary interest, such as financial gain. We require that our authors reveal any possible conflict of interests in their submitted manuscripts. If there is no conflict of interests, authors should state that “The author(s) declare(s) that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.”

Clinical Study

When publishing clinical studies, Hindawi aims to comply with the recommendations of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) on trials registration. Therefore, authors are requested to register the clinical trial presented in the manuscript in a public trials registry and include the trial registration number at the end of the abstract. Trials initiated after July 1, 2005 must be registered prospectively before patient recruitment has begun. For trials initiated before July 1, 2005, the trial must be registered before submission.

Ethical Guidelines

In any studies that involve experiments on human or animal subjects, the following ethical guidelines must be observed. For any human experiments, all work must be conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (1964). Papers describing experimental work on human subjects who carry a risk of harm must include a statement that the experiment was

conducted with the understanding and the consent of the human subject, as well as a statement that the responsible Ethical Committee has approved the experiments. In the case of any animal experiments, the authors should provide a full description of any anesthetic and surgical procedure used, as well as evidence that all possible steps were taken to avoid animal suffering at each stage of the experiment.