

MINERVA

GINECOLOGICA

VOL. 62 · SUPPL. I · N. 6 · DICEMBRE 2010

LA SFIDA TERAPEUTICA DELLE CANDIDOSI VULVOVAGINALI RICORRENTI

A. GRAZIOTTIN, F. MURINA



EDIZIONI · MINERVA · MEDICA

MINERVA GINECOLOGICA

RIVISTA BIMESTRALE, FONDATA NEL 1949 DA T. OLIARO
continuazione di FOLIA GYNAECOLOGICA, LA GINECOLOGIA,
AGGIORNAMENTI IN OSTETRICIA E GINECOLOGIA
ORGANO UFFICIALE DELLA SOCIETÀ PIEMONTESE E VALDOSTANA
DI OSTETRICIA E GINECOLOGIA

CONSIGLIO DIRETTIVO

R. Angioli - G. Benagiano - A. Cagnacci - M. Conti - V. De Leo - G. C. Di Renzo - V. Feyles
M. Filicori - L. Gagliardi - F. Ghezzi - S. Mancuso - C. Mangioni - M. Massobrio - M. Moscarini - C. Nappi
L. Selvaggi - P. Sismondi - P. Vercellini - A. Volpe - P. Zola

DIRETTORE RESPONSABILE

A. Oliaro



This journal is PEER REVIEWED and is quoted in: *Index Medicus/Medline, EMBASE/Excerpta Medica*

Direzione, redazione, ufficio grafico, ufficio pubblicità, fotocomposizione, amministrazione - Edizioni Minerva Medica - Corso Bramante 83-85 - 10126 Torino
Tel. 011 678282 - Fax 011 674502 - E-mail: minervamedica@minervamedica.it

Web Site: www.minervamedica.it

Stampa - Edizioni Minerva Medica - Tipografia di Saluzzo - Corso IV Novembre 29-31 - 12037 Saluzzo (CN) - Tel. 0175 249405 - Fax 0175 249407

Abbonamento annuo:

Italia - *Individuale*: Cartaceo € 100,00, Cartaceo+Online € 105,00; *Istituzionale*: Cartaceo € 135,00, Online (Small € 245,00, Medium € 275,00, Large € 320,00, Extra Large € 335,00), Cartaceo+Online (Small € 255,00, Medium € 290,00, Large € 335,00, Extra Large € 350,00); il fascicolo € 25,00.

Unione Europea - *Individuale*: Cartaceo € 175,00, Cartaceo+Online € 185,00; *Istituzionale*: Cartaceo € 240,00, Online (Small € 245,00, Medium € 275,00, Large € 320,00, Extra Large € 335,00), Cartaceo+Online (Small € 255,00, Medium € 290,00, Large € 335,00, Extra Large € 350,00); il fascicolo € 45,00.

Paesi extraeuropei - *Individuale*: Cartaceo € 195,00, Cartaceo+Online € 205,00; *Istituzionale*: Cartaceo € 265,00, Online (Small € 270,00, Medium € 305,00, Large € 355,00, Extra Large € 370,00), Cartaceo+Online (Small € 280,00, Medium € 320,00, Large € 370,00, Extra Large € 385,00); il fascicolo € 50,00.

Gli abbonati possono utilizzare le seguenti forme di pagamento: a) assegno bancario; b) bonifico bancario a: Edizioni Minerva Medica, INTESA SANPAOLO Agenzia n. 18 Torino. IBAN: IT45 K030 6909 2191 0000 0002 917 c) conto corrente postale 00279109 intestato a Edizioni Minerva Medica, Corso Bramante 83-85, 10126 Torino; d) carte di credito Diners Club International, Master Card, VISA, American Express.

I cambi di indirizzo di spedizione, e-mail o di qualsiasi altro dato di abbonamento vanno segnalati tempestivamente inviando i nuovi e vecchi dati per posta, fax, e-mail o direttamente sul sito www.minervamedica.it alla sezione "I tuoi abbonamenti - Contatta ufficio abbonamenti". I reclami per i fascicoli mancanti devono pervenire entro 6 mesi dalla data di pubblicazione del fascicolo. I prezzi dei fascicoli e delle annate arretrati sono disponibili su richiesta.

© Edizioni Minerva Medica - Torino 2010

Tutti i diritti sono riservati. Nessuna parte di questa pubblicazione può essere riprodotta, trasmessa e memorizzata in qualsiasi forma e con qualsiasi mezzo. Pubblicazione bimestrale. Autorizzazione del Tribunale di Torino n. 279 del 2-7-1948. Iscrizione nel registro nazionale della stampa di cui alla legge 5-8-1981 n. 416 art. 11 con il numero 00 148 vol. 2 foglio 377 in data 18-8-1982. Pubblicazione periodica bimestrale - Poste Italiane S.p.A. - Sped. in a.p. - D. L. 353/2003 (conv. in L. 27/02/2004 N° 46) art. 1, comma 1, DCB/CN

Associata a



La Rivista aderisce al Codice di Autodisciplina degli Editori Medico Scientifici, associati a FARMAMEDIA e può essere oggetto di pianificazione pubblicitaria

Associata a

A.N.E.S.

Associazione Nazionale Editoria Specializzata

Studio grafico della copertina: Eleonora Garosci

La sfida terapeutica delle candidosi vulvovaginali ricorrenti

A. GRAZIOTTIN¹, F. MURINA²

THE THERAPEUTIC CHALLENGE OF RECURRENT VULVOVAGINAL CANDIDIASIS

Recurrent vulvovaginal candidiasis (RVVC) is a growing challenge in clinical practice gynecology. Candida has a twofold pathogenic action: it can induce an immunosuppressive action by acting at "high levels" (acute) or it can create a hypersensitivity reaction acting in "small proportion" in individuals genetically predisposed (RVVC), configuring the disease as an allergic dermatitis. RVVC therapy provides a long-term antifungal prophylaxis (6-12 months). Fluconazole was effective in pursuing that target, even for its low incidence of side effects (1-2%). The individualized treatment with decreasing doses of fluconazole reported a lower recurrence rate than the rigid weekly protocol adopted continuously for 6 months. In this review, current therapies for management of RVVC are discussed. Potential target areas which may be attractive alternatives to current pathogenesis are also reviewed.

Key words: Candidiasis - Candidiasis, vulvo-vaginal - Fluconazole.

La candidiasi vulvovaginale ricorrente costituisce una sfida crescente nella pratica clinica ginecologica.

Obiettivo del lavoro è effettuare una review pragmatica della letteratura per offrire al col-

¹*Centro di Ginecologia
Ospedale San Raffaele Resnati, Milano, Italia*
²*Servizio di Patologia Vulvare
Ospedale V. Buzzi, Milano, Italia*

lega una sintesi ragionata dell'approccio più efficace per la prevenzione e la cura delle candidiasi recidivanti.

Epidemiologia

Il 70-75% circa delle donne, in particolare in età fertile, sperimenta almeno una volta nella propria vita un'infezione vulvo-vaginale da Candida e il 40-50% di queste va incontro a una recidiva¹. Il 28,1% delle adolescenti che si rivolge agli ambulatori pubblici italiani per una visita ginecologica ha una vulvovaginite da candida².

La Candida è un germe che normalmente colonizza la vagina, tanto che è possibile isolarlo fino al 20% degli esami colturali vaginali di donne asintomatiche³.

Il 20% circa delle infezioni acute evolve in una forma di vulvo-vaginite da Candida ricorrente (RVVC), caratterizzata da quattro o più episodi in un anno⁴.

Negli Stati Uniti si è stimato che annualmente vengono spesi circa 275 milioni di dollari in farmaci antimicotici⁵. Tenendo conto dei costi per visite mediche, terapie e il tem-

Autore di contatto: F. Murina, Servizio di Patologia Vulvare, Ospedale V. Buzzi, Milano, Italia. E-mail: filippomurina@tin.it

po perso dal lavoro, Foxman *et al.* hanno considerato che negli Stati Uniti in un anno vengono spesi oltre 1,8 miliardi di dollari per la gestione dell'infezione vulvo-vaginale da Candida ⁶.

La maggior parte delle infezioni sono caratterizzate dalla *Candida albicans*, isolata nell'85-95% degli esami colturali ¹; varianti meno frequenti di Candida sono associate a infezioni in particolari sottopopolazioni di pazienti. Nelle donne diabetiche la *Candida glabrata* e *tropicalis* sono presenti in quantità significativamente più elevate rispetto alle donne non diabetiche.

La *Candida glabrata* è stata diagnosticata nel 54% delle diabetiche *versus* il 22,6% delle donne non diabetiche ⁷. Queste specie sono responsabili di maggiori resistenze alla terapia antimicotica e di recidive più frequenti, specie se il controllo glicemico è inadeguato.

Patogenesi

La Candida raggiunge il lume vaginale prevalentemente attraverso l'area perianale ⁸. Qui tende a colonizzarsi caratterizzando una fase avirulenta come commensale vaginale.

Moltissime donne presentano la Candida in vagina nell'arco della vita, sebbene senza sintomi e segni di vaginite e generalmente a bassa concentrazione del micete ⁹.

La colonizzazione richiede l'adesione alle cellule dell'epitelio vaginale; l'infezione si realizza quando l'adesione si trasforma in penetrazione e invasione nel rivestimento della vagina, mediante il rilascio di enzimi proteolitici e tossine ¹⁰.

L'intestino può essere considerato una delle principali fonti di colonizzazione della Candida in vagina, sebbene il suo esatto ruolo nelle forme ricorrenti sia ancora oggetto di discussione.

La Candida isolata da colture rettali in pazienti con RVVC si è rivelata identica a quella ritrovata in sede vaginale, suggerendo che esista un persistente reservoir intestinale del micete ¹¹.

L'alto tasso di positività di colture anoret-

tali per candida è stato correlato alla contaminazione perianale di secrezioni vaginali ¹².

È possibile una trasmissione sessuale della Candida anche attraverso il contatto oro-genitale, anche se la sua rilevanza è ancora dibattuta in particolare per le forme di RVVC.

La colonizzazione asintomatica da Candida dei genitali maschili è quattro volte più comune nei partner sessuali di donne infette rispetto a quelle che non lo sono ¹².

In particolare si è dimostrata una stretta associazione tra il sesso orogenitale e l'infezione da Candida, ciò legato in particolare al fatto che oltre un terzo della popolazione adulta presenta la Candida quale commensale della cavità orale; inoltre si è ipotizzato che la saliva contribuisca alla crescita del micete in sede vulvare attraverso un processo di concentrazione e irritazione ^{13, 14}.

Ciononostante si è evidenziato che trattare il partner maschile delle donne affette da RVVC non riduce la frequenza e la ricorrenza degli episodi di vulvo-vaginite ⁵.

La Candida si comporta pertanto come un fungo opportunisto capace di colonizzare in modo stabile la mucosa vulvare e vaginale, stimolando l'immunità di mucosa senza sintomi o segni di malattia. Si tratta dunque di un commensalismo che possiamo definire come un equilibrio dinamico tra le caratteristiche aggressive del fungo e l'immunosorveglianza attiva dell'ospite ¹⁵.

Come avviene la transizione a candidiasi sintomatica?

La transizione da colonizzazione asintomatica a candidiasi sintomatica può avvenire essenzialmente per due fenomeni: l'alterazione dei meccanismi di difesa dell'ospite e l'aumentata aggressività/virulenza del germe.

Le condizioni possono interagire influenzandosi in modo sinergico nello scatenamento e mantenimento della condizione patologica.

MECCANISMI DI DIFESA DELL'OSPITE

Numerosi fattori umorali e cellulari sono stati oggetto di particolare attenzione, uno di que-

sti è la lectina legante il mannosio (MBL) ²⁰.

L'MBL è una proteina che svolge un ruolo importante nell'immunità ereditaria, e appartiene alla classe delle collectine, superfamiglia della lectina di tipo C, la cui funzione è il riconoscimento nei meccanismi immediati di difesa dell'ospite. La MBL riconosce i diversi carboidrati presenti sulla superficie di numerosi microrganismi patogeni, in particolare della *Candida albicans*.

La rilevanza dell'MBL si deduce dal riscontro in percentuale considerevole nelle pazienti con RVVC di un polimorfismo genico per la produzione della proteina, esponendo la donna alla ridotta capacità ad arginare la colonizzazione/infezione da *Candida* ²⁰.

La MBL si lega alle cellule della candida, e questo è considerato un meccanismo di protezione della donna dallo sviluppo dell'infezione micotica. Il polimorfismo del gene dell'MBL comporta un malfunzionamento della proteina che risulta inefficiente nel meccanismo di clearance del micete.

Ulteriori fattori di immunità umorale sono rappresentati da alcune proteine quali la lattoferrina o le defensine, peptidi cationici ad azione antimicrobica ²¹.

Un rilevante ruolo difensivo antimicrobico è legato alle cellule dell'epitelio vaginale; queste cellule non svolgono solo un meccanismo di barriera ma hanno anche un'azione di riconoscimento antigenico e di secrezione di numerosi immuno-mediatori che regolano la risposta immunitaria vaginale ²².

In particolare le cellule epiteliali vaginali hanno una specifica attività anti-*Candida* che si è dimostrata essere inferiore nei soggetti con RVVC ²³.

L'immunità anticorpale non è ritenuta essere di particolare rilevanza quale meccanismo di difesa nei confronti dell'infezione vulvo vaginale da *Candida*; paradossalmente si è evidenziato un elevato titolo di Ig E ,anticorpi peculiari delle reazioni atopiche, nelle donne con RVVC. Questi anticorpi amplificano il processo infiammatorio e provocatorio della sintomatologia pruriginosa ²⁴.

La risposta linfocitaria all'aggressione da *Candida* è ancora controversa. Si ipotizza un ruolo di protezione dei Linfociti-Th1, mentre quelli Th-2 avrebbero un'azione facilitante

TABELLA I.—*Classificazione delle candidosi vulvovaginali.*

Non-complicate

Sporadiche con sintomi lievi o moderati
Sospetta infezione da *Candida albicans*
Donne senza altre patologie e non in gravidanza

Complicate

Ricorrenti (almeno 4 episodi/anno)
Sintomi severi
Sospetta infezione da *Candida non-albicans*
Diabete, immunodeficienza o gravidanza

Da Center for Disease Control and Prevention-Sexual Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2006.

TABELLA II.—*Classificazione delle candidosi vulvovaginali.*

Acuta

Recidive occasionali
Sintomatologia medio-intensa
Diabete, immunodeficienza o gravidanza

Ciclico-ricorrente

Ricorrente (spesso recidive mensili)
Sintomi non particolarmente intensi
Spesso non fattori scatenanti identificabili
Importante fattore ormonale

l'aggressione micotica ²⁵.

AUMENTATA AGGRESSIVITÀ/VIRULENZA DEL GERME

Fattori di virulenza sono espressi alla superficie del fungo ed hanno un ruolo attivo nell'infezione. In particolare, enzimi della famiglia delle aspartico-proteinasi secrete e un numero di adesine di natura proteica e/o glicoproteina hanno un ruolo chiave nell'adesione alle cellule della mucosa vaginale (o intestinale), prerequisito per la citotossicità successiva. La virulenza è espressa anche dalla capacità della *Candida* di formare ife che non solo costituiscono la forma attiva ma hanno anche la potenziale capacità di sottrarsi alle difese immunitarie (*immunoescape properties*) ¹⁵.

La classificazione adottata ad oggi identifica forme di candidosi vulvo-vaginali non-complicate e complicate, inserendo in queste ultime quelle con sintomatologia severa, ricorrenti o che insorgono in particolari condizioni favorevoli (Tabella I).

La divisione in forme complicate e non complicate non tiene però conto di alcuni

elementi patogenetici di recente introduzione riguardanti il comportamento vulvovaginale della Candida, che consentono di delineare modelli diversi e innovativi di malattia.

In tale ottica possiamo identificare due malattie diverse coinvolgenti la candida in sede vulvovaginale: una forma acuta con eventuali recidive occasionali e una forma ciclica con frequenti recidive a cadenza circa mensile (RVVC) (Tabella II).

Candidiasi: forma acuta.—La sintomatologia pruriginosa è sovente a rapida insorgenza, particolarmente intensa con eritema ed edema dei genitali esterni, accompagnato talora da una fine desquamazione epiteliale con elementi micro-follicolari periferici. Si possono associare bruciore e dispareunia superficiale, come pure una disuria post-minzionale legata al bruciore generato dal passaggio delle urine sui tessuti vulvari infiammati. Le secrezioni vaginali possono essere dense con un caratteristico aspetto di tipo caseoso. Il prurito e la leucorrea sono elementi tipici della forma acuta di vulvovaginite micotica, malgrado ciò questi non devono essere considerati elementi specifici e sufficienti a porre diagnosi di infezione da Candida; in particolare il prurito è un criterio predittivo dell'infezione solo nel 38% delle pazienti ²⁶.

La forma acuta di vulvovaginite da candida è legata sia a un eccesso di crescita del micete, sia a un incremento della sua aggressività.

Alla base di questo processo si evidenzia un meccanismo di immunosoppressione.

La *Candida albicans* può stimolare i recettori toll-like di tipo 2, implicati nei meccanismi di difesa dai microrganismi, provocando un up-regulation dell'interleukina (IL)-10 e dei linfociti-T CD4⁺ CD25⁺. Elemento conclusivo della perturbazione di questo bilancio regolatore è una soppressione dei meccanismi di risposta immune alla *Candida albicans* ²⁷.

La forma acuta di vulvovaginite micotica può presentare una recidiva occasionale, ossia sporadica e comunque mai superiore a quattro episodi nell'arco dell'anno. Gli episodi rivestono caratteristiche sovrapponibili agli episodi acuti, e presentano elementi scate-

nanti ben identificabili.

Tra questi il diabete mellito, la gravidanza, l'assunzione di antibiotici o condizioni di immunodepressione congenita o acquisita, sono i più rappresentati, accomunati da condizioni che modificano in modo rilevante i meccanismi di difesa dell'ospite.

In gravidanza si evidenzia un'elevata prevalenza di vaginiti sintomatiche da Candida, inoltre le recidive sono più comuni rispetto alle donne non gravide ¹⁶.

L'alta concentrazione di ormoni sessuali che incrementa il contenuto di glicogeno nelle cellule vaginali garantisce una fonte di carbonio per la Candida.

Gli estrogeni hanno anche la peculiarità di favorire l'adesione del micete alle cellule epiteliali della vagina ¹⁷.

Una vulvovaginite da Candida è spesso sequela dell'uso di antibiotici locali o sistemici, senza che vi sia un'apparente differenza riguardo la scelta del principio attivo ¹⁸. Gli antibiotici predispongono la donna alla candidosi vulvovaginale attraverso una drastica riduzione della flora batterica protettiva vaginale, lattobacilli in primis, consentendo alla Candida di proliferare sia in vagina che nell'intestino ¹⁹.

Uno studio controllato conferma che una cura antibiotica di soli tre giorni triplica il rischio di Candida (OR=3,33) ³⁷.

Altre ricerche indicano che il rischio di sviluppare una candidiasi sintomatica dopo un singolo trattamento antibiotico è del 32% ³⁸.

Vulvovaginite ciclico-ricorrente (RVVC).—Nella RVVC la sintomatologia pruriginosa è sempre elemento di primo piano, anche se meno eclatante ma non per questo meno frustrante e debilitante.

Il bruciore e la dispareunia rivestono maggior importanza anche per un'obiettività differente rispetto alle candidosi vulvovaginali acute.

Il quadro clinico può essere rappresentato da un eritema diffuso del vestibolo vaginale, piccole labbra e solco interlabiale, con erosioni confluenti nelle piccole labbra, microvescicolazioni delimitate da un "orletto" biancastro, parzialmente desquamante, lateralmente al confine con le grandi labbra. La leucorrea, quando presente, non è particolarmente abbondante ed è acquosa o fine-

mente densa ed omogenea. È appena evidenziabile all'introito vaginale.

Talora l'unico elemento obiettivo è confinato ad un eritema, aspecifico, in particolare in corrispondenza del solco interlabiale.

Numerosi sono gli elementi che oggi possono far definire la RVVC come una dermatite allergico-irritativa conseguente a una reattività a piccole quote di *Candida albicans* in soggetti geneticamente predisposti. La suscettibilità individuale è conseguente a un polimorfismo genico che coinvolge il sistema delle interleuchine, sostanze endogene deputate al controllo e regolazione dell'infiammazione, in questo caso a genesi micotica. In aggiunta a possibili alterazioni strutturali della già descritta MBL²⁰, si è dimostrato in un elevato numero di pazienti con RVVC un deficit costitutivo degli inflammasomi di tipo NALP3²⁸.

Gli inflammasomi sono macromolecole che regolano la produzione e il rilascio dell'interleuchina (IL) 1 β ; un polimorfismo del gene CIAS1 che codifica un inflammosoma NALP3 alterato, induce la produzione di una IL 1 β "sregolata".

La Candida ha una duplice possibilità di azione patogenetica: indurre un'azione immunosoppressiva agendo in elevate quantità (forma acuta) o creare una reazione da ipersensibilità agendo in "piccola quota" in soggetti geneticamente predisposti (RVVC).

Le seguenti evidenze supportano questa interessante teoria:

- un numero elevato di pazienti con RVVC presentano patch test positivi per antigeni di *Candida albicans* solo quando questi vengono applicati a basse dosi²⁹;

- nelle donne con RVVC, rispetto ai controlli sani, sono stati rilevati livelli significativamente maggiori di interleuchina 4 (IL-4) ($P < 0,0001$), di prostaglandina E2 (PgE2, e di IgE Candida specifiche³⁰. In particolare, gli elevati livelli di PgE2 indicherebbero una risposta allergica localizzata ad alcune componenti della Candida;

- associazione della RVVC ad altre patologie allergiche (es., rinite allergica)³¹;

- le manifestazioni cliniche della RVVC sono tipiche delle malattie allergiche quali la dermatite atopica, dove le lesioni domi-

nanti sono l'eritema, la microvescicolazione a rapida evoluzione erosiva, e la sintomatologia dominante è rappresentata dal prurito.

Nelle RVVC si può pertanto introdurre il concetto del *cut-off vaginale* di Candida, ossia la minima quota di fungo al di sopra della quale viene innescato un processo di tipo allergico che giustifica gli episodi cicloricorrenti di candidosi vulvovaginale.

Questo piccolo quantitativo di micete è variabile nei soggetti con RVVC in relazione a caratteristiche di suscettibilità individuale.

ESTROGENI E CANDIDA RECIDIVANTE.—Tipicamente la RVVC non presenta particolari elementi scatenanti, come accade nelle recidive occasionali alle forme di candidosi acuta, ma la frequente insorgenza di episodi in fase premenstruale come pure una prevalenza della patologia in donne in età fertile, suggerisce una rilevanza del fattore ormonale.

Gli estrogeni, in particolare, hanno un ruolo permissivo sul passaggio da spora a ifa, come dimostrato dall'esplosione di infezioni da Candida dopo la pubertà e dalle loro recidive, in post-menopausa, quando si inizia la terapia ormonale sostitutiva, anche locale, in soggetti predisposti e/o che avevano avuto una RVVC in età fertile³².

Gli estrogeni possono agire sulla recettività della donna e/o sull'aggressività della Candida stessa.

In particolare, alcuni studi hanno dimostrato come l'aggiunta di 17-beta-estradiolo o etinil-estradiolo a colture di cellule di Candida aumenti nettamente il passaggio da spora a ifa attiva, in forma dose dipendente ma anche ceppo (di Candida) dipendente.

L'estriolo o il 17-alfa-estradiolo non sembrano invece avere questa azione permissiva specifica³². A rafforzare il ruolo degli estrogeni è l'osservazione di livelli di progesterone più bassi nelle donne con RVVC rispetto ai controlli³³.

L'effetto dei contraccettivi orali nella RVVC è ancora discusso; alcuni studi hanno indicato un incremento di colonizzazione di candida a seguito dell'uso di preparati a elevato contenuto estrogenico, mentre altri hanno evidenziato risultati contraddittori riguardo preparati a basso contenuto di estrogeni^{34, 35}.

Interessante è l'osservazione che dispositivi contraccettivi intravaginali a rilascio graduale di ormoni vengano colonizzati in modo rilevante dalla *Candida albicans* che aderisce tenacemente alla superficie del dispositivo ³⁶.

Diagnosi di vulvovaginite micotica

Come già descritto la sintomatologia pruriginosa non è elemento sufficiente a porre diagnosi di vulvovaginite da Candida; ciò può indurre a una ricorrente automedicazione, oppure a un trattamento empirico a distanza da parte del medico con risultati che possono essere parziali o insoddisfacenti ³⁹.

L'esame al microscopio ottico di minime quantità di secreto diluite in idrossido di potassio al 10% è una metodica semplice e rapida che consente di confermare la diagnosi in donne con sintomatologia ed obiettività suggestiva per un'infezione vulvovaginale da Candida; l'evidenza di pseudoife e di miceli rappresentano elemento patognomnico.

Molto utile è una valutazione del pH vaginale; il suo valore nella vulvo-vaginite da Candida è intorno a 4,-4,5, mentre un suo viraggio oltre il 5 identifica, di norma, una vaginosi batterica, una tricomoniasi oppure un'infezione mista.

L'esame colturale, spesso abusato, è sovente poco utile nonché in taluni casi fuorviante.

Questi risulta positivo solo in un terzo (29,8%) delle donne con sintomi tipici di candidiasi vulvovaginale in particolare nelle donne con RVVC, contro il 42,3% di positività, nelle stesse donne, al test della polimerasi che va a valutare la presenza del DNA della Candida ³⁰. Inoltre, fino al 20% delle donne asintomatiche sono colonizzate dalla Candida e quindi hanno una coltura positiva ⁴⁰.

In definitiva nelle candidosi vulvovaginali acute l'esame colturale non è da considerare obbligatorio, in quanto l'associazione di elementi clinici, una valutazione con esame a fresco e la misurazione del pH sono sufficienti a porre una corretta diagnosi. Nelle RVVC lo è ancor di meno in quanto la Candida agisce in piccola quota scatenando

un fenomeno immuno-allergico, e quindi spesso la sua evidenza sfugge all'esame.

L'esame colturale deve essere considerato in particolari forme persistenti in talune categorie a rischio, quali ad esempio le pazienti diabetiche. In questo caso, forme di *Candida non-albicans* possono esser responsabili dei sintomi, senza comunque dimenticare che la frequenza di *Candida glabrata* e *tropicalis* non è superiore al 5-10%.

La RVVC può essere diagnosticata da un'integrazione dei seguenti elementi:

- crisi di prurito, bruciore e dispareunia ad andamento ciclico (circa mensile) e recidivante (≥ 4 episodi annuali);

- obiettività caratterizzata da eritema, erosioni e/o ulcerazioni, desquamazione periferica a sede vestibolare, piccole labbra, con particolare interessamento del solco interlabiale;

- pH vaginale intorno 4-4,5;

- esame a fresco con evidenza di pseudoife e miceli.

La corretta gestione dell'infezione vulvovaginale da Candida è di fondamentale importanza, sia per il disagio che la malattia, può dare sia per le possibili complicanze che si possono verificare.

Le forme di RVVC, in particolare, possono incidere negativamente sulla sicurezza personale e sull'autostima del soggetto affetto, con problematiche di tipo psicosessuale e imbarazzo nella comunicazione dei disturbi che caratterizzano tale infezione sia al medico sia al partner ⁴¹.

Tale difficoltà viene incrementata dal fatto che spesso la RVVC, se non estremamente sintomatica, viene misconosciuta o sottovalutata, e, quindi, non adeguatamente trattata.

Candida recidivante e vulvodinia

La principale e più temibile complicanza della RVVC è definita vulvodinia.

La vulvodinia è il termine utilizzato per descrivere una sensazione dolorosa cronica che interessa la regione vulvare caratterizzata da un fastidio vulvare spesso descritto come bruciore, dolore o dispareunia, in assenza di alterazioni obiettive visibili di un qualche rilievo o di specifici disturbi neuro-

logici clinicamente identificabili, della durata di almeno tre mesi ⁴².

Le cause della vulvodinia non sono pienamente note; la teoria prevalente identifica la malattia come una sindrome di dolore neuropatico con elementi riferibili a un processo di sensibilizzazione del sistema nervoso centrale che coinvolge le terminazioni del nervo pudendo in sede vulvo-vestibolare ⁴³.

Molte donne con vestibolodinia (vestibulite vulvare), la variante più frequente di vulvodinia con localizzazione al vestibolo vaginale, presentano in anamnesi episodi ricorrenti di vulvite da Candida; inoltre molte delle alterazioni genetiche (polimorfismi genici) sono comuni alle due condizioni ⁴³.

L'esame obiettivo dovrà ricercare, inoltre, l'eventuale iperattività del muscolo elevatore dell'ano (o ipertonio) associata spesso a dolore alla penetrazione ("dispareunia introitale"), e a microerosioni della mucosa che facilitano l'iperattività del mastocita e il conseguente svilupparsi della parallela vestibolodinia (vestibulite vulvare), associata o conseguente alla Candida ⁴⁴.

La RVVC è pertanto fattore predisponente alla cascata di eventi che possono condurre alla vulvodinia.

Terapia

I derivati azolici e triazolici rappresentano il trattamento di scelta delle vulvovaginiti da Candida. Numerosi azoli topici sono disponibili con differente possibilità di somministrazione; questi sono sicuri e generalmente ben tollerati, anche se talora possono dare bruciore conseguente a un'azione irritativa degli eccipienti veicolanti il principio attivo.

Le linee guida della Infectious Disease Society of America (IDSA) raccomandano gli azolici topici come trattamento di prima linea per la gestione delle infezioni vulvovaginali acute da Candida consentendo una risoluzione sintomatologica nel 90% dei casi, anche quando si trattino le recidive occasionali ⁴⁵.

Non esistono evidenze di superiorità di una formulazione antimicotica topica rispetto ad un'altra, come pure di un particolare principio attivo ⁴⁶.

Una metanalisi di 17 studi ha evidenziato una simile efficacia dei preparati orali rispetto a quelli topici nel trattamento delle vulvovaginiti candidosiche acute ⁴⁷.

La scelta di preparati orali può essere privilegiata grazie all'utilizzo di principi attivi altamente tollerabili (fluconazolo e itraconazolo) rispetto a preparati di vecchia generazione quali il ketonazolo. Questi inoltre posseggono una maggior compliance, correlata anche alla prevenzione dell'effetto irritativo a volte evidenziabile con l'uso di creme od ovuli vaginali.

Una terapia in singola dose è oggi considerata di prima scelta nelle forme vulvovaginali acute di lieve o media gravità ⁴⁸.

In quadri severi o con recidive sporadiche una dose ripetuta di farmaco a breve termine dopo 3 giorni (*short therapy*) consente di ottenere gli stessi risultati di una terapia di maggior durata (7-10 giorni) ⁴⁹.

In questi casi alcun prodotto si sono dimostrati particolarmente utili grazie a peculiari proprietà di tipo farmacocinetico e farmacodinamico.

Il sertaconazolo e il fenticonazolo in ovuli posseggono una bioadesività vaginale che li rende simili a un prodotto depot, in particolare il sertaconazolo presenta spiccata attività anti-infiammatoria utile a ridurre la sintomatologia pruriginosa ⁵⁰.

Il fluconazolo in dose da 150 o 200 mg ha dimostrato un'elevata biodisponibilità, con livelli vaginali terapeutici elevati anche dopo cinque giorni dopo una singola somministrazione ⁵¹.

Terapia delle RVVC

La gestione terapeutica delle RVVC risulta più complessa soprattutto per i particolari meccanismi patogenetici che la generano. Si deve costruire un programma di cura che non deve essere unicamente finalizzato alla pronta risoluzione delle frequenti recidive, ma deve caratterizzarsi per un riequilibrio delle alterazioni da ipersensibilità tipiche della malattia.

Diversi regimi di trattamento e di profilassi contro la RVVC sono stati sperimentati, ma il tasso di recidive durante e dopo le cure si

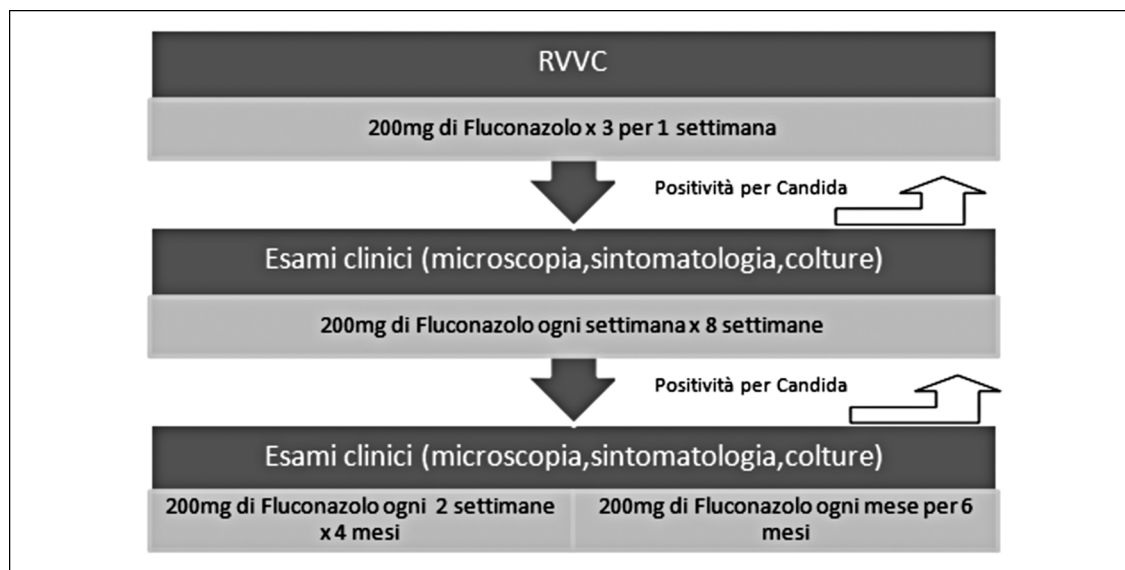


Figura 1. — Schema del management delle RVVC previsto dal ReCiDif trial ⁵³.

è dimostrato elevato.

È stata utilizzato il fluconazolo alla dose di 150 in profilassi settimanale per sei mesi in un importante trial randomizzato con placebo ⁵². Questo regime di trattamento si è dimostrato altamente efficace e molto ben tollerato (incidenza di effetti collaterali dell'1-2%), inducendo una remissione della malattia nel 90% delle donne nei sei mesi di assunzione del farmaco.

Alla sospensione della terapia purtroppo circa il 60% delle pazienti ha riportato una recidiva del problema.

Un trial belga, denominato ReCiDif ha proposto e sperimentato un nuovo protocollo con dosi individualizzate e decrescenti di fluconazolo ⁵³.

Il trattamento si è sviluppato in diversi step: dopo una fase d'induzione con assunzione di 200 mg di fluconazolo tre volte la settimana a giorni alterni per una settimana, si è fatta seguire una fase di mantenimento della durata di un anno costituita da tre step in cui venivano somministrate dosi sempre minori di farmaco (Figura 1).

Le pazienti che presentavano ricadute cliniche riprendevano di nuovo la dose di induzione e continuavano il regime allo stesso livello. Lo schema proposto ha ottenuto

l'assenza di recidive nel 90% delle donne dopo sei mesi, e nel 70% dopo un anno.

Le pazienti restanti, definite responders subottimali o non-responder, presentavano malattie più lunghe e più severe rispetto alle responder ottimali.

Sia lo studio di Sobel *et al.* come pure il ReCiDif trial hanno introdotto alcuni elementi importanti nella terapia della RVVC:

— la cura della RVVC prevede una profilassi antimicotica di lunga durata (6-12 mesi);

— il fluconazolo è efficace a perseguire tale scopo, inoltre è caratterizzato da una bassa incidenza di effetti collaterali (1-2%) per lo più di lieve entità, in particolare a livello gastrointestinale (nausea, diarrea);

— la dose di fluconazolo seppur differente in relazione alla singola somministrazione nei due studi (Sobel *et al.*: 150 mg-ReCiDif trial: 200mg) è stata simile quando esaminata in quantità cumulative globali (Sobel *et al.*: 3.9 g-ReCiDif trial: 4 g);

— il trattamento individualizzato con regime di dosi decrescenti di fluconazolo (ReCiDif trial) ha riportato un minor tasso di recidive rispetto al protocollo rigido settimanale adottato in modo continuativo per sei mesi (Sobel *et al.*)

Elemento cardine, a nostro avviso, è il man-

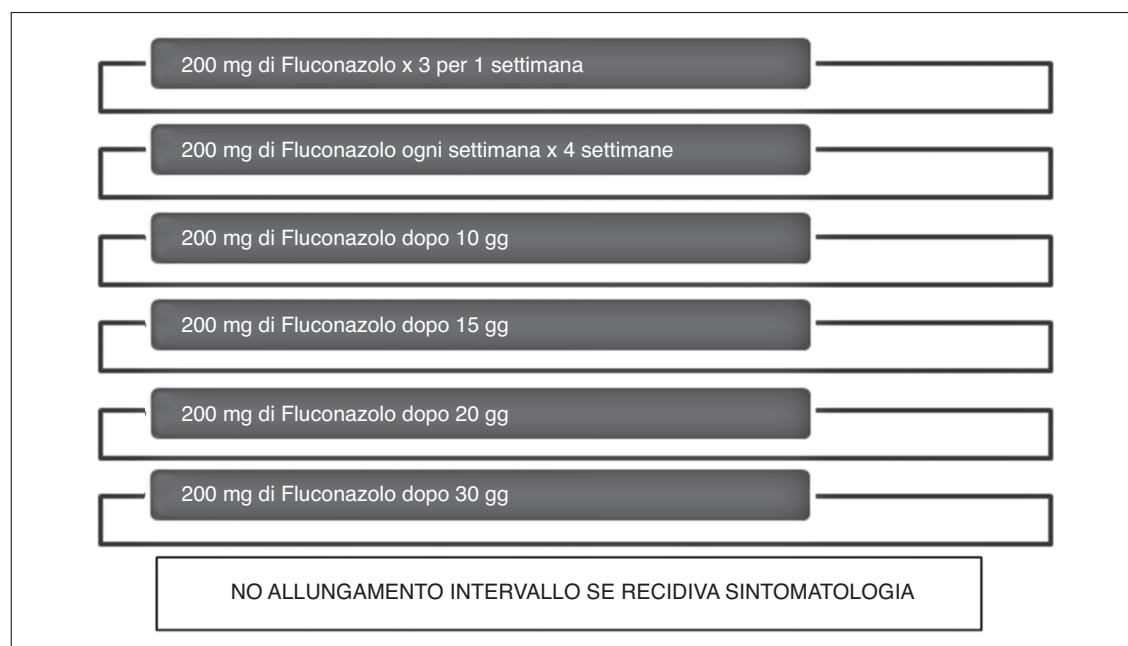


Figura 2. —Schema del management delle RVVC short-graduale ⁵⁴.

tenimento della Candida vaginale appena al di sotto della soglia cut-off in grado di scatenare gli eventi infiammatori su base allergica propri della RVVC.

Il fluconazolo si presta molto bene a tale finalità sia per l'elevata tollerabilità, sia per un favorevole profilo farmacologico; infatti, il farmaco ha una biodisponibilità del 90% con un profilo d'azione che mantiene livelli terapeutici anche per cinque giorni ⁵¹.

La dose terapeutica definisce una quantità di principio attivo in grado di impedire lo sviluppo di un'infezione da Candida, che come abbiamo visto è legata a un'elevata crescita del fungo con azione immunosoppressiva.

Nella RVVC la quantità di micete è di parcellare entità, pertanto è verosimile che il fluconazolo mantenga più a lungo la propria durata d'efficacia. Questa possibilità è ulteriormente incrementata dall'uso del farmaco alla dose di 200 mg.

Riteniamo che lo schema posologico individualizzato a dosi decrescenti e dimostratosi più efficace rispetto a quello più rigido settimanale debba essere elemento di punta nel protocollo di cura della RVVC.

Il microambiente vaginale deve adattarsi gradualmente al mantenimento dell'equilibrio tra la quantità di Candida appena al di sotto della soglia potenzialmente in grado di scatenare la reazione allergica vulvovaginale, e i fattori immunoregolatori vaginali responsabili della cascata di eventi infiammatori (linfocine, citochine, MBL, cellule epiteliali vaginali, mastociti, ecc.).

In quest'ottica il fluconazolo alla dose di 200 mg non deve necessariamente essere protratto a lungo ma deve essere progressivamente allungato l'intervallo d'assunzione, al fine di creare una sorta di graduale desensibilizzazione.

Il concetto di desensibilizzazione, infatti, prevede la riduzione della sensibilità verso l'allergene, mantenuto al livello più basso possibile e tale da renderlo inoffensivo.

Il mantenimento della quota di Candida vaginale al livello di non reazione consentirebbe alla donna di sviluppare un meccanismo di difesa immunoregolatoria tale da impedire la crescita del fungo oltre la soglia belligerante una volta sospesa l'assunzione del fluconazolo.

Questo innovativo approccio terapeutico

TABELLA III.—*Stili di vita per la prevenzione delle candidosi vulvo-vaginali.*

Evitare gli errori alimentari, evitando gli zuccheri semplici (glucosio) e i lieviti nella dieta

Evitare gli stili di vita inappropriati, preferendo biancheria di cotone

Limitare la protezione intima alla fase mestruale, evitando l'uso costante di salvasilip

Sconsigliare i pantaloni troppo aderenti che possono causare microabrasioni della mucosa vestibolare e mantengono le secrezioni vaginali a contatto con la mucosa del vestibolo

scaturisce dai risultati di un nostro studio osservazionale dove il fluconazolo alla dose di 200 mg è stato utilizzato a intervallo crescente personalizzato per un periodo di circa due mesi in 35 pazienti con RVVC (Figura 2).

Il tasso di recidiva in corso di terapia e durante il follow-up massimo di tre mesi è stato cumulativamente del 25% circa ⁵⁴.

Ovviamente la validazione del protocollo richiede una valutazione su un campione di pazienti più ampio e con un follow-up di maggiore durata, ma gli incoraggianti risultati confermano l'ipotesi patogenetica peculiare della RVVC quale malattia da ipersensibilità a micro quote di Candida in soggetti predisposti.

Indipendentemente dallo schema posologico del fluconazolo rimane il problema delle pazienti non-responders, includendo in tale gruppo non solo quante non rispondono alla terapia ma anche chi ha una recidiva a breve termine dalla sospensione della stessa.

Complementi di terapia, accanto all'antimicotico

È verosimile che queste pazienti non siano in grado autonomamente di riequilibrare le funzioni immunoregolatrici locali, anche quando la vagina si è abituata lentamente alla nuova quantità di Candida in essa presente.

A tal fine un immunomodulatore quale lo zafirlukast, un inibitore dei leucotrieni correntemente usato nella cura dell'asma bronchiale, ha dimostrato un'interessante efficacia nella cura della RVVC ⁵⁵. Di 20 pazienti con RVVC che hanno usato il farmaco il 70% circa ha riportato un miglioramento sintomatologico, con un tasso di recidiva del 55% ad 1 anno dalla sospensione del principio attivo.

In un'ottica di terapia multimodale della RVVC un occhio di riguardo deve essere riservato al reservoir intestinale in grado di alimentare il serbatoio di Candida intestinale, oltre che rendere più difficoltosa la stabilizzazione della minima quota inoffensiva del micete in vagina.

Prodotti probiotici (Es. *Saccharomyces c*, *Bifidobacterium l*, ecc.) sono elementi specifici autoctoni con i quali l'intestino umano si popola sino dalla nascita; questi provvedono al mantenimento dell'ecosistema intestinale ed attenuano la risposta infiammatoria dei linfociti T helper ⁵⁶.

Uno studio randomizzato con placebo che ha utilizzato alcuni probiotici (*Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. fermentum* RC-14) ha dimostrato che questi sono efficaci nel ridurre la colonizzazione vaginale candidosica ⁵⁷.

Conclusioni

La prevenzione e la cura della RVVC deve prevedere una strategia multimodale finalizzata a correggere i fattori predisponenti, precipitanti e di mantenimento.

Grande attenzione deve essere posta nei confronti di alcuni stili di vita (Tabella III), e soprattutto si devono adottare schemi terapeutici precisi e nello stesso tempo personalizzati che consentano di agire efficacemente nei confronti dei meccanismi etiopatogenetici della malattia, che oggi sappiamo collocare la RVVC non tanto fra le infezioni vulvovaginali, quanto tra le patologie immunoallergiche causate da un microrganismo, la Candida.

Riassunto

La candidosi vulvovaginale ricorrente (RVVC) costituisce una sfida crescente nella pratica clinica ginecologica. La candida ha una duplice possibilità di azione patogenetica: indurre un'azione immunosoppressiva agendo in elevate quantità (forma acuta) o creare una reazione da ipersensibilità agendo in "piccola quota" in soggetti geneticamente predisposti (RVVC), configurando la malattia come una dermatite allergico-irritativa. La cura della RVVC prevede una profilassi antimicotica di lunga durata (6-12 mesi). Il fluconazolo si è dimostrato efficace a perseguire tale scopo, anche per la bassa incidenza di effetti collaterali (1-2%). Il trattamento individualizzato con regime di dosi decrescenti di fluconazolo ha riportato un minor tasso di recidive rispetto al protocollo rigido settimanale adottato in modo continuativo per 6 mesi. L'articolo, inoltre, passa in rassegna nuove opzioni terapeutiche oltre ad illustrare innovative teorie patogenetiche della RVVC.

Parole chiave: Candida - Candidosi vulvovaginale - Fluconazolo.

Bibliografia

1. Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. *Lancet* 2007;369:1961-71.
2. Guaschino S, Benvenuti C. Sophy study Group Sophy project: an observational study of vaginal pH and life-style in women of different ages and in different physiopathological conditions. *Minerva Ginecol* 2008;60:1-10.
3. Sobel JD. Candidal vulvovaginitis. *Clin Obstet Gynecol* 1993;36:153-65.
4. Sobel JD. Candida vulvovaginitis. *Semin Dermatol* 1996;15:17-28.
5. Marrazzo JM. Vulvovaginal candidiasis. *BMJ* 2003;326:993-4.
6. Foxman B, Barlow R, D'Arcy H, Gillespie B, Sobel JD. Candida vaginitis: self-reported incidence and associated costs. *Sex Transm Dis* 2000;27:230-5.
7. Goswami D, Goswami R, Banerjee U, Dadhwal V, Miglani S, Lattif AA *et al.* Pattern of Candida species isolated from patients with diabetes mellitus and vulvovaginal candidiasis and their response to single dose of fluconazole therapy. *J Infection* 2006;52:11-17.
8. Bertholf ME, Stafford MJ. Colonization of Candida albicans in vagina, rectum, and mouth. *J Fam Pract* 1983;16:919-24.
9. 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.
10. De Bernardis F, Agatensi L, Ross IK, Emerson GW, Lorenzini R, Sullivan PA *et al.* Evidence for a role for secreted aspartate proteinase of Candida albicans in vulvovaginal candidiasis. *J Infect Dis* 1990;161:1276-83.
11. Miles MR, Olsen L, Rogers A. Recurrent vaginal candidiasis. Importance of an intestinal reservoir. *JAMA* 1977;238:1836-87.
12. Sobel JD. Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol* 1985;152:924-35.
13. Reed BD, Gorenflo DW, Gillespie BW, Pierson CL, Zazove P. Sexual behaviour and other risk factors for Candida vulvovaginitis. *J Womens Health Gend Based Med* 2000;9:645.
14. Markos AR, Wade AAH, Walzman M. Oral sex and recurrent vulvo-vaginal candidiasis. *Genitourin Med* 1992;68:61-2.
15. Cassone A, De Bernardis F, Santoni G. Anticandidal immunity and vaginitis: a novel opportunities for immune intervention. *Infect Immun* 2007;75:4675-86.
16. Cotch MF, Hillier SL, Gibbs RS, Eschenbach DA. Epidemiology and outcomes associated with moderate to heavy candida colonization during pregnancy. Vaginal infections and Prematurity Study Group. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:374-80.
17. Dennerstein GJ, Ellis DH. Oestrogen, glycogen and vaginal candidiasis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2001;41:326-8.
18. 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.
19. Glover DD, Larsen B. Relationship of fungal vaginitis therapy to prior antibiotic exposure. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2003;11:157-60.
20. Babula O, Linhares IM, Bongiovanni AM, Ledger WJ, Witkin SS. Association between primary vulvar vestibulitis syndrome, defective induction of tumor necrosis factor- α , and carriage of the mannose-binding lectin codon 54 gene polymorphism. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:101.e1-4.
21. Cole AM. Innate host defense of human vaginal and cervical mucosae. *Curr Top Microbiol Immunol* 2006;306:199-230.
22. Wira CR, Grant-Tschudy KS, Crane-Goudreau MA. Epithelial cells in the female reproductive tract: a central role as sentinels of immune protection. *Am J Reprod Immunol* 2005;53:65-76.
23. Barousse MM, Steele C, Dunlap K, Espinosa T, Boikov D, Sobel J D *et al.* Growth inhibition of Candida albicans by human vaginal epithelial cells. *J Infect Dis* 2001;184:1489-93.
24. Witkin SS, Jeremias J, Ledger WJ. Vaginal eosinophils and IgE antibodies to Candida albicans in women with recurrent vaginitis. *J Med Vet Mycol* 1989;27:57-8.
25. Carvalho LP, Bacellar O, Neves N, de Jesus AR, Carvalho EM. Downregulation of IFN- γ production in patients with recurrent vaginal candidiasis. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:102-5.
26. Anderson MR, Klink K, Cohrsen A. Evaluation of vaginal complaints. *JAMA* 2004;291:1368-79.
27. Netea MG, Suttmuller R, Hermann C, Van der Graaf CA, Van der Meer JW, van Krieken JH *et al.* Toll-like receptor 2 suppresses immunity against Candida albicans through induction of IL-10 and regulatory T cells. *J Immunol* 2004;172:3712-8.
28. Lev-Sagie A, Prus D, Linhares IM, Lavy Y, Ledger WJ, Witkin SS. Polymorphism in a gene coding for the inflammasome component NALP3 and recurrent vulvovaginal candidiasis in women with vulvar vestibulitis syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2009;200:303.e1-6.
29. Ramirez De Knott HM, McCormick TS, Do SO, Goodman W, Ghanoum MA, Cooper KD *et al.* Cutaneous hypersensitivity to Candida albicans in idiopathic vulvodinia. *Contact Dermatitis* 2005;53:214-8.
30. Issenbacher TM, Witkin SS, Gingelmaier A, Scholz C, Friese K, Mylonas I. Relationship between recurrent vulvovaginal candidosis and immune mediators in vaginal fluid. *Eur J Obstet Gynecol Reproduct Biol* 2009;115:59-63.
31. Moraes PS. Recurrent vaginal candidiasis and allergic rhinitis: a common association. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998;81:165-9.
32. Cheng G, Yeater KM, Hoyer LL. Cellular and molecu-

- lar biology of *Candida albicans* estrogen response. *Eukaryot Cell* 2006;5:180-91.
33. Spacek J, Buchta V, Jilek P, Förstl M. Clinical aspects and luteal phase assessment in patients with recurrent vulvovaginal candidiasis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007;131:198-202.
 34. Davidson F, Oates JK. The pill does not cause 'thrush'. *BJOG* 1985;92:1265-66.
 35. Foxman B. The epidemiology of vulvovaginal candidiasis: risk factors. *Am J Public Health* 1990;80:329-31.
 36. Camacho DP, Consolaro ME, Patussi EV, Donatti L, Gasparetto A, Svidzinski TI. Vaginal yeast adherence to the combined contraceptive vaginal ring (CCVR). *Contraception* 2007;76:439-43.
 37. Xu J, Schwartz K, Bartoces M, Monsur J, Severson RK, Sobel JD. Effect of antibiotics on vulvovaginal candidiasis: a MetroNet study. *J Am Board Fam Med* 2008;21:261-8.
 38. Pirotta MV, Garland SM. Genital *Candida* species detected in samples from women in Melbourne, Australia, before and after treatment with antibiotics. *J Clin Microbiol* 2006;44:3213-7.
 39. Ferris DG, Nyirjesy P, Sobel JD, Soper D, Pavletic A, Litaker MS. Over-the-counter antifungal drug misuse associated with patient-diagnosed vulvovaginal candidiasis. *Obstet Gynecol* 2002;99:419-25.
 40. Goldacre MJ, Watt B, Loudon N, Milne LJ, Loudon JD, Vessey MP. Vaginal microbial flora in normal young women. *BMJ* 1979;1:1450-5.
 41. Stewart DE, Whelan CI, Fong IW, Tessler KM. Psychosocial aspects of chronic, clinically unconfirmed vulvovaginitis. *Obstet Gynecol* 1990;76(5 Pt 1):852-6.
 42. Haefner HK. Report of the International Society for the Study of Vulvovaginal Disease terminology and classification of vulvodynia. *J Low Genit Tract Dis* 2007;11:48-9.
 43. Arnold LD, Bachmann GA, Rosen R, Kelly S, Rhoads GG. Vulvodynia: characteristics and associations with comorbidities and quality of life. *Obstet Gynecol* 2006;107:617-24.
 44. Graziottin A. Il dolore segreto. Milano: Mondadori; 2005.
 45. Pappas P, Rex J, Sobel J, Filler SG, Dismukes WE, Walsh TJ *et al.* Guidelines for the treatment of candidiasis. *Clin Infect Dis* 2004;38:161-89.
 46. Reef SE, Levine WC, McNeil MM, Fisher-Hoch S, Holmberg SD, Duerr A *et al.* Treatment options for vulvovaginal candidiasis, 1993. *Clin Infect Dis* 1995;20(Suppl 1):S80-90.
 47. Watson MC, Grimshaw JM, Bond CM, Mollison J, Ludbrook A. Oral versus intra-vaginal imidazole and triazole anti-fungal agents for the treatment of uncomplicated vulvovaginal candidiasis (thrush): a systematic review. *BJOG* 2002;109:85-95.
 48. Dellenbach P, Thomas JL, Guerin V, Ochsenein E, Contet-Audonneau N. Topical treatment of vaginal candidosis with sertaconazole and econazole sustained-release suppositories. *Int J Gynaecol Obstet* 2000;71(Suppl 1):S47-52.
 49. Sobel JD, Kapernick PS, Zervos M, Reed BD, Hooton T, Soper D *et al.* Treatment of complicated *Candida* vaginitis: comparison of single and sequential doses of fluconazole. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185:363-9.
 50. Liebel F, Lyte P, Garay M, Babad J, Southall MD. Anti-inflammatory and anti-itch activity of sertaconazole nitrate. *Arch Dermatol Res* 2006;298:191-9.
 51. Brammer KW, Farrow PR, Faulkner JK. Pharmacokinetics and tissue penetration of fluconazole in humans. *Rev Infect Dis* 1990;12(Suppl 3):S318-26.
 52. Sobel JD, Wiesenfeld HC, Martens M, Danna P, Hooton TM, Rompalo A *et al.* Maintenance fluconazole therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis. *N Engl J Med* 2004;351:876-83.
 53. Donders G, Bellen G, Byttebier G, Verguts L, Hinoul P, Walckiers R *et al.* Individualized decreasing-dose maintenance fluconazole regimen for recurrent vulvovaginal candidiasis (ReCiDiF trial). *Am J Obstet Gynecol* 2008;199:613.e1-9.
 54. Murina F, Graziottin A. Atti Convegno: il dolore sessuale femminile e le comorbidità associate. Milano marzo 2010.
 55. White DJ, Vanthuyne A, Wood PM, Ayres JG. Zafirlukast for severe recurrent vulvovaginal candidiasis: an open label pilot study. *Sex Transm Inf* 2004;80:219-22.
 56. Reid G, Charbonneau D, Erb J, Kochanowski B, Beuerman D, Poehner R *et al.* Oral use of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. fermentum* RC-14 significantly alters vaginal flora: randomized, placebo-controlled trial in 64 healthy women. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003;35:131-4.
 57. Falagas ME, Betsi GI, Athanasiou S. Probiotics for pre-