

# L'IMPIEGO DEL FLUCONAZOLO NELLA TERAPIA DELLE VULVO-VAGINITI DA CANDIDA: UP-TO-DATE

Gerardo Guida, Domenico de Aloysio

Clinica Ostetrica e Ginecologica e Fisiopatologia Ginecologica della Terza Età  
Università degli Studi di Bologna

*Indirizzo per corrispondenza:* Dott. Gerardo Guida  
Clinica Ostetrica e Ginecologica e Fisiopatologia Ginecologica della Terza Età  
Via Massarenti 13, 40138 Bologna (BO) Italia  
tel: +39 051 300071; fax: +39 051 302974; e-mail: gerrygin@libero.it

## ABSTRACT

Vulvovaginal candidiasis (VVC) is still a widespread problem, mostly among women of childbearing age, because of incomplete knowledge about its pathogenesis. A great step forward in the treatment of such disease has been made by introducing azole drugs in general, and, among them, fluconazole in particular, by virtue of its efficacy, high selectivity, oral comfortable way of administration, very low toxicity by usual therapeutic dosage as well. After almost 20 years since its introduction, this drug maintains nearly unchanged the features which conferred its success in the treatment of one of the most frequent types of vaginitis.

**Key words:** *fluconazole, candida, vaginitis*

## RIASSUNTO

La vulvovaginite da Candida (VVC) rimane ancora oggi un problema diffuso in tutto il mondo, specialmente nelle donne in età riproduttiva, a causa delle conoscenze incomplete riguardo alla sua patogenesi. Un grande passo in avanti nel trattamento di tale patologia è consistito nella introduzione dei farmaci azolici in generale, e del fluconazolo in particolare, in virtù della sua efficacia ed alta selettività, della comoda somministrazione per os e della tossicità estremamente bassa ai normali dosaggi terapeutici. A quasi venti anni dalla sua introduzione, questo farmaco ha conservato pressoché inalterate le caratteristiche che ne hanno decretato il successo nella terapia di una delle cause più frequenti di vaginite.

**Parole chiave:** *fluconazolo, candida, vaginite*

## INTRODUZIONE

La vulvovaginite da *Candida* (VVC) rappresenta senza dubbio, ancora oggi, un problema diffuso in tutto il mondo ed in tutti gli strati della società, nonostante i progressi ottenuti in campo terapeutico negli ultimi 30-40 anni. Ciò è legato alla difficoltà nella comprensione sia dei meccanismi di difesa vaginali diretti contro l'infezione micotica, che dei meccanismi patogenetici alla base del quadro clinico, sebbene sia già stato individuato un numero crescente di fattori di rischio di tale patologia. La mancanza inoltre di test diagnostici rapidi, semplici e poco costosi, causa di frequenti errori nell'individuazione dell'infezione, continua a provocare una alterata percezione dell'incidenza della malattia (1).

## EPIDEMIOLOGIA DELLE VVC

In conseguenza di quanto appena enunciato non si dispone di una quantità di dati che fornisca una stima pienamente attendibile sull'incidenza della VVC. Ciò è legato in primo luogo alla mancata

denuncia dei casi, e la loro eventuale registrazione è inficiata dalla inadeguatezza della diagnosi e dall'utilizzo di studi di popolazione poco rappresentativi. Un limite ulteriore è rappresentato dalla disponibilità di farmaci antimicotici da banco, utilizzati spesso in maniera impropria come automedicazione. Si ritiene comunque che l'infezione causata da *Candida* colpisca il 70-75% delle donne almeno una volta nella vita, perlopiù durante l'età riproduttiva, ed il 40-50% di esse sia colpita da una o più recidive (2). Il 5-8% di donne adulte soffre di vulvovaginite ricorrente da *Candida* (RVVC), caratterizzata da quattro o più episodi in un anno (3). Si ritiene che la *Candida* sia responsabile di circa il 30% di tutte le vaginiti sintomatiche (4,5), e studi di prevalenza indicano come il 20% circa delle donne alberghi il micete in vagina in maniera asintomatica (6-8). Si ritiene che negli Stati Uniti la VVC, che occupa il secondo posto come causa di infezione vaginale dopo la vaginosi batterica (9,10), costi alla collettività circa un miliardo di dollari ogni anno (11), e che la sua incidenza sia raddoppiata nel decennio 1980-1990, sulla base del parallelo raddoppio delle prescrizioni per il trattamento delle vaginiti micotiche nello stesso periodo (1).

## EZIOLOGIA

L'85-95% dei miceti isolati dalla vagina durante una vaginite micotica appartiene alla specie *Candida albicans*. Il resto è rappresentato da altre specie di *Candida non-albicans*, in special modo *Candida glabrata*. Studi condotti in varie parti del mondo indicano come le specie non-albicans siano responsabili del 10-20% delle VVC (12-14). Altre specie coinvolte in modo poco frequente sono *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*. Le vaginiti sostenute dalle specie non-albicans, ritenute più facilmente ricorrenti, sono clinicamente pressoché indistinguibili da quelle sostenute da *Candida albicans*, e sono ritenute più difficilmente trattabili dai farmaci più comunemente utilizzati, ovvero gli azoli. Nonostante si sia ritenuto che l'utilizzo di trattamenti monodose, le terapie di mantenimento a basso dosaggio a base dei suddetti azoli e l'uso scorretto ed indiscriminato di farmaci da banco abbiano aumentato l'incidenza delle VVC da specie non-albicans, alcuni studi multicentrici condotti negli Stati Uniti non hanno confermato questa convinzione (15,16). Non sono stati identificati ceppi di *Candida albicans* che abbiano mostrato un particolare tropismo per la vagina, così come non emerge il rilievo dell'esistenza di sottotipi maggiormente virulenti rispetto ad altri, dato che spiegherebbe l'osservazione di marcate colonizzazioni vaginali da parte di *Candida* spp. completamente asintomatiche (17). Mentre nella colonizzazione vaginale asintomatica e nella trasmissione alla vagina i lieviti sono rilevati nella forma fenotipica di blastospore (blastoconidi), nella vaginite sintomatica è più frequentemente rilevata la forma germinativa, che ha prodotto micelio (ife e pseudoife). La colonizzazione della vagina avviene mediante adesione delle blastospore alle cellule epiteliali, con notevoli variazioni, per lo meno in vitro, nell'adesività da persona a persona, anche non è stata osservata una adesività più accentuata nelle donne affette da RVVC. L'adesione è assicurata da mannoproteine localizzate sulla superficie dei lieviti; la germinazione delle blastospore intensifica la colonizzazione e facilita l'invasione tissutale. Si ritiene che fattori facilitanti la germinazione promuovano la vaginite sintomatica, mentre l'inibizione della germinazione potrebbe prevenire la vaginite nelle portatrici asintomatiche. La virulenza è intensificata dalla produzione di enzimi proteolitici, tossine e fosfolipasi prodotte dai lieviti, le quali rompono i ponti intercellulari che si oppongono alla colonizzazione ed all'invasione. La fagocitosi o l'attività del sistema immunitario locale potrebbero essere inibite da micotossine, incluse una gliotossina identificata in vagina (18).

## PATOGENESI

Le blastospore di *Candida* accedono alla cavità vaginale principalmente dalla regione perianale, e si ritiene che la loro permanenza in vagina per lunghi periodi di tempo sotto forma di organismi commensali non virulenti sia legata ad efficaci sistemi di difesa vaginali, sia innati (inibizione della crescita di *Candida* da parte delle cellule epiteliali vaginali, produzione di lectine leganti il mannosio capaci di inattivare le mannoproteine micotiche e di attivare il complemento, azione competitiva della flora batterica vaginale, lattoferrina attivata) che adattativi (di importanza controversa), quali immunità umorale e cellulo-mediata. La maggior parte, se non la totalità delle donne, alberga la *Candida* in vagina ad un certo punto della vita, generalmente ad una bassa carica micotica, senza tuttavia mostrare segni o sintomi di vaginite. La *Candida* può quindi comportarsi come un commensale o un organismo patoge-

no, e si postula che siano necessarie modificazioni dell'ecosistema vaginale prima che il micete provochi effetti patologici. Sebbene ogni episodio di VVC o RVVC è causato da una singola specie, si ritiene che la sua patogenesi sia multifattoriale ed i meccanismi che favoriscono la colonizzazione vaginale possono differire da quelli che facilitano la trasformazione dalla colonizzazione asintomatica alla vaginite sintomatica (1). Tra i primi troviamo fattori genetici (anamnesi familiare positiva, razza nera, non-secrezione relativamente al gruppo sanguigno AB0-Lewis), la gravidanza (durante la quale sono più frequenti sia le colonizzazioni che le vaginiti), nella quale il maggior tasso plasmatico di estrogeni induce diversi effetti, quali l'aumento del contenuto di glicogeno – substrato nutritivo anche per i miceti- nelle cellule epiteliali vaginali, stimolazione dell'aderenza dei lieviti all'epitelio e della crescita del micelio (è stata documentata la presenza di recettori per gli steroidi sessuali femminili nel citosol di *Candida albicans*), il diabete mellito di tipo 2 scompensato, la contraccezione orale (ruolo controverso), l'attività sessuale (specialmente i rapporti oro-genitali), una dieta ricca in zuccheri raffinati; tra i secondi troviamo l'impiego di terapie antibiotiche, che faciliterebbero la virulentazione della *Candida* riducendo la flora batterica protettiva, permettendone quindi una crescita eccessiva in vagina e nel tratto gastro-intestinale. Va però aggiunto che diversi studi non hanno confermato il rapporto causa-effetto tra terapia antibiotica e vaginite da *Candida*: la maggior parte delle donne sottoposte a terapia antibiotica non sviluppa successivamente una vaginite, e in molti casi un episodio sintomatico non è preceduto da assunzione di antibiotici. In molti casi la RVVC è idiopatica.

Per quanto riguarda le possibili fonti di infezione, viene data importanza alla trasmissione sessuale (sebbene il suo ruolo patogenetico sia ancora sconosciuto), nonché al serbatoio intestinale, ovvero, nella patogenesi delle recidive, alla persistenza di *Candida* in vagina dopo terapia antimicotica; riguardo a quest'ultimo aspetto, si è osservato come il 20-25% delle donne con tampone vaginale negativo immediatamente dopo trattamento antimicotico si positivizzano dopo 30 giorni, suggerendo una persistenza vaginale di alcuni ceppi di *Candida*, piuttosto che una ricolonizzazione di provenienza intestinale: inoltre in più di due terzi dei casi è stata riscontrata la stessa identità nei ceppi di *Candida* prima e dopo la recidiva post-trattamento (10,19). Alcuni microorganismi possono persistere in vagina dopo una terapia, sebbene in quantità troppo limitata per essere identificati dall'esame colturale convenzionale, per poi riemergere settimane o mesi dopo (20).

Non è ancora chiaro come la *Candida* produca infiammazione vulvo-vaginale. Come già ricordato i lieviti producono proteasi extracellulari e fosfolipasi. L'assenza di cellule fagocitiche nell'esudato vaginale può essere legato a sostanze chemiotattiche non elaborate, ed inoltre sia i blastoconidi che le pseudoife sono capaci di distruggere le cellule superficiali per invasione diretta (10). Ife e pseudoife appaiono durante un episodio sintomatico, incrementano la colonizzazione e sono capaci di penetrare in cellule epiteliali intatte, interessando tuttavia solo gli strati cellulari più superficiali. Nonostante la sintomatologia non sia sempre correlata alla carica micotica, gli episodi di vulvovaginite sono associati ad una maggiore quantità di *Candida* ed alla presenza di ife (21). Probabilmente i meccanismi patogenetici sono molteplici: in alcuni casi il quadro clinico è caratterizzato da abbondante leucorrea ed elevato numero di forme germinative, mentre all'estremità opposta vi sono episodi caratterizzati da carenza o assenza di leucorrea, bassa carica micotica, ma prurito severo. Alla base di questo sintomo possono

essere presenti meccanismi immuni o reazioni iperergiche: inoltre, la VVC è più frequente nelle pazienti affette da malattie allergiche. Sebbene segni e sintomi siano i medesimi sia nelle infezioni da *Candida albicans* che da specie *non-albicans*, *Candida glabrata* e *Candida parapsilosis* tendono ad essere associate a disturbi più attenuati, o addirittura assenti (22,23).

## MANIFESTAZIONI CLINICHE

Non ci sono segni e sintomi specifici della VVC, nonostante prurito acuto e leucorrea siano le manifestazioni più frequentemente lamentate in questa patologia. L'entità della leucorrea, generalmente inodore, è molto variabile, ed il suo aspetto può variare dal classico latte cagliato ad un fluido simil-acquoso. Comunemente si associano in varia misura prurito, bruciore vulvare, dispareunia e disuria. All'esame obiettivo la vulva appare arrossata ed edematosa, talvolta con lesioni papulari e fessurazioni periferiche. La cervice appare normale, la mucosa vaginale, eritematosa, è in varia misura tappezzata da una secrezione biancastra. I sintomi si esacerbano caratteristicamente durante la settimana che precede la mestruazione.

Sulla base dell'agente eziologico, del quadro clinico, della frequenza delle manifestazioni cliniche e delle condizioni della paziente il Center for Disease Control di Atlanta (USA) ha suddiviso le vulvo-vaginiti da *Candida* in due gruppi: VVC non complicate, caratterizzate da frequenza sporadica o infrequente, da quadro clinico lieve-moderato, sostenute verosimilmente da *Candida albicans*, in pazienti immunocompetenti; VVC complicate, caratterizzate da quattro o più episodi durante l'anno, oppure da quadro clinico severo, oppure sostenute da *Candida non-albicans*, ovvero affette da diabete mellito scompensato, o defedate, o immunocompromesse, o gravide (24).

## DIAGNOSI

Data l'aspecificità dei sintomi, la diagnosi non può essere basata esclusivamente sull'anamnesi e sul quadro clinico. In diversi casi è sufficiente l'esame microscopico a fresco del secreto vaginale, meglio dopo applicazione sul preparato di KOH al 10%, che risulta inoltre utile nella diagnosi differenziale con la vaginite da *Trichomonas vaginalis* o la vaginosi batterica. Il preparato può essere in alternativa sottoposto a colorazione di May-Grunwald-Giemsa. Il pH vaginale è normale (4-4,5). Tuttavia molto spesso è necessario il ricorso all'esame colturale del secreto vaginale, data la non elevata sensibilità dell'esame a fresco, in donne sintomatiche con pH normale (un valore superiore a 4,7 è indicativo di infezione da *Trichomonas*, vaginosi batterica o infezione mista). Un tampone vaginale positivo considerato singolarmente non indica necessariamente che il micete identificato sia alla base della sintomatologia, in quanto fino al 10-15% delle donne albergano la *Candida* in vagina in maniera del tutto asintomatica (7). Da ciò ne deriva che la diagnosi di VVC deve basarsi sulla correlazione tra quadro clinico, esame microscopico e colturale. Non sono a tutt'oggi disponibili indagini affidabili sierologiche o basate sulla ricerca di antigeni specifici (1).

## TERAPIA

Lo scopo della terapia della VVC è quello di ottenere una rapida e completa scomparsa dei segni e dei sintomi della infiammazione vulvo-vaginale, prevenendo nel contempo le recidive (25). Riguardo

alle vie di somministrazione la terapia può essere locale (intravaginale) o sistemica (orale), e differisce a seconda si debba trattare una forma non complicata o complicata; nelle forme non complicate si avvale in genere dell'utilizzo dei farmaci azolici, efficaci nell'80-90% dei casi nella risoluzione dei sintomi e nella negativizzazione delle colture (1), somministrati localmente per periodi variabili da tre a sette giorni a seconda del farmaco impiegato (miconazolo, econazolo, clotrimazolo, fenticonazolo, tioconazolo), sotto forma di ovuli, crema o compresse vaginali, ovvero in monosomministrazione (isoconazolo, sertaconazolo, fenticonazolo); in alternativa si ricorre ad azoli somministrati per os, graditi da molte pazienti per la loro praticità, quali ketoconazolo (200 mgx2/die per 5 giorni - sempre meno utilizzato per la sua epatotossicità), fluconazolo (del quale si tratterà in dettaglio più avanti - 150 mg/die in monosomministrazione), itraconazolo (200 mg/die per 3 giorni, 2x200 mg/die per 3 giorni). Il trattamento del partner asintomatico non è indicato (26).

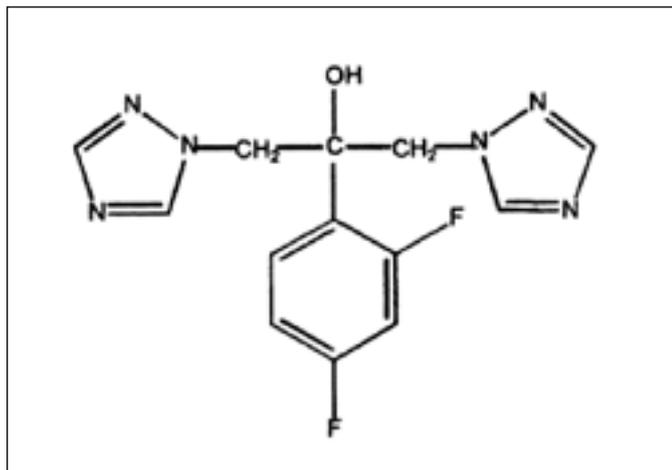
Nelle forme complicate si preferisce, oltre che a ridurre o eliminare i fattori predisponenti, ove rintracciabili, ricorrere ad una terapia di attacco più prolungata, ad una profilassi delle recidive della durata di almeno sei mesi, ad un eventuale trattamento integrato (locale e sistemico) nelle forme severe, al trattamento del partner, anche se è asintomatico. La terapia locale si avvale dei farmaci azolici prima menzionati, ovvero acido borico alla dose di 300-600 mg/die, per una durata di 14 giorni. La terapia sistemica si avvale dell'uso del fluconazolo, generalmente alla dose di 150 mg la settimana per una durata fino a 6 mesi, oppure itraconazolo alla dose di 200 mgx2/die per 4 giorni, al mese, per 3-6 mesi.

## PROFILO FARMACOLOGICO DEL FLUCONAZOLO

Il fluconazolo, agente antifungino capostipite di una nuova sottoclasse di triazoli sintetici, è stato scoperto da Richardson e coll. presso i laboratori Pfizer a Sandwich, Regno Unito, durante un programma di ricerca iniziato nel 1978. Il brevetto originale relativo la sua struttura era stato depositato da Riley e coll. presso la casa farmaceutica ICI, il quale interruppe le sperimentazioni cliniche prima del lancio del farmaco. Le sperimentazioni di fase II iniziarono nel 1988 e furono dirette verso infezioni sostenute da miceti del genere *Candida*, *Cryptococcus* e *Coccidioides*, alle dosi iniziali di 50 mg/die, e furono seguite da studi di efficacia in pazienti neutropenici. Il crescente e drammatico bisogno di farmaci azolici attivi per os, conseguentemente all'epidemia di AIDS, e la notevole efficacia terapeutica della molecola, nonostante il suo impiego a basse dosi, portarono alla rapida approvazione del suo utilizzo da parte dell'Agenzia Europea e della FDA nel 1990. I timori di severa epatotossicità, riscontrata durante l'uso a lungo termine del ketoconazolo per os furono presto fugati, e furono sperimentati dosaggi sempre maggiori di fluconazolo in pazienti critici, specialmente coloro affetti da candidiasi sistemica e meningite da *Criptococcus neoformans* e *Coccidioides immitis*; fu altresì ben presto chiara la sua efficacia e sicurezza nel trattamento delle flogosi micotiche vulvo-vaginali, in special modo quelle sostenute da *Candida albicans* (27).

Il fluconazolo è un solido di colore bianco cristallino, leggermente solubile in acqua ed in soluzione salina, la cui formula chimica è 2,4-difluoro- $\alpha,\alpha'$ -bis(1H-1,2,4-triazol-1-ylmetil)benzil alcool, con formula empirica  $C_{13}H_{12}F_2N_6O$  e peso molecolare 306,3 (Fonte Pfizer: [http://media.pfizer.com/files/products/usp\\_i\\_diflucan.pdf](http://media.pfizer.com/files/products/usp_i_diflucan.pdf)). La struttura chimica è rappresentata nella figura 1.

Figura. 1 – Fluconazolo



## MECCANISMO DI AZIONE

Il fluconazolo agisce mediante l'inibizione altamente selettiva dell'enzima Erg11p, una C-14  $\alpha$ -demetilasi, mono-ossigenasi facente parte del complesso del citocromo P450 fungino, necessario per la sintesi dell'ergosterolo, componente essenziale della parete cellulare del micete. L'azione principale consiste nell'inibizione della 14-demetilazione del lanosterolo, rimozione ossidativa essenziale nella biosintesi dell'ergosterolo. Da ciò consegue la deplezione di ergosterolo e l'accumulo di steroli intermedi 14-metilati, uno dei quali, il 14-metilergosta-8,24(28)-dien-3,6-diolo, micotossico, con alterazione della fluidità e della permeabilità delle membrane del reticolo endoplasmatico, e conseguente disturbo dell'attività degli enzimi di membrana coinvolti nella sintesi della parete cellulare. Il bersaglio principale del farmaco è un atomo di ferro facente parte di una emi-protoporfirina localizzata nel sito attivo dell'enzima: l'inibizione avviene mediante il legame con un atomo di azoto dell'anello triazolico, mentre il resto della molecola si lega alla apoproteina. La conformazione esatta del sito attivo differisce tra le varie specie di miceti e tra le molteplici mono-ossigenasi del citocromo P450 dei mammiferi. La precisa natura dell'interazione tra ogni molecola di azolo ed ogni tipo di citocromo P450 determina la potenza dell'azione inibitoria del farmaco nelle differenti specie di miceti. Una delle peculiarità del fluconazolo nei confronti degli azoli impiegati in precedenza è consistita nella sostituzione dell'anello imidazolico con un nucleo triazolico, da cui è conseguita una maggiore specificità del farmaco per il citocromo P450 fungino e quindi una marcata riduzione della tossicità nell'uomo. Nei confronti del genere *Candida* il fluconazolo si comporta generalmente come fungistatico (28,29).

## FARMACOCINETICA

Il fluconazolo è ben assorbito per via orale, indipendentemente dal valore del pH gastrico, con una biodisponibilità di oltre il 90% rispetto alla somministrazione intravenosa. Il picco plasmatico di concentrazione ( $C_{max}$ ) si raggiunge dopo una-due ore se assunto a digiuno, con una emivita plasmatica di circa 30 ore (range 20-50); La  $C_{max}$  media dopo assunzione di una singola dose per os di 400 mg è di 6,72  $\mu\text{g/mL}$  (range 4,12-8,08  $\mu\text{g/mL}$ ), e dopo una dose singola di 50-400 mg le concentrazioni plasmatiche di fluconazolo

e la AUC (area sotto la concentrazione plasmatica-curva temporale) sono dose-proporzionali. Le concentrazioni steady-state sono raggiunte dopo 5-10 giorni di monosomministrazione per os di 50-400 mg. Il legame con le proteine plasmatiche è basso (11-12%), l'apparente volume di distribuzione si approssima a quello raggiunto dall'acqua corporea, e dopo mono o polisomministrazione orale giornaliera per un periodo fino a 14 giorni il fluconazolo penetra in tutti i fluidi corporei studiati. La penetrazione del farmaco nel tessuto vaginale consente il raggiungimento del rapporto tessuto/plasma di 0,94-1,14 dopo 48 ore da una monosomministrazione di 150 mg per os, ed il successivo reperimento nel fluido vaginale ha permesso di osservare un rapporto fluido/plasma di 0.36-0,71 dopo 72 ore. La maggioranza del farmaco è escreta per via renale (60-75%), con un ulteriore 8-10% rintracciabile nelle feci.

## INDICAZIONI

Il fluconazolo è attualmente indicato nella terapia della vulvovaginite da *Candida*, eccetto quella sostenuta da *Candida krusei*, nella candidosi oro-esofagea e nelle candidosi sistemiche, nonché nella meningite criptococcica.

## EFFETTI COLLATERALI

Il fluconazolo ha dimostrato un eccellente profilo di tollerabilità, anche ai dosaggi elevati indicati nelle candidosi sistemiche. Gli effetti collaterali, più frequenti in pazienti affetti da infezione da HIV, sono comparsi a dosi superiori a 400 mg/die. I disturbi maggiormente segnalati sono cefalea, nausea e dolore addominale; più raramente è stato osservato un innalzamento delle transaminasi epatiche in pazienti già immunocompromessi o defedati.

## PRECAUZIONI D'USO

Non sono disponibili a tutt'oggi studi controllati sull'impiego del fluconazolo in gravidanza. Sono stati altresì segnalati casi di malformazioni congenite multiple facciali, scheletriche e cardiache in neonati le cui madri erano trattate, per periodi uguali o superiori ai tre mesi, con alte dosi di fluconazolo (400-800 mg/die) per coccidioidomicosi (utilizzo "off label"); per tali motivi l'uso in gravidanza è permesso solo in caso di effettiva necessità, dopo attenta valutazione del beneficio per la madre e del rischio per il feto (30). A causa della escrezione nel latte materno a concentrazioni simili al plasma, l'utilizzo del fluconazolo non è raccomandato durante l'allattamento.

## EFFICACIA TERAPEUTICA

Come ricordato in precedenza, il tasso di successo degli azoli topici nel trattamento delle VVC varia dall'80 al 90%, senza che sia emersa la superiorità di una formulazione o di una molecola rispetto alle altre, e l'utilizzo degli azoli per os (tra i quali primeggia il fluconazolo) permette di ottenere tassi di successo equivalenti, se non superiori. Tale dato è stato confermato da una meta-analisi di 17 trials nei quali veniva paragonata l'efficacia di tali farmaci nel trattamento delle VVC non complicate (31).

## IL PROBLEMA DELLE RVVC

Il trattamento delle forme di vulvovaginiti recidivanti rappresenta ancora oggi un problema, dato che nella maggior parte dei casi non sono apparentemente evidenziabili dei fattori predisponenti even-

tualmente correggibili. E' stato riscontrato come il mancato ricorso ad una terapia di mantenimento dopo un episodio di RVVC porta alla ricomparsa nel 50% di una recidiva entro tre mesi (10,16): tutti i vari regimi terapeutici elencati in precedenza sono efficaci nella prevenzione delle recidive, anche se l'uso del fluconazolo è in genere preferito in quanto tale farmaco è privo della tossicità del ketoconazolo – il che lo rende idoneo a cicli terapeutici di lunga durata –, è più biodisponibile dell'itraconazolo e più comodo rispetto agli azoli topici; nonostante ciò, indipendentemente dal regime terapeutico di mantenimento intrapreso, si osserva abbastanza frequentemente la ricomparsa di una recidiva poco tempo dopo la cessazione del trattamento (10,16).

Si è cercato di spiegare il parziale insuccesso del trattamento delle RVVC dopo terapia con gli azoli in generale e con il fluconazolo in particolare (in virtù del suo preponderante utilizzo in questi casi) chiamando in causa la comparsa di fenomeni di resistenza delle varie specie di *Candida* (inclusa la *albicans*) a questa categoria di farmaci. La resistenza è un concetto vasto che descrive la mancata risposta di una infezione fungina ad una terapia antimicotica. Essa può essere primaria, o intrinseca, cioè presente prima dell'esposizione ai farmaci, secondaria, o acquisita, se si sviluppa dopo esposizione ai farmaci - legata ad una transitoria o stabile alterazione genotipica - oppure terziaria, che comprende la progressione o la ricaduta di una infezione da parte di un micete isolato che sembra, in laboratorio, essere pienamente suscettibile al farmaco utilizzato nel trattamento della infezione da esso provocata. Sfortunatamente le tecniche utilizzate per saggiare la suscettibilità in vitro dei vari miceti ai farmaci, che differiscono nei costi, concordanze, riproducibilità ed interpretazione, non sono state adeguatamente correlate con l'outcome delle infezioni micotiche, specie sistemiche, oppure tale correlazione non è stata adeguatamente studiata. E' pertanto molto difficoltoso stabilire una correlazione clinica con i test di suscettibilità antimicotica, poiché tali test non tengono in adeguata considerazione la dinamica e la complessa biologia del micete esposto ad un farmaco antimicotico in vivo. Ad esempio, l'US National Committee for Clinical and Laboratory Standards (NCLSS) ha sviluppato metodi standardizzati per i test di suscettibilità riferiti al genere *Candida*, stabilendo dei breakpoints di resistenza nei confronti di fluconazolo, flucitosina, ed itraconazolo, estrapolando tali soglie studiando un gruppo di circa 100 pazienti con candidemia, affetti da AIDS con candidosi orofaringea. Per il fluconazolo, una MIC (concentrazione minima inibente)  $\leq 8 \mu\text{g/L}$  indica suscettibilità, tra i 16 ed i  $32 \mu\text{g/L}$  suscettibilità dose-dipendente, sopra i  $32 \mu\text{g/L}$  resistenza. La frequenza di resistenza clinica, in vitro o in vivo, primaria o secondaria è stata perlopiù studiata in pazienti sottoposti trattamento con fluconazolo per candidosi orofaringea cronica. I problemi clinici maggiori emergono in due situazioni: candidosi delle mucose ricorrente o cronica refrattaria in pazienti affetti da AIDS, o candidemia acuta o subacuta in pazienti immunosoppressi o fortemente defedati (32). In breve, sono stati descritti tre meccanismi principali di resistenza secondaria agli azoli verso *Candida albicans*, legati al coinvolgimento di molteplici geni: ridotto accumulo di farmaco attraverso meccanismi attivi di efflusso, legato alla sovraespressione geni CDR1, CDR2 ed MDR1, alterazione o sovraespressione del sito di legame del farmaco, codificate dal gene ERG11, e riduzione o scomparsa delle reazioni chimiche conseguenti al blocco nella biosintesi dell'ergosterolo, risultante in un minore accumulo di steroli tossici, legate a mutazioni del gene ERG3. Sembra essere altresì presente un ulteriore meccanismo indipendente dai precedenti, consistenti in non-disgiunzioni cromosomiche che avvengono sotto pressione

farmacologica. Sono stati segnalati altri due fenomeni che possono conferire resistenza farmacologica alla *Candida*: la resistenza fenotipica e la tolleranza. Si definisce resistenza fenotipica o adattativa una alterazione reversibile e regolata nel fenotipo, non basata su mutazioni genetiche, che permette la crescita a concentrazioni del farmaco antimicotico inibitrici prima della esposizione del micete alla sostanza in esame. Ciò sembra legato a sovraregolazione o attivazione di regolatori, i quali sono poi sottoregolati una volta che la pressione selettiva sia rimossa; la resistenza fenotipica può coinvolgere altri geni rispetto ai CDR. La tolleranza può essere definita come una risposta statica nella quale l'organismo sopravvive a concentrazioni farmacologiche inibitrici senza però crescere. Alcune osservazioni suggeriscono come la resistenza fenotipica o la tolleranza siano più importanti della resistenza stabile agli azoli nella patogenesi della maggior parte delle infezioni da *Candida*. Difatti, tra le pazienti affette da RVVC meno del 4% dei ceppi isolati risulta essere resistente al fluconazolo (29), ed inoltre la suscettibilità al fluconazolo sembra essere irrilevante riguardo l'outcome terapeutico delle pazienti trattate (33). Sembra che la maggior parte, se non tutti i casi di resistenza al fluconazolo osservati siano instabili e reversibili, suggerendo la natura fenotipica della loro apparente resistenza (29).

In netto contrasto con la candidosi oro-esofagea, la vulvovaginite, inclusa la RVVC, causata da ceppi di *Candida albicans* resistenti agli azoli è una eventualità rara (34-36), nonostante siano stati isolati dalla vagina di donne sottoposte a terapia settimanale di mantenimento con fluconazolo ceppi di *Candida albicans* che mostrano una concentrazione minima inibente (MIC) verso il tale farmaco più elevata rispetto a quella osservata prima del trattamento (33,37). In generale le concentrazioni massime di fluconazolo in vagina non superano i  $4-8 \mu\text{g/mL}$ : il reperimento di ceppi con MIC uguale o superiore agli  $8 \mu\text{g/mL}$  implicherebbe quindi una resistenza alle dosi convenzionali di farmaco. Va tuttavia sottolineato come i test di suscettibilità in vitro non siano stati validati e non sono quindi affidabili nel predire l'eventualità di una recidiva per quanto riguarda la vulvovaginite, in netto contrasto alla localizzazione oro-esofagea della *Candida albicans*. Tale aspetto può essere in parte spiegato dalla sinergia che si osserva in vivo tra il fluconazolo e gli acidi organici, quali, ad esempio, l'acido acetico, normalmente presenti in vagina. E' stato osservato come l'aggiunta di acido acetico ad una miscela di lieviti e fluconazolo in vitro rende il farmaco fungicida piuttosto che fungistatico, riducendo grandemente il fenomeno della tolleranza (38). Va inoltre ricordato come sia importante, ai fini del successo terapeutico, eseguire un esame colturale in presenza di una RVVC, allo scopo di evidenziare la presenza di *Candida glabrata*, in quanto questa specie ha mostrato una ridotta sensibilità al fluconazolo rispetto alla *Candida albicans* in circa la metà dei casi (34,37,39); *Candida krusei* è intrinsecamente resistente al fluconazolo, ma risponde di solito agli azoli topici ed all'acido borico (40).

In seguito alle esperienze maturate durante i numerosi tentativi di comprensione dei meccanismi patogenetici della RVVC, è stato generalmente accettato che le donne affette da RVVC idiopatica debbano essere carenti di importanti fattori protettivi immunitari, data l'incompleta protezione dalle recidive nonostante l'efficacia delle terapie farmacologiche e l'importanza trascurabile dei fenomeni di resistenza. Tale carenza permetterebbe ad un organismo, non completamente eliminato dopo un convenzionale ciclo terapeutico antimicotico, perlopiù fungistatico, di ricrescere e causare ripetute ricadute sintomatiche. Nonostante l'immunità cellulo-mediata sia considerata il meccanismo principale di difesa verso l'infezione

delle mucose sostenuta dalla *Candida*, due decenni di studi clinici e ricerche su modelli animali hanno rivelato una mancanza del ruolo protettivo dell'immunità adattativa verso la VVC causata da apparenti meccanismi immunoregolatori. Alcuni chiarimenti sulla comprensione della complessità di tali dinamiche immunologiche sono arrivati utilizzando modelli di stimolazione in vivo (cd. "live challenge"), basati sulla inoculazione nella vagina di volontarie sane di quantità crescenti di *Candida albicans*, in varie fasi del ciclo mestruale, con o senza aggiunta di sostanze favorenti la crescita del lievito (quali glucosio ed estrogeni). L'interpretazione dei risultati ha permesso di ipotizzare che la VVC è associata a segnali chemiotattici conseguenti all'interazione tra la *Candida* e le cellule epiteliali, che promuoverebbe una risposta infiammatoria non protettiva caratterizzata da un marcato infiltrato vaginale di leucociti polimorfonucleati e concomitanti sintomi clinici, mentre la resistenza all'infezione sarebbe associata alla mancanza di segnali e/o all'attività antifungina delle cellule epiteliali vaginali. E' stata inoltre postulata l'esistenza di una soglia nel numero di microorganismi conseguente all'inoculo (non l'inoculo di per se), cruciale ai segnali cellulomediati epiteliali verso l'immunoregolazione mediata da cellule T, soglia che varia in gruppi differenti di donne. Si ritiene pertanto che le donne affette da RVVC, le quali hanno una ricaduta poco dopo il completamento di un ciclo terapeutico, presentino delle cellule epiteliali vaginali estremamente intolleranti alla *Candida*, e producano sostanze chemiotattiche dopo esposizione ad una bassa carica micotica. Le donne che si ammalano poco frequentemente di VVC, o affette da VVC secondaria, hanno una soglia di tolleranza più elevata, mandando segnali ai polimorfonucleati solo quando la carica micotica ha superato il limite conseguentemente a terapia antibiotica, HRT, contraccezione orale ad alto dosaggio, gravidanza, diabete mellito scompensato. Le cellule epiteliali di donne che non sviluppano VVC presentano una estrema tolleranza ad un'alta carica micotica. Sembra inoltre che tale valore soglia dipenda anche dall'età, e ciò spiegherebbe l'elevata tolleranza alla *Candida* osservata nelle adolescenti, ove si osserva una discrepanza tra l'elevata carica micotica vaginale ed una bassa frequenza di VVC. Dunque, sia la suscettibilità che la resistenza alla *Candida* appaiono essere associate all'immunità innata, con un ruolo fino ad ora non dimostrato dell'immunità adattativa, e ciò rinnova il concetto della possibile predisposizione genetica a tale infezione (41).

## VVC ED INFEZIONE DA HIV

I concetti appena esposti possono aiutare a fare luce sul complesso rapporto tra VVC ed infezione da HIV. Da diverso tempo si era formato un generale consenso, nonostante la presenza di sporadiche osservazioni che affermavano il contrario, sul fatto che l'immunità sistemica non giocasse un ruolo predominante a livello della mucosa vaginale, e che una qual forma di immunodeficienza, specie in donne affette da RVVC, risiedesse localmente (41). Ciò era supportato da diverse osservazioni cliniche: le donne (immunocompetenti) affette da RVVC non erano suscettibili ad altre forme di candidiasi delle mucose, e nelle donne HIV-positive, fra le quali era molto comune l'insorgenza di candidosi oro-esofagee, di frequenza e gravità direttamente proporzionali alla severità dell'immunodepressione, la VVC non era di frequenza significativamente superiore rispetto alla popolazione sana. Tali osservazioni suggeriscono come i meccanismi di difesa vaginali operino indipendentemente da altri meccanismi sistemici (1). Riguardo alle pazienti HIV- positive, la frequenza delle VVC rimane ancora oggi indeterminata. Diversi

studi indicano la colonizzazione vaginale da *Candida* sia aumentata nelle donne HIV-positive rispetto alle HIV-negative: nonostante ciò, non ci sono lavori che indicano come la VVC sia più severa o più refrattaria alla terapia nelle donne HIV-positive rispetto alle HIV-negative (42-43). Studi di coorte e "cross-sectional" indicano solo un modesto aumento della VVC in pazienti HIV-positive che non ricevono la terapia antiretrovirale rispetto alle HIV-negative, e, come già ricordato, la maggiore incidenza della VVC nelle HIV- positive è modesta rispetto alla incidenza notevolmente maggiore della candidosi oro-faringea rispetto alle donne immunocompetenti (44-45). La microbiologia della VVC nelle donne HIV- positive sembra essere del tutto sovrapponibile ai controlli sieronegativi, sebbene col tempo e dopo ripetute ed incontrollate esposizioni agli azoli ci sia la tendenza ad isolare specie di *Candida non-albicans*, soprattutto *Candida glabrata*, meno sensibile al fluconazolo (45). Perciò il trattamento delle VVC e delle RVVC nelle donne HIV- positive, necessario, oltre che all'eliminazione della sintomatologia, alla riduzione della disseminazione vaginale dell'HIV (incrementata dalla flogosi), è il medesimo rispetto alle donne HIV-negative (1,46).

## CONCLUSIONI

Il fluconazolo rappresenta ancora oggi, a quasi venti anni dalla sua introduzione, uno dei farmaci principali nel trattamento della vulvovaginite da *Candida*, ed ha contribuito notevolmente al miglioramento della qualità della vita di migliaia di donne nel mondo. Il suo eccezionale successo, legato alle esclusive caratteristiche di efficacia, maneggevolezza, tollerabilità ed economicità, che lo rendono idoneo al suo impiego per cicli terapeutici di lunga durata, ben giustifica il ruolo ancora attuale di pietra angolare che tale farmaco riveste nella profilassi e terapia della candidosi, sia vaginale che sistemica, in attesa che una maggiore comprensione dei fattori di suscettibilità e dei meccanismi di difesa anti-candida dell'ospite, nonché dei fattori genetici micotici che inducono infiammazione e facilitano la persistenza dei lieviti in vagina, permettano la messa a punto di nuove strategie terapeutiche.

## BIBLIOGRAFIA

1. Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. *Lancet* 2007; 369: 1961-1971
2. Hurley R, De Louvois J. Candida vaginitis. *Postgrad Med J* 1979; 55: 645-647
3. Foxman B, Marsh JV, Gillespie B, Sobel JD. Frequency and response to vaginal symptoms among white and African American women: result of a random digit dialing survey. *J Womens Health* 1998; 7: 1167-1174
4. Berg AO, Heidrich FE, Fihn SD, et al. Establishing the cause of genitourinary symptoms in women in a family practice. Comparison of clinical examination and comprehensive microbiology. *JAMA* 1984; 251: 620-625
5. Eckert LO, Hawes SE, Stevens CE, Koutsky LA, Eschenbach DA, Holmes KK. Vulvovaginal candidiasis: clinical manifestations, risk factors, management algorithm. *Obstet Gynecol* 1998; 92: 757-765
6. Chow AW, Percival-Smith R, Bartlett KH, Goldring AM, Morrison BJ. Vaginal colonization with *Escherichia coli* in healthy women. Determination of relative risks by quantitative culture and multivariate statistical analysis. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154: 120-126
7. Goldacre MJ, Watt B, Loudon L, Milne LJ, Loudon JD, Vessey MP. Vaginal microbial flora in normal young women. *BMJ* 1979; 1: 1450-1455
8. Odds FC. Candidosis of the genitalia. *Candida and candidosis. A review and bibliography*. London, Philadelphia, Toronto, Sydney, Tokyo: Bailliere Tindall, 1988: 124
9. Fleury FJ. Adult vaginitis. *Clin Obstet Gynecol* 1981; 24: 407-438
10. Sobel JD. Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 152: 924-935
11. Foxman B, Barlow R, D'Arcy H, Gillespie B, Sobel JD. Candida vaginitis: self-reported incidence and associated costs. *Sex Transm Dis* 2000; 230-235
12. Corsello S, Spinillo A, Osengo G, et al. An epidemiological survey of vulvovaginal candidiasis in Italy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003; 110: 66-72
13. Okungbowa FI, Isikhuemhen OS, Dede AP. The distribution frequency of *Candida* species in the genitourinary tract among symptomatic individuals in Nigerian cities. *Rev Iberoam Micol* 2003; 20: 60-103
14. Buscemi L, Arechevala A, Negrone R. Study of acute vulvovaginitis in sexually active adult women, with special reference to candidosis, in patients of Francisco J Muniz Infectious Diseases Hospital. *Rev Iberoam Micol* 2004; 21: 177-81
15. Sobel JD, Brooker D, Stein GE, et al. Single dose oral fluconazole compared with conventional clotrimazole topical therapy of candida vaginitis. Fluconazole Vaginitis Study Group. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 1263-1268
16. Sobel JD, Wiesenfeld HC, Martens M, et al. Maintenance fluconazole therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis. *N Engl J Med* 2004; 351: 876-893
17. Macura AB, Voss A, Melchers WJ, Meis JF, Syslo J, Heczko PB. Characterization of pathogenetic determinants of *Candida albicans* strains. *Zentralbl Bakteriol* 1998; 287: 501-508
18. Shah DT, Glover DD, Larsen B. In situ micotoxin production by *Candida albicans* in women with vaginitis. *Gynecol Obstet Invest* 1995; 39: 67-69
19. Chong PP, Lee YL, Tan BC, Ng KP. Genetic relatedness of *Candida* strains isolated from women with vaginal candidiasis in Malaysia. *J Med Microbiol* 2003; 52: 657-666
20. Garcia-Tamayo J, Castillo G, Martinez AJ. Human genital candidiasis: histochemistry, scanning and transmission electron microscopy. *Acta Cytol* 1982; 26: 7-14
21. Merson-Davies LA, Odds FC, Malet R, et al. Quantification of *Candida albicans* morphology in vaginal smears. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1991; 42: 49-52
22. Nyirjesy P, Alexander AB, Weitz MV. Vaginal *Candida parapsilosis*: pathogen or bystander? *Infect Dis Obstet Gynecol* 2005; 13: 37-41
23. Fidel P Jr, Vazquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *Candida albicans*. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 80-96
24. Centers for Diseases Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines 2006. *MMWR* Aug 4, 2006 / 55 (RR11) [www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5511a1.htm](http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5511a1.htm)
25. Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, Filler Scott G, Dismukes WE, Walsh TJ, Edwards JE. Guideline for treatment of candidiasis. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 161-189
26. Guerra B, Infante F. Vulvovaginite da *Candida*. In: *Vaginiti e vaginosi*, 1ª Edizione, pp. 46-55, © 2004 Rottapharm
27. Charlier C, Hart E, Lefort A, Ribaud P, Dromer F, Denning DW, Lortholary O. Fluconazole for the management of invasive candidiasis: where do we stand after 15 years? *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 384-410
28. Odds FC, Brown AJP, Gow NAR. Antifungal agents: mechanism of action. *Trends in Microbiology* 2003; 11: 272-279
29. Akins RA. An update on antifungal targets and mechanisms of resistance in *Candida albicans*. *Med Mycol* 2005; 43: 285-318
30. Pursley TJ, Blomquist IK, Abraham J, Andersen HF, Bartley JA. Fluconazole-induced congenital anomalies in three infants. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 336-340
31. 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
32. Kontoyiannis DP, Lewis RE. Antifungal drug resistance of pathogenic fungi. *Lancet* 2002; 359: 1135-1144
33. Sobel JD, Zervos M, Reed BD, et al. Fluconazole susceptibility of vaginal isolates obtained from women with complicated *Candida* vaginitis: clinical implications. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 34-38
34. Bauters TG, Dhont MA, Temmerman MI, Nelis HJ. Prevalence of vulvovaginal candidiasis and susceptibility to fluconazole in women. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 569-574
35. Mathema B, Cross E, Dun E, et al. Prevalence of vaginal colonization by drug-resistant *Candida* species in college-age women with previous exposure to over-the-counter azole antifungals. *Clin Infect Dis* 2001; 33: E23-27
36. Sobel JD, Vazquez JA. Symptomatic vulvovaginitis due to fluconazole-resistant *Candida albicans* in a female who was not infected with human immuno-

- deficiency virus. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 726-727
37. Richter SS, Galask RP, Messer SA, Hollis RJ, Diekema DJ, Pfaller MA. Antifungal susceptibilities of *Candida* species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2155-2162
  38. Moosa MY, Sobel JD, ELhalis H, Du W, Akins RA. Fungicidal activity of fluconazole against *Candida albicans* in a synthetic vagina-simulative medium. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 161-167
  39. Holland J, Young ML, Lee O, C-A Chen S. Vulvovaginal carriage of yeasts Other than *Candida albicans*. *Sex Transm Infect* 2003; 79: 249-250
  40. Singh S, Sobel JD, Bhargava P, Boikov D, Vazquez JA. Vaginitis due to *Candida krusei*: epidemiology, clinical aspects, and therapy. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 249-250
  41. Fidel PL, Jr. History and update on host defense against vaginal candidiasis. *Am J Reprod Immunol* 2007; 57: 2-12
  42. Duerr A, Heilig CM, Meickle SF, et al. Incident and persistent vulvovaginal candidiasis among human immunodeficiency virus-infected women: Risk factors and severity. *Obstet Gynecol* 2003; 101: 548-556
  43. Schuman P, Capps L, Peng G, et al. Weekly fluconazole for the prevention of mucosal candidiasis in women with HIV infection. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS. *Ann Intern Med* 1997; 126: 689-696
  44. Schuman P, Sobel JD, Ohmit SE, et al. Mucosal candidal colonization and candidiasis in women with or at risk for human immunodeficiency virus infection. HIV Epidemiology Research Study (HERS) Group. *Clin Infect Dis* 1998; 27: 1161-1167
  45. Sobel JD, Ohmit SE, Schuman P, et al. The evolution of *Candida* species and fluconazole susceptibility among oral and vaginal isolates recovered from human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and at-risk HIV-seronegative women. *J Infect Dis* 2001; 183: 286-293
  46. Wang CC, McClelland RS, Reilly M, et al. The effect of treatment of vaginal infections on shedding of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 2001; 183: 1017-1022