

Trattamento delle infezioni vaginali: utilità dell'associazione metronidazolo e clotrimazolo

Gestione clinica

Simone Ferrero¹

Abstract

The normal vagina of women of reproductive age is colonised by lactobacilli that produce lactic acid, hydrogen peroxide and bacteriocins; these substances contribute to lowering the vaginal pH. A low vaginal pH creates an environment hostile to the growth of other microorganisms. When the number of lactobacilli is decreased, the resulting increase in the pH may favour vaginal infections. The three most common vaginal infections are bacterial vaginosis, trichomoniasis, and vaginal candidosis. There are multiple clinical and laboratory tests for diagnosing vaginal infections; the most commonly used methods for diagnosing bacterial vaginosis are the Amsel's criteria and the Nugent's Gram stain scale. Infections caused by Candida and Trichomonas vaginalis can be diagnosed by microscopic examination of vaginal secretions. Clotrimazole and metronidazole, especially when administered topically, are highly effective in treating vaginal infections.

Keywords: bacterial vaginosis, clotrimazole, metronidazole, vaginal candidiasis, vaginal infections

Treatment of vaginal infections: effectiveness of the association of metronidazole and clotrimazole

CMI 2010; 4(1): 7-17

¹ Unità Operativa di Ginecologia e Ostetricia, Ospedale San Martino e Università degli Studi di Genova, Genova

INTRODUZIONE

Le infezioni vaginali rappresentano la condizione più comune per cui le donne richiedono una consulenza ginecologica [1]. Sono generalmente causate da batteri, da *Candida* e da *Trichomonas* [2] e di solito regrediscono dopo l'esecuzione di un'adeguata terapia; tuttavia, in caso di diagnosi non corretta, possono persistere o recidivare a breve termine.

Si stima che il 65% delle infezioni vaginali abbia una causa batterica, il 20-40% sia causato dal fungo *Candida* e il 10-20% sia causato da un protozoo, *Trichomonas vaginalis* [3]. Sebbene le infezioni vaginali batteriche siano state spesso sottovalutate in passato, esse sono oggi considerate la forma più comune d'infezioni vaginali. La prevalenza delle infezioni vaginali batteriche è compresa fra il 25% e il 36% nelle donne che si rivolgono ad ambulatori per il trattamento delle infezioni sessualmente trasmesse [4]. Molte

donne con infezioni vaginali batteriche non lamentano sintomi o hanno una sintomatologia modesta; per questo motivo, le infezioni vaginali batteriche spesso non sono diagnosticate e, pertanto, non trattate.

Il 75% delle donne ha almeno un episodio d'infezione da *Candida* nel corso della vita, più spesso nell'età riproduttiva, e il 40-45% ha almeno due o più episodi d'infezione [5]. È stato anche dimostrato che *Candida* può essere isolata dalla vagina di circa il 20% delle donne che non hanno sintomi.

MANIFESTAZIONE DELLA MALATTIA E DIAGNOSI

Vaginosi batteriche

Numerose donne con infezioni vaginali batteriche sono asintomatiche [2]. Fra le donne con infezione vaginale batterica che

Corresponding author
Dott. Simone Ferrero,
Unità Operativa di Ginecologia e Ostetricia, Padiglione 1, Ospedale San Martino e Università degli Studi di Genova, Largo R. Benzi 1, 16132 Genova
Tel.: 010511525
Fax: 010511525
dr@simoneferrero.com

Infezione	Esame	Caratteristiche
Vaginosi batteriche	Criteri clinici di Amsel (almeno 3 su 4)	Secrezioni vaginali aderenti e omogenee pH > 4,5 > 20% di <i>clue cells</i> (cellule epiteliali vaginali ricoperte di microrganismi) Positività al <i>whiff test</i>
Infezioni vaginali da <i>Candida</i>	Punteggio di Nugent dopo colorazione di Gram del secreto vaginale	0-3 = flora normale 4-6 = flora intermedia 7-10 = vaginosi
	Misurazione del pH	Normale (4-4,5), ma l'esame serve per escludere la vaginosi batterica, le infezioni da <i>Trichomonas</i> e miste
	Esame microscopico + eventuale aggiunta di KOH	Pseudoife o blastopore
	Esame colturale	Da effettuare solo se l'esame microscopico è negativo
	Antimicogramma	Da effettuare soprattutto in presenza di sintomi ricorrenti
Vaginiti da <i>Trichomonas vaginalis</i>	Esame clinico	Secrezioni vaginali gialle-verdi maleodoranti
	Esame microscopico	Petecchie sulla cervice uterina
	Esame colturale	Arrossamenti vaginali
	Misurazione del pH	Flagellato mobile pH > 4,5

Tabella I

Esami necessari per porre diagnosi rispettivamente di vaginosi batterica, di infezione vaginale da *Candida* e di vaginite da *Trichomonas vaginalis* con descrizione del quadro laboratoristico indice di tale infezione [26,27]

lamentano sintomi, il cattivo odore vaginale (odore di pesce avariato) è il sintomo più suggestivo; queste pazienti possono anche riferire la presenza di perdite vaginali. Queste condizioni sono spesso indicate con il termine "vaginosi" anziché "vaginiti" perché non sono associate a una reazione infiammatoria vaginale.

Le vaginosi batteriche possono talvolta causare complicanze, fra le quali aborti [6,7], parto pretermine [6, 8-10], rottura prematu-

cui l'HIV [15,16]. I microrganismi che più spesso determinano le vaginosi batteriche sono *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum*. Altri batteri che possono meno frequentemente causare vaginosi batteriche sono *Prevotella*, *Mobiluncus*, i Bacteroidi e il Peptostreptococco.

Vaginiti da *Candida*

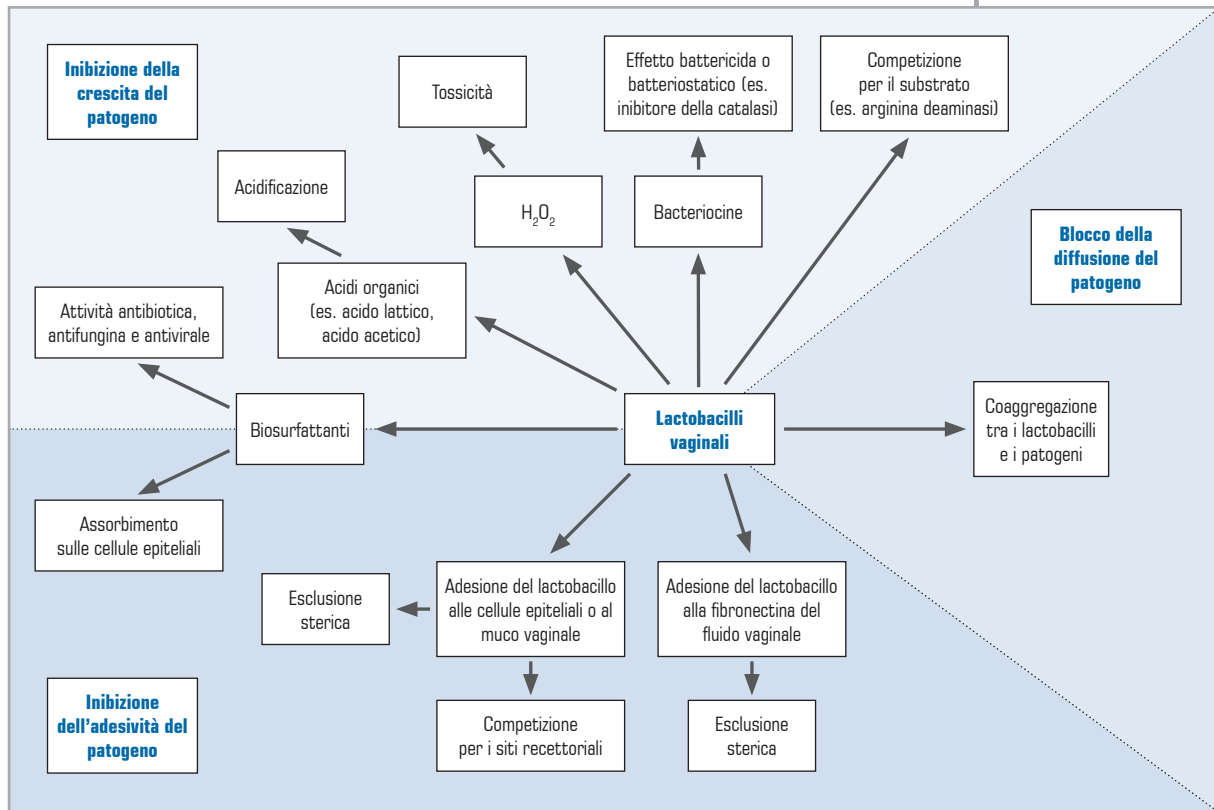
L'infezione vaginale da *Candida* si può manifestare nelle pazienti con sintomatologia di varia intensità. Alcune pazienti sono asintomatiche; infatti, fino al 70% delle donne asintomatiche può avere una coltura positiva per *Candida* se viene eseguito un esame colturale ogni quattro mesi per un anno [17]. Alcune donne possono presentare sintomi occasionali e di modesta intensità, altre pazienti hanno sintomi severi e frequenti. I sintomi più comuni sono prurito e bruciore vaginale, edema vaginale e disporeunia superficiale. Inoltre, alcune pazienti possono sviluppare prevalentemente una sintomatologia vulvare. Occasionalmente le pazienti possono lamentare disuria, che è causata dal contatto dell'urina con i tessuti vulvari infiammati [18]. Le pazienti possono avere perdite vaginali dense, di colore biancastro, non maleodoranti; tuttavia, al contrario di quanto si pensa, molte donne con vaginite da *Candida* non notano alcun cambiamento nelle secrezioni vaginali [19]. L'esame ginecologico può dimostrare la presenza di eritema, escoriazioni e secrezioni vaginali dense.

Prevalenza	Microrganismi principali nelle donne in età fertile
Quantità	10 ⁷ -10 ⁹ CFU/ml
Specie principali	<i>L. acidophilus</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. brevis</i> <i>L. jensenii</i> <i>L. casei</i> <i>L. delbrueckii</i> <i>L. salivarius</i>
Funzione	Ostacolare lo sviluppo di infezioni vaginali

Tabella II

Lactobacilli nella mucosa vaginale

ra delle membrane [11,12], basso peso alla nascita [9], corioamnionite [9], infezione della cupola vaginale dopo isterectomia ed endometriti [13]. Non è chiaro se le vaginosi batteriche possano causare malattia infiammatoria pelvica [14]. Infine, le vaginosi batteriche aumentano la suscettibilità a contrarre infezioni sessualmente trasmesse fra



Le vulvovaginiti causate da *Candida* (prevalentemente da *Candida albicans* [20], ma anche da *Candida glabrata* e poi, con percentuali inferiori, da *C. parapsilosis*, da *C. tropicalis*, da *C. krusei* e da *C. lusitanae* [21-23]) sono classificate in infezioni non complicate e infezioni complicate [2].

Vaginiti da *Trichomonas*

Le infezioni da *Trichomonas vaginalis* sono asintomatiche nel 50-75% dei casi [24]. I sintomi più comuni sono il bruciore vulvare e le secrezioni vaginali schiumose maleodoranti di colore giallo-verde. Le infezioni da *Trichomonas* in gravidanza sono associate a un aumentato rischio di parto pretermine, rottura prematura delle membrane e basso peso alla nascita [25].

Gli esami necessari per porre diagnosi sono elencati e descritti nella Tabella I.

GLI ASPETTI MICROBIOLOGICI: I MECCANISMI DI AUTODIFESA VAGINALE E IL RUOLO DEI LACTOBACILLI ENDOGENI

La mucosa vaginale è ricoperta da un epitelio squamoso stratificato non cheratiniz-

zato che prolifera e si ispessisce in risposta alla stimolazione estrogenica. È ben noto che il basso pH vaginale (4-4,5) è uno dei meccanismi principali per il controllo della flora microbica vaginale. Gli acidi grassi, fra cui l'acido lattico, prodotti dalle cellule epiteliali vaginali e rilasciati nelle secrezioni vaginali sono uno dei fattori più importanti per il controllo del pH vaginale.

I lactobacilli (Tabella II) rappresentano il microrganismo predominante nei fluidi vaginali delle donne in età premenopausale. Essi hanno una concentrazione che varia fra 10^7 e 10^8 CFU/ml di fluido vaginale nelle donne sane in età riproduttiva [28]. Fra i lactobacilli, quelli più frequentemente isolati sono *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus fermentum*; altri lactobacilli possono essere presenti, fra cui *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* e *Lactobacillus salivarius* [29].

I lactobacilli possono ostacolare lo sviluppo d'infezioni vaginali (Figura 1) attraverso due principali meccanismi: l'adesione all'epitelio vaginale e la produzione di sostanze con azione antimicrobica.

Numerosi studi hanno dimostrato che i lactobacilli aderiscono alle cellule epiteliali vaginali [30-32]; ciò determina la formazione di una barriera che previene la colo-

Figura 1
Meccanismi di protezione della mucosa vaginale attuati dai lactobacilli [36]

nizzazione da parte di organismi patogeni. I meccanismi molecolari alla base dell'adesione non sono completamente noti. È probabile che molteplici componenti della superficie cellulare dei lactobacilli contribuiscono all'adesione dei lactobacilli stessi ai recettori presenti sulla superficie delle cellule epiteliali vaginali [32]. Alcuni studi hanno suggerito che l'adesione dei lactobacilli è mediata da proteine [33,34], mentre altri studi hanno suggerito un ruolo dell'acido lipoteicoico [35] e dei carboidrati. Inoltre, i lactobacilli producono sostanze con azione antimicrobica.

L'acido lattico e altri acidi grassi prodotti dai lactobacilli possono contribuire all'acidità del pH vaginale. Studi *in vitro* hanno dimostrato che l'abbassamento del pH causato dalla crescita dei lactobacilli può inibire la proliferazione di microrganismi patogeni come *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis* e altri batteri ottenuti da tamponi eseguiti in pazienti con infezioni vaginali [37,38]. Molte specie di lactobacilli possono produrre una discreta quantità di perossido d'idrogeno (H_2O_2) *in vitro* [39]. Alcune infezioni vaginali sono caratterizzate dalla crescita di batteri anaerobi, pertanto la produzione di H_2O_2 potrebbe rappresentare un meccanismo aspecifico di autodifesa vaginale. Uno studio ha dimostrato che solo il 6% delle donne con vaginosi batterica possiede quelle specie di lactobacilli vaginali che producono H_2O_2 , mentre essi sono presenti nel 96% delle donne normali [39]. Sebbene queste osservazioni siano state confermate anche da altri Autori [40], bisogna comunque tenere presente che le infezioni vaginali possono svilupparsi anche in presenza di lactobacilli vaginali che producono H_2O_2 [41]. Alcuni Autori hanno riportato un'inibizione della crescita di *Candida albicans* da parte di lactobacilli che producono H_2O_2 [42], ma questi risultati non sono stati confermati da altri ricercatori [40,43]. I lactobacilli producono sostanze simili alle bacteriocine che inibiscono la crescita di batteri Gram positivi, Gram negativi e miceti. Una di queste sostanze ha dimostrato *in vitro* attività nei confronti di *Escherichia coli* ed *Enterococcus species* [44], ma il ruolo *in vivo* di queste sostanze deve ancora essere chiarito. I lactobacilli potrebbero anche produrre biosurfattanti. È stato dimostrato che i lactobacilli possono ridurre l'adesione dell'Enterococco fecale a superfici idrofobiche o idrofiliche [45]. Altri Autori hanno suggerito che i lactobacilli possano produrre una sostanza

chiamata surlactina che potrebbe agire come un surfattante riducendo l'aderenza di vari batteri (*Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*) e *Candida albicans* all'epitelio vaginale [46].

LE CAUSE DELL'INFEZIONE: LA DIMINUZIONE DELLA FLORA BATTERICA VAGINALE, L'INFEZIONE ESOGENA

Numerosi fattori possono modificare il rischio di sviluppare infezioni vaginali batteriche. Alcuni di questi fattori aumentano il rischio di sviluppare le infezioni vaginali determinando una riduzione della flora lactobacillare. Ad esempio, il rischio di vaginosi batteriche è aumentato nelle donne che eseguono lavande vaginali una o più volte alla settimana rispetto a quelle che ne eseguono meno o non ne eseguono affatto [47]. È stato anche dimostrato che l'esecuzione di lavande vaginali dopo le mestruazioni aumenta il rischio di sviluppare vaginosi batteriche [48]. Le cause di queste osservazioni non sono note con precisione, ma si ipotizza che le lavande vaginali riducano il numero dei lactobacilli facilitando così la crescita dei batteri che possono causare la vaginosi.

Altri fattori possono invece aumentare il rischio dell'infezione esogena. Il comportamento sessuale (età al primo rapporto sessuale, vita sessuale attiva, numero di partner, rapporti con altre donne) può influenzare il rischio di sviluppare infezioni vaginali batteriche [49]. Una recente metanalisi ha dimostrato che la vaginosi batterica è associata con i fattori di rischio delle malattie sessualmente trasmesse, mentre l'uso del profilattico riduce il rischio di sviluppare vaginosi batteriche [50]. Altri importanti fattori di rischio per le infezioni batteriche sono l'uso di spirali intrauterine e il fumo di sigaretta. Anche la razza può influenzare la prevalenza delle vaginosi batteriche; è stato, infatti, dimostrato che le donne di razza afroamericana hanno un rischio più che raddoppiato di sviluppare vaginosi batteriche rispetto alle donne bianche [51].

Candida può colonizzare la vagina in diversi modi: i più frequenti sono la trasmissione sessuale e la diffusione locale dal perineo e dal tratto gastrointestinale. Altri fattori possono influenzare il rischio di sviluppare un'infezione da *Candida*, fra cui il diabete, la gravidanza, l'uso di terapie antibiotiche e

contraccettive, l'immunosoppressione (ad esempio l'infezione da HIV), le abitudini sessuali (fra cui i rapporti orogenitali) e la razza (afroamericana) [19,52]. In gravidanza, le elevate concentrazioni degli ormoni riproduttivi aumentano il contenuto di glicogeno nell'epitelio vaginale e quindi forniscono una fonte di carboidrati per *Candida*. Gli antibiotici predispongono al rischio di sviluppare *Candida* perché eliminano la flora batterica vaginale e quindi favoriscono lo sviluppo di *Candida* nel tratto gastrointestinale, nella vagina o in entrambi.

IL RUOLO DELL'ASSOCIAZIONE METRONIDAZOLO E CLOTRIMAZOLO

Meccanismo d'azione dei due principi attivi

Metronidazolo (Tabella III) è un derivato nitroimidazolico con formula chimica $C_6H_9N_3O_3$. È efficace nel trattamento delle infezioni causate da protozoi e batteri anaerobi Gram positivi e Gram negativi fra cui *Gardnerella vaginalis*. Il meccanismo d'azione di tale farmaco non è ancora completamente noto. Negli organismi anaerobi, metronidazolo è captato e progressivamente ridotto. Il risultato finale dell'alterazione dello stato di ossido-riduzione è la produzione di radicali liberi dell'ossigeno, con perdita della struttura elicoidale del DNA [53]; ciò determinerebbe il danno citotossico e l'effetto antimicrobico esercitato dal farmaco. Questo meccanismo sembra funzionare solo nei batteri anaerobi, perché la molecola, pur captata dagli organismi aerobi, non subisce modificazioni e non esercita effetto tossico [54].

Clotrimazolo (Tabella IV) è un derivato imidazolico con formula chimica $C_{22}H_{17}ClN_2$. Ha una spiccata attività antimicotica, ma è attivo anche contro alcuni batteri Gram positivi. Esercita la sua attività fungicida e/o fungostatica attraverso l'inibizione della sintesi dell'ergosterolo, componente delle membrane cellulari micotiche [54]. In particolare, clotrimazolo agisce sull'enzima 14α -demetilasi, responsabile della conversione enzimatica del 2,4-metilendiidrolanosterolo a ergosterolo. Tale ridotta o bloccata sintesi altera la funzione di barriera selettiva della membrana citoplasmatica; ciò determina la perdita di potassio e altri costituenti cellulari, con concomitante catabolismo degli acidi nucleici [54]. Inoltre, è compro-

Attivo contro	Meccanismo d'azione
<ul style="list-style-type: none"> • Protozoi • Batteri anaerobi Gram positivi • Batteri anaerobi Gram negativi (tra cui <i>G. vaginalis</i>) 	Captato e ridotto dai microrganismi anaerobi → produzione di radicali liberi dell'ossigeno → danno al DNA microbico

messa la biosintesi di macromolecole, come le proteine, i lipidi, il DNA e i polisaccaridi. L'inibizione della 14α -demetilasi potrebbe non essere l'unico meccanismo d'azione di clotrimazolo. Infatti, è stato dimostrato che tale farmaco può inibire anche la crescita di

Tabella III
Caratteristiche di metronidazolo

Attivo contro	Meccanismo d'azione
<ul style="list-style-type: none"> • Funghi • Alcuni batteri Gram positivi • Lievito <i>S. cerevisiae</i> 	In parte ignoto. Per quanto riguarda l'attività fungicida: inibizione dell'enzima 14α -demetilasi → inibizione della sintesi di ergosterolo → inibizione della sintesi della membrana cellulare → alterazione della selettività di membrana → perdita di potassio e di altre componenti cellulari, e catabolismo degli acidi nucleici

lieviti *Saccharomyces cerevisiae* mutanti incapaci di sintetizzare steroli [55].

Efficacia clinica dell'associazione metronidazolo e clotrimazolo come antibatterico e antimicotico

L'uso di metronidazolo come gel vaginale (5 g allo 0,75%, una volta al giorno per cinque giorni) permette di coniugare efficacia terapeutica per la cura delle vaginosi batteriche con minori effetti indesiderati sistemici rispetto alla formulazione per via orale, mentre quest'ultima risulta più efficace in caso di infezioni vaginali da *Trichomonas* [1,2,56]. Uno studio randomizzato ha confrontato l'efficacia della somministrazione di metronidazolo per via vaginale (gel 0,75%) una o due volte al giorno, dimostrando una simile efficacia terapeutica nei due tipi di trattamento [57].

Metronidazolo per via orale può essere utilizzato per la prevenzione delle recidive nelle pazienti con vaginosi batteriche ricorrenti (500 mg due volte al giorno per 10-14 giorni). Uno studio randomizzato, controllato, in doppio cieco ha dimostrato che, dopo il trattamento della vaginosi batterica, la somministrazione di metronidazolo in forma di gel vaginale 0,75% due volte alla settimana per sei mesi può ridurre significativamente il rischio di recidive [58].

Tabella IV
Caratteristiche di clotrimazolo

Ceppo	Clotrimazolo-metronidazolo (1:5)		
	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range
<i>C. albicans</i> *	0,25	0,5	0,125-0,5
<i>C. krusei</i> #	0,25	0,5	0,25-0,5
<i>C. glabrata</i>	0,25	0,25	0,125-0,5
<i>C. parapsilosis</i> §	0,125	0,125	0,125-0,5
<i>C. tropicalis</i>	0,5	0,5	-
<i>C. humicola</i>	0,125	0,125	-
<i>C. dubliniensis</i>	0,125	0,125	-
<i>S. cerevisiae</i>	0,125	0,125	-

Tabella V

Risultati dello studio, fase *in vitro*: attività antimicotica di clotrimazolo-metronidazolo (1:5) [69]

* È compreso il ceppo di *C. albicans* ATCC 90028

È compreso il ceppo di *C. krusei* ATCC 6258

§ È compreso il ceppo di *C. parapsilosis* ATCC 22059

Numerosi studi hanno dimostrato che clotrimazolo è efficace nel trattamento della *Candida* vaginale [19]. Può essere somministrato in forma di crema vaginale all'1% (5 g al giorno per 7-14 giorni) [2] oppure al 2% (5 g al giorno per tre giorni). In alternativa, clotrimazolo può essere somministrato in forma di capsule vaginali da 100 mg (una capsula al giorno per sette giorni oppure due capsule al giorno per tre giorni) [2], capsule vaginali da 200 mg (una capsula al giorno due volte alla settimana) o capsule vaginali da 500 mg (monosomministrazione) [59]. Uno studio randomizzato controllato con

Ceppo	Clotrimazolo-metronidazolo (1:5)		
	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range
<i>S. agalactiae</i>	> 512	> 512	-
<i>Enterococcus</i> spp.	> 512	> 512	-
<i>E. coli</i>	> 512	> 512	-
<i>G. vaginalis</i>	< 0,03	< 0,03	-
<i>L. acidophilus</i>	> 512	> 512	-
<i>L. rhamnosus</i>	> 512	> 512	-
<i>L. plantarum</i>	> 512	> 512	-

Tabella VI

Risultati dello studio, fase *in vitro*: attività antibatterica di clotrimazolo-metronidazolo (1:5) [69]

placebo ha dimostrato che la somministrazione profilattica di clotrimazolo per via vaginale può anche prevenire la recidiva della sintomatologia [60].

La combinazione di metronidazolo e clotrimazolo presenta molteplici potenziali vantaggi nel trattamento delle infezioni vaginali. Innanzitutto il doppio regime terapeutico è attivo su un ampio spettro di patogeni; inoltre tale combinazione terapeutica minimizza l'insorgenza di resistenze spontanee di alcuni microrganismi [3] e previene le superinfezioni da *Candida albicans* [3]. I due farmaci sono tipicamente somministrati in un rapporto di 5:1 (5 parti

di metronidazolo e 1 parte di clotrimazolo). È importante rilevare che tale combinazione terapeutica non interferisce con la normale flora lactobacillare endogena.

L'efficacia terapeutica di tale rapporto è stata dimostrata da numerosi studi, sia *in vitro*, sia *in vivo*; tali trial hanno dimostrato la validità terapeutica dell'associazione metronidazolo-clotrimazolo per via locale, evidenziandone l'efficacia nel trattamento di *Trichomonas*, *Candida* spp. e *Gardnerella vaginalis* [3,61-68], e sottolineando l'azione di tipo additivo dei due farmaci [61].

In particolare, è stato condotto uno studio su tale associazione [69], valutandone sia *in vitro* sia *in vivo* tanto l'efficacia sulla patologia quanto l'impatto sul microbiota lactobacillare, partendo dalla già rilevata correlazione tra l'alterazione della flora batterica vaginale e l'insorgenza di vaginiti e cistiti.

Per quanto riguarda l'efficacia sulla patologia, *in vitro* sono state misurate la MIC₅₀ e la MIC₉₀ dell'associazione dei farmaci su alcuni ceppi di funghi (Tabella V) e di batteri patogeni (Tabella VI), mentre gli stessi parametri sono stati dosati su 5 specie di lactobacilli (*S. Agalactiae*, *Enterococcus* spp., *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*) (Tabella VI) al fine di scoprire l'impatto del trattamento sul microbiota lactobacillare.

L'associazione si è dimostrata efficace contro tutti i funghi studiati, tra cui *C. albicans* e *C. glabrata* (Tabella V) e contro *G. vaginalis* (Tabella VI), dati che risultano particolarmente interessanti, dal momento che tutte le donne reclutate per la fase *in vivo* di questo studio presentavano infezione da uno o due di questi agenti patogeni (Tabella VII).

Tale fase è stata condotta su 20 donne affette da vulvovaginite micotica e/o vaginosi, che sono state trattate per 6 giorni con ovuli vaginali di metronidazolo-clotrimazolo 5:1 una volta/die e lavanda vaginale da effettuare con una soluzione contenente la stessa associazione di farmaci, ugualmente nella proporzione di 5:1.

Al momento dell'inizio della terapia è stato effettuato un tampone vaginale, che è stato poi analizzato per la rilevazione dell'agente patogeno e del grado lactobacillare (LBG), indice che riflette la predominanza di lactobacilli nella flora batterica vaginale e di conseguenza lo stato di salute di tale mucosa: LBG 1 corrisponde a una predominanza di lactobacilli ed è tipica delle donne sane; LBG 2 (talvolta ulteriormente suddiviso negli stadi "a" e "b") indica una microflora mista, inquinata da altri tipi di bat-

N	Età	TV-T ₀	LBG-T ₀	TV-T ₁	LBG-T ₁	TV-T ₂	LBG-T ₂
1	29	<i>G. vaginalis</i>	2b	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
2	28	<i>C. albicans</i>	1 + pseudoife	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
3	32	<i>C. albicans</i>	1 + pseudoife	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
4	29	<i>C. albicans</i>	1 + pseudoife	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
5	44	<i>G. vaginalis</i>	3	Ass. crescita	2a	Ass. crescita	1
6	22	<i>C. albicans</i>	1 + pseudoife	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
7	39	<i>C. albicans</i>	1 + pseudoife	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
8	49	<i>C. albicans</i>	2b + cellule di lievito	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
9	23	<i>C. albicans</i>	1 + pseudoife	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
10	40	<i>G. vaginalis</i>	3	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
11	40	<i>G. vaginalis</i>	2b	Ass. crescita	2a	Ass. crescita	1
12	50	<i>G. vaginalis</i>	2b	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
13	45	<i>C. albicans</i>	1 + cellule di lievito	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
14	50	<i>C. albicans</i>	1 + cellule di lievito	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
15	32	<i>C. albicans</i>	1 + pseudoife	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
16	34	<i>C. albicans</i> + <i>G. vaginalis</i>	3 + pseudoife	Ass. crescita	2a	Ass. crescita	1
17	24	<i>C. albicans</i>	1 + pseudoife	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
18	50	<i>C. glabrata</i> + <i>G. vaginalis</i>	3 + cellule di lievito	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1
19	37	<i>C. albicans</i> + <i>G. vaginalis</i>	3	Ass. crescita	2a	Ass. crescita	1
20	31	<i>C. albicans</i>	1 + pseudoife	Ass. crescita	1	Ass. crescita	1

teri; LBG 3 si riscontra in mucose vaginali in cui i lactobacilli sono stati completamente rimpiazzati [70].

Altri due tamponi vaginali sono stati effettuati in occasione delle visite a 7-10 giorni e a 30 giorni dalla fine della terapia per valutare l'efficacia della stessa.

Come si può evincere dai dati in Tabella VII, a 30 giorni dalla fine della terapia tutte le donne reclutate presentavano un grado lactobacillare ottimale e l'assenza di crescita degli agenti patogeni; non sono stati riscontrati casi di recidive.

Questo risultato è stato ottenuto in presenza di una terapia comprendente lavande vaginali per 5 giorni consecutivi e va in controtendenza rispetto alla convinzione che tale pratica favorisca l'insorgenza di infezioni vaginali.

Uno studio più esteso, multicentrico randomizzato e controllato con placebo, ha confrontato l'efficacia di una terapia combinata con metronidazolo (100 mg) e clotrimazolo (100 mg) rispetto al solo trattamento con clotrimazolo nelle pazienti con infezione vaginale sintomatica causata da *Trichomonas vaginalis*, batteri o *Candida albicans* [71]. 84 pazienti hanno ricevuto la terapia combinata e 81 pazienti hanno ricevuto solo clotrimazolo. La terapia combinata è risultata significativamente più efficace di clotrimazolo nella terapia della *Candida* vaginale [71].

La combinazione metronidazolo-clotrimazolo per via vaginale può anche essere utilizzata in modo sicuro per il trattamento delle infezioni vaginali durante la gravidanza [54]. Entrambi i farmaci, se somministrati per via vaginale, sono infatti inclusi nella categoria B della scala utilizzata dalla *Food and Drug Administration* (FDA) americana per la valutazione della sicurezza dell'uso dei farmaci nel corso della gravidanza.

L'importanza di evitare di intaccare i lactobacilli endogeni

In precedenza è stato illustrato il ruolo dei lactobacilli nell'ostacolare le infezioni vaginali. Questo ruolo è confermato dal fatto che le terapie antibiotiche che sopprimono i lactobacilli possono facilitare l'insorgenza d'infezioni vaginali da *Candida* [52] e quindi predisporre a infezioni ricorrenti.

Ovviamente ogni regime terapeutico adottato per il trattamento delle infezioni vaginali dovrebbe essere selettivamente attivo contro i microrganismi patogeni, senza ostacolare la crescita dei lactobacilli. Ciò può facilitare la ricolonizzazione della vagina da parte dei lactobacilli e quindi la diminuzione del pH vaginale riducendo in teoria il rischio di persistenza dell'infezione e di recidive. È stato anche proposto che la ricolonizzazione farmacologica della vagina con lactobacilli possa essere utile per il trattamento delle

Tabella VII

Risultati dello studio, fase in vivo: modificazione del livello infettivo e del grado lactobacillare dopo trattamento con clotrimazolo-metronidazolo [69]

LBG = grado lactobacillare;
T₀ = situazione al momento dell'inizio della terapia;
T₁ = situazione dopo 7-10 giorni dalla fine della terapia;
T₂ = situazione dopo 30 giorni dalla fine della terapia;
TV = tampone vaginale

vaginosi batteriche e per la prevenzione delle recidive. Purtroppo, fino ad ora, non è ancora stata dimostrata l'efficacia di quest'approccio terapeutico, anche a causa della mancanza di standardizzazione nelle preparazioni di lactobacilli disponibili in commercio.

I rischi di una terapia antimicrobica errata

Una diagnosi non corretta dell'infezione vaginale può determinare la prescrizione di una terapia antimicrobica non adeguata. La persistenza dell'infezione, così come frequenti recidive, può avere importanti conseguenze non solo cliniche, ma anche sociali. Infatti, si possono verificare diminuzione della produttività lavorativa, riduzione del piacere legato ai rapporti sessuali, problematiche psicologiche e aumento della spesa sanitaria. Inoltre, terapie non corrette possono anche causare l'insorgenza di resistenze nei microrganismi responsabili delle infezioni vaginali e la selezione di microrganismi resistenti a tali farmaci. L'aumentata frequenza di *Candida non albicans* è stata correlata al diffuso e inappropriato uso di terapie antimicotiche, all'automedicazione, alle terapie a lungo termine per la prevenzione delle recidive e a ripetuti trattamenti antimicotici per le infezioni ricorrenti. L'eradicazione di *Candida albicans* può causare la selezione di specie (come *Candida glabrata*), che sono resistenti agli antimicotici comunemente utilizzati [72,73]. La somministrazione di una terapia ad ampio spettro, come la combinazione di clotrimazolo e metronidazolo, può ridurre questi rischi aumentando l'efficacia terapeutica non solo nelle infezioni causate da un singolo patogeno, ma anche in quelle miste.

CONCLUSIONI

Le infezioni vaginali rappresentano una delle patologie ginecologiche più frequentemente osservate. Una corretta diagnosi della causa dell'infezione vaginale è indispensabile per la prescrizione di un'adeguata terapia. Numerosi studi *in vitro* e clinici hanno dimostrato che la combinazione di metronidazolo e clotrimazolo somministrati per via vaginale sono efficaci nel trattamento della maggioranza delle infezioni vaginali. Questi due farmaci possono agire in modo sinergico. Infatti, metronidazolo ha un'ottima attività antiprotozoaria e contro i batteri anaerobi fra cui *Gardnerella vaginalis*; invece clotrimazolo ha una buona attività antimicotica e verso i batteri aerobi. Inoltre non è da sottovalutare l'importanza di un'azione che mira all'agente patogeno "risparmiando" i batteri che inibiscono l'ingresso e la proliferazione degli agenti infettivi (lactobacilli). Una buona strategia terapeutica, oltre a considerare lo spettro antimicrobico, dovrebbe sempre tenere conto dell'azione di distruzione o di mantenimento dell'omeostasi, che, nel caso della mucosa vaginale, significa valutare se il farmaco va a uccidere o meno i lactobacilli.

In un recente studio [69] l'associazione topica di metronidazolo e clotrimazolo ha dimostrato (*in vitro* e *in vivo*) efficacia contro le infezioni vaginali mantenendo inalterata la flora lactobacillare e quindi riducendo i fattori di rischio che possono predisporre a reinfezioni.

DISCLOSURE

Il presente articolo è stato supportato da Alfa Wassermann S.p.A.

Punti chiave

- Le infezioni vaginali rappresentano la condizione più comune per cui le donne richiedono una consulenza ginecologica
- La precisa diagnosi della causa dell'infezione vaginale è indispensabile per la somministrazione di un'adeguata terapia, per l'eradicazione dell'infezione, per la riduzione del rischio di recidive e per diminuire il rischio che gli agenti patogeni sviluppino resistenze
- L'associazione metronidazolo-clotrimazolo è efficace nel trattamento di un ampio spettro di germi. Infatti, metronidazolo ha ottima attività antiprotozoaria e verso i batteri anaerobi fra cui *Gardnerella vaginalis*. Clotrimazolo ha una buona attività antimicotica e contro i batteri aerobi
- La combinazione metronidazolo-clotrimazolo non agisce sui lactobacilli, consentendo loro di recuperare più velocemente l'omeostasi e di contribuire alla mancata ricolonizzazione da parte degli agenti patogeni
- L'associazione metronidazolo-clotrimazolo può anche essere utilizzata per il trattamento delle infezioni vaginali durante la gravidanza

BIBLIOGRAFIA

1. ACOG Committee on Practice Bulletins--Gynecology. ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. *Vaginitis Obstet Gynecol* 2006; 107: 1195-206
2. Centers for Disease Control and Prevention, Workowski KA, Berman SM. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006. *MMWR Recomm Rep* 2006; 55: 1-94
3. Arisi E. Validità della associazione metronidazolo-clotrimazolo nella pratica clinica quotidiana. *Curr Obstet Gynaecol (Edizione Italiana)* 2005; 14: 92-6
4. Sweet RL. Gynecologic conditions and bacterial vaginosis: implications for the non-pregnant patient. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2000; 8: 184-90
5. Eschenbach DA. Chronic vulvovaginal candidiasis. *N Engl J Med* 2004; 351: 851-2
6. Hay PE, Lamont RF, Taylor-Robinson D, Morgan DJ, Ison C, Pearson J. Abnormal bacterial colonisation of the genital tract and subsequent preterm delivery and late miscarriage. *BMJ* 1994; 308: 295-8
7. Ralph SG, Rutherford AJ, Wilson JD. Influence of bacterial vaginosis on conception and miscarriage in the first trimester: cohort study. *BMJ* 1999; 319: 220-3
8. Hillier SL, Nugent RP, Eschenbach DA, Krohn MA, Gibbs RS, Martin DH et al. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *N Engl J Med* 1995; 333: 1737-42
9. Svare JA, Schmidt H, Hansen BB, Lose G. Bacterial vaginosis in a cohort of Danish pregnant women: prevalence and relationship with preterm delivery, low birthweight and perinatal infections. *BJOG* 2006; 113: 1419-25
10. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet* 2008; 371: 75-84
11. Mikamo H, Sato Y, Hayasaki Y, Kawazoe K, Hua YX, Tamaya T. Bacterial isolates from patients with preterm labor with and without preterm rupture of the fetal membranes. *Infect Dis Obstet Gynecol* 1999; 7: 190-4
12. Benedetto C, Tibaldi C, Marozio L, Marini S, Masuelli G, Pelissetto S et al. Cervicovaginal infections during pregnancy: epidemiological and microbiological aspects. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2004; 16 (Suppl 2): 9-12
13. Haggerty CL, Hillier SL, Bass DC, Ness RB, PID Evaluation and Clinical Health study investigators. Bacterial vaginosis and anaerobic bacteria are associated with endometritis. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 990-5
14. Ness RB, Hillier SL, Kip KE, Soper DE, Stamm CA, McGregor JA et al. Bacterial vaginosis and risk of pelvic inflammatory disease. *Obstet Gynecol* 2004; 104: 761-9
15. Taha TE, Hoover DR, Dallabetta GA, Kumwenda NI, Mtimavalye LA, Yang LP et al. Bacterial vaginosis and disturbances of vaginal flora: association with increased acquisition of HIV. *AIDS* 1998; 12: 1699-706
16. Martin HL, Richardson BA, Nyange PM, Lavreys L, Hillier SL, Chohan B et al. Vaginal lactobacilli, microbial flora, and risk of human immunodeficiency virus type 1 and sexually transmitted disease acquisition. *J Infect Dis* 1999; 180: 1863-8
17. 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
18. Eckert LO, Hawes SE, Stevens CE, Koutsky LA, Eschenbach DA, Holmes KK. Vulvovaginal candidiasis: clinical manifestations, risk factors, management algorithm. *Obstet Gynecol* 1998; 92: 757-65
19. Nyirjesy P. Vulvovaginal candidiasis and bacterial vaginosis. *Infect Dis Clin North Am* 2008; 22: 637-52
20. Sobel JD, Faro S, Force RW, Foxman B, Ledger WJ, Nyirjesy PR et al. Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 203-11
21. Trama JP, Adelson ME, Raphaelli I, Stemmer SM, Mordechai E. Detection of *Candida* species in vaginal samples in a clinical laboratory setting. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2005; 13: 63-7
22. 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: 1066-70
23. 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: 2155-62

24. Sobel JD. What's new in bacterial vaginosis and trichomoniasis? *Infect Dis Clin North Am* 2005; 19: 387-406
25. Cotch MF, Pastorek JG 2nd, Nugent RP, Hillier SL, Gibbs RS, Martin DH et al. Trichomonas vaginalis associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Sex Transm Dis* 1997; 24: 353-60
26. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med* 1983; 74: 14-22
27. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 297-301
28. Sobel JD. Vaginitis and vaginal flora: controversies abound. *Curr Opin Infect Dis* 1996; 9: 42-7
29. Redondo-Lopez V, Cook RL, Sobel JD. Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. *Rev Infect Dis* 1990; 12: 856-72
30. Sobel JD, Schneider J, Kaye D, Levison ME. Adherence of bacteria to vaginal epithelial cells at various times in the menstrual cycle. *Infect Immun* 1981; 32: 194-7
31. Andreu A, Stapleton AE, Fennell CL, Hillier SL, Stamm WE. Hemagglutination, adherence, and surface properties of vaginal Lactobacillus species. *J Infect Dis* 1995; 171: 1237-43
32. Boris S, Suárez JE, Vázquez F, Barbés C. Adherence of human vaginal lactobacilli to vaginal epithelial cells and interaction with uropathogens. *Infect Immun* 1998; 66: 1985-9
33. Conway PL, Kjelleberg S. Protein-mediated adhesion of Lactobacillus fermentum strain 737 to mouse stomach squamous epithelium. *J Gen Microbiol* 1989; 135: 1175-86
34. Henriksson A, Szewzyk R, Conway PL. Characteristics of the adhesive determinants of Lactobacillus fermentum 104. *Appl Environ Microbiol* 1991; 57: 499-502
35. Chan RC, Reid G, Irvin RT, Bruce AW, Costerton JW. Competitive exclusion of uropathogens from human uroepithelial cells by Lactobacillus whole cells and cell wall fragments. *Infect Immun* 1985; 47: 84-9
36. Lepargneur JP, Rousseau V. Protective role of the Doderlein flora. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2002; 31: 485-94
37. Young G, Krasner RI, Yudkofsky PL. Interactions of oral strains of Candida albicans and lactobacilli. *J Bacteriol* 1956; 72: 525-9
38. Skarin A, Sylwan J. Vaginal lactobacilli inhibiting growth of Gardnerella vaginalis, Mobiluncus and other bacterial species cultured from vaginal content of women with bacterial vaginosis. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand B* 1986; 94: 399-403
39. Eschenbach DA, Davick PR, Williams BL, Klebanoff SJ, Young-Smith K, Critchlow CM et al. Prevalence of hydrogen peroxide-producing Lactobacillus species in normal women and women with bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 251-6
40. Hawes SE, Hillier SL, Benedetti J, Stevens CE, Koutsky LA, Wolner-Hanssen P et al. Hydrogen peroxide-producing lactobacilli and acquisition of vaginal infections. *J Infect Dis* 1996; 174: 1058-63
41. Rosenstein IJ, Fontaine EA, Morgan DJ, Sheehan M, Lamont RF, Taylor-Robinson D. Relationship between hydrogen peroxide-producing strains of lactobacilli and vaginosis-associated bacterial species in pregnant women. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 517-22
42. Fitzsimmons N, Berry DR. Inhibition of Candida albicans by Lactobacillus acidophilus: evidence for the involvement of a peroxidase system. *Microbios* 1994; 80: 125-33
43. Sobel JD, Chaim W. Vaginal microbiology of women with acute recurrent vulvovaginal candidiasis. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2497-9
44. McGroarty JA, Reid G. Detection of a Lactobacillus substance that inhibits Escherichia coli. *Can J Microbiol* 1988; 34: 974-8
45. Millsap K, Reid G, van der Mei HC, Busscher HJ. Displacement of Enterococcus faecalis from hydrophobic and hydrophilic substrata by Lactobacillus and Streptococcus spp. as studied in a parallel plate flow chamber. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60: 1867-74
46. Velraeds MM, van de Belt-Gritter B, van der Mei HC, Reid G, Busscher HJ. Interference in initial adhesion of uropathogenic bacteria and yeasts to silicone rubber by a Lactobacillus acidophilus biosurfactant. *J Med Microbiol* 1998; 47: 1081-5
47. Zhang J, Hatch M, Zhang D, Shulman J, Harville E, Thomas AG. Frequency of douching and risk of bacterial vaginosis in African-American women. *Obstet Gynecol* 2004; 104: 756-60
48. Schwebke JR, Desmond RA, Oh MK. Predictors of bacterial vaginosis in adolescent women who douche. *Sex Transm Dis* 2004; 31: 433-6

49. Allsworth JE, Peipert JF. Prevalence of bacterial vaginosis: 2001-2004 National Health and Nutrition Examination Survey data. *Obstet Gynecol* 2007; 109: 114-20
50. Fethers KA, Fairley CK, Hocking JS, Gurrin LC, Bradshaw CS. Sexual risk factors and bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2008; 47: 1426-35
51. Fiscella K, Klebanoff MA. Are racial differences in vaginal pH explained by vaginal flora? *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191: 747-50
52. Ferrer J. Vaginal candidosis: epidemiological and etiological factors. *Int J Gynaecol Obstet* 2000; 71 (Suppl 1): S21-S27
53. Knight RC, Skolimowski IM, Edwards DI. The interaction of reduced metronidazole with DNA. *Biochem Pharmacol* 1978; 27: 2089-93
54. Pradelli L. Topical metronidazole and clotrimazole in the treatment of vulvo-vaginal infections during pregnancy. *Clinical Management Issues* 2007; 1: 21-9
55. Taylor FR, Rodriguez RJ, Parks LW. Relationship between antifungal activity and inhibition of sterol biosynthesis in miconazole, clotrimazole, and 15-azasterol. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 23: 515-21
56. Paavonen J, Mangioni C, Martin MA, Wajszczuk CP. Vaginal clindamycin and oral metronidazole for bacterial vaginosis: a randomized trial. *Obstet Gynecol* 2000; 96: 256-60
57. Livengood CH 3rd, Soper DE, Sheehan KL, Fenner DE, Martens MG, Nelson AL et al. Comparison of once-daily and twice-daily dosing of 0.75% metronidazole gel in the treatment of bacterial vaginosis. *Sex Transm Dis* 1999; 26: 137-42
58. Sobel JD, Ferris D, Schwebke J, Nyirjesy P, Wiesenfeld HC, Peipert J et al. Suppressive antibacterial therapy with 0.75% metronidazole vaginal gel to prevent recurrent bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194: 1283-9
59. Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. *Lancet* 2007; 369: 1961-71
60. Davidson F, Mould RF. Recurrent genital candidosis in women and the effect of intermittent prophylactic treatment. *Br J Vener Dis* 1978; 54: 176-83
61. Chisari G, Lo Bue AM, Gismondo MR. Valutazione in vitro dell'attività antimicrobica dell'associazione metronidazolo clotrimazolo. *Farmaci e Terapia* 1988; 5: 302-8
62. Debbia EA, Campora U, Massaro S, Boldrini E, Schito GC. In vitro activity of metronidazole alone and in combination with clotrimazole against clinical isolates of *Trichomonas vaginalis*. *J Chemother* 1996; 8: 96-101
63. Bertellini C, Baraldi R, Battioni M, Bianchini A, Bertoli C, Guidi G et al. Trattamento delle infezioni vaginali con una crema a base di metronidazolo e clotrimazolo. LXVIII Congresso SIGO-XXXIII Congresso AOGOI, Genova 26-30 aprile 1992, Clas International Edizioni, 1992
64. Trovati GC, Ottaggio G, Brizzi C, Cucuccio S. Trichomoniasi: sperimentazione clinica su una nuova applicazione posologica di metronidazolo per via orale e su una associazione per uso topico con il clotrimazolo. *Gior It Ost Gin* 1984; 12: 1273-83
65. Raffaelli F, Bracchitta R, Santoni G. L'associazione clotrimazolo-metronidazolo nelle cervico-vaginiti ad eziologia mista. *Minerva Ginecol* 1984; 36: 47-57
66. Maresi MP, Baldi L, Bogi G, De Santis R, Guarnotta M, Balatri L et al. Trattamento delle vaginiti infettive con un nuovo preparato per uso topico. *Quad Clin Ost Ginecol* 1991; 56: 104-14
67. Gori G, Bottiglioni F. Impiego del Meclon "1000" crema nel trattamento delle infezioni vaginali. *Quad Clin Ost Ginecol* 1991; 56: 132-40
68. Tartaglia P. Studio clinico relativo all'impiego del Meclon "1000" crema e lavanda nel trattamento delle infezioni vaginali. *Quad Clin Ost Ginecol* 1991; 56: 140-7
69. Furneri PM, Mangiafico A, Corsello S, Cammarata E, D'Arrigo M, Ginestra G et al. Studio dell'attività *in vitro* e *in vivo* dell'associazione clotrimazolo-metronidazolo: attività antimicotica e antibatterica *in vitro* ed efficacia nella terapia delle vaginiti/vaginosi. *Giorn It Ost Gin* 2008; 30: 172-8
70. Donders GGG. Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2007; 21: 355-73
71. Bornstein J, Zarfati D. An universal combination treatment for vaginitis. *Gynecol Obstet Invest* 2008; 65: 195-200
72. Spinillo A, Nicola S, Colonna L, Marangoni E, Cavanna C, Michelone G. Frequency and significance of drug resistance in vulvovaginal candidiasis. *Gynecol Obstet Invest* 1994; 38: 130-3
73. Fidel PL Jr, Vazquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 80-96