



Infezione genitale da *Candida Albicans* e presenza di virus dell'immunodeficienza umana nel secreto cervico-vaginale

Sabrina Graia¹, Maria Diletta Daccò¹, Cinzia Canipari², Barbara Gardella¹,
Arsenio Spinillo¹

¹*Clinica Ostetrico-Ginecologica e* ²*S.C. di Oncologia Medica, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia*

Abstract

Infezione genitale da *Candida Albicans* e presenza di virus dell'immunodeficienza umana nel secreto cervico-vaginale

L'obiettivo di questo studio è quello di valutare l'influenza delle candidosi vulvo-vaginali sintomatiche sulla diffusione dell'HIV-1 nelle secrezioni cervico-vaginali di pazienti sieropositive. Abbiamo ottenuto campioni di sangue e di lavaggi cervico-vaginali di 66 pazienti sieropositive con candidosi vulvo-vaginale sintomatica e campioni di controllo da 249 pazienti sieropositive senza infezione genitale.

Sono stati valutati quantitativamente HIV-1 RNA nel sangue, HIV-1 DNA provirale, trascritti HIV-1 RNA e HIV-1 RNA libero in secrezioni cervico-vaginali mediante PCR e RT-PCR. Abbiamo usato la regressione logistica per le variabili ordinate per valutare l'influenza della candidiasi vulvo-vaginale sulla carica virale nelle secrezioni cervico-vaginali, aggiustandola per potenziali fattori confondenti. Abbiamo quindi riscontrato che l'ammontare dell'HIV RNA nel plasma era significativamente correlato con HIV-1 DNA (Spearman Rank 0.153, P=0.006), trascritti HIV RNA (Spearman Rank 0.169, P=0.003) e carica di HIV RNA libero (Spearman Rank 0.185, P=0.001) nelle secrezioni cervico-vaginali.

Quarantotto di 182 pazienti che erano risultate negative per HIV-1 RNA nel plasma erano positive per HIV DNA nelle loro secrezioni cervico-vaginali.

Mediante regressione logistica la candidiasi vulvo-vaginale era significativamente associata con aumentati livelli di trascritti HIV-1 RNA (ORs 1.97, P=0.025) e HIV RNA libero (ORs 2.03, P=0.02) nelle secrezioni cervico-vaginali.

Nelle donne sieropositive la candidiasi vulvo-vaginale è associata ad un aumentato numero di copie di HIV-RNA libero e associato alle cellule nelle secrezioni cervico-vaginali.

The effect of vaginal candidiasis on the shedding of human immunodeficiency virus in cervicovaginal secretions

The purpose of this study was to evaluate the influence of symptomatic vulvovaginal candidiasis on the shedding of HIV-1 in cervicovaginal secretions of HIV-1 infected women. We obtained paired blood and cervicovaginal lavage samples from 66 HIV-infected women with symptomatic vulvovaginal candidiasis, and 249 HIV-infected control patients without genital infection.

HIV-1 RNA in plasma, proviral HIV-1 DNA, HIV-1 RNA transcripts, and cell-free HIV-1 RNA in cervicovaginal secretions were quantitatively evaluated by competitive Polymerase Chain Reaction (cPCR) and reverse transcriptase PCR (cRT-PCR). We used logistic regression on ordered data to assess the influence of vulvovaginal candidiasis on the HIV-1 load in cervicovaginal secretion adjusting for potential

confounders. Overall, the amount of HIV-1 RNA in plasma was significantly correlated with HIV-1 DNA (Spearman Rank 0.153, $P=0.006$), HIV-1 RNA transcripts (Spearman Rank 0.169, $P=0.003$), and cell-free HIV-1 RNA (Spearman Rank 0.185, $P=0.001$) load in cervicovaginal secretion.

Forty-eight out of 182 (26.4%) patients who tested negative for HIV-1 RNA in plasma were positive for HIV-DNA in their cervicovaginal secretions.

In logistic regression analysis vulvovaginal candidiasis was significantly associated with increasing loads of HIV-1 RNA transcripts (ORs 1.97, $P=0.025$) and cell-free HIV-1 RNA (ORs 2.03, $P=0.02$) in cervicovaginal secretions.

In HIV-infected women, vulvovaginal candidiasis is associated with an increased number of copies of cell-associated and cell-free HIV-1 RNA in cervicovaginal secretions.

Introduzione

In uno studio precedente, è stato riscontrato che le pazienti con colonizzazione vaginale e con infezione da *Candida* mostrano una prevalenza significativamente più alta di HIV-1 RNA libero nelle secrezioni vaginali confrontate con le pazienti di controllo con colture vaginali negative [1]. Anche se non è stata definitivamente stabilita una relazione diretta tra l'infezione vaginale e l'aumento dell'infettività dell'HIV, la valutazione dei fattori che regolano la dinamica della diffusione dell'HIV o il suo ciclo replicativo nel tratto genitale possono essere importanti nei programmi di prevenzione.

Lo scopo dello studio è quello di valutare se la candidosi vulvo-vaginale sia associata ad un aumento di diffusione di HIV-1 DNA provirale, HIV-1 RNA trascritti (associati alle cellule), e HIV-1 RNA libero nel secreto cervico-vaginale. Il riscontro simultaneo di HIV-1 DNA provirale, RNA trascritto e libero nel secreto cervico-vaginale è necessario per valutare sia il passaggio delle cellule HIV-1 infettate dal plasma alle secrezioni vaginali come trasudato, sia la presenza di replicazione attiva locale dell'HIV.

Pazienti e Metodi

Questo studio è parte di un progetto di ricerca più vasto, intrapreso nel 1998, sul ruolo dei fattori clinici e microbiologici modificanti la presenza dell'HIV nel secreto cervico-vaginale delle donne sieropositive. Il progetto di ricerca è stato approvato dal Comitato Etico dell'Università degli Studi di Pavia e dalla Commissione Scientifica del nostro Ospedale (Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia).

La ricerca è stata pianificata come uno studio prospettico osservazionale caso-controllo.

I casi hanno compreso tutte le donne sieropositive con una candidosi vulvo-vaginale sintomatica afferenti all'Ambulatorio delle Malattie Sessualmente Trasmesse nel periodo tra il 1999 ed il 2003. Durante questo periodo, tra 121 donne HIV-sieropositive con sintomi di vaginite (prurito vaginale, bruciore, leucorrea vaginale anomala), sono state diagnosticate 71 infezioni da *Candida*, 38 vaginosi batteriche, 5 infezioni da *Trichomonas vaginalis*, e le rimanenti 7 cause non infettive di irritazione vaginale.

Cinque tra le 71 pazienti con *Candida* sono state escluse dallo studio perché il campione di secreto cervico-vaginale era contaminato di sangue, lasciando 66 pazienti disponibili per le analisi. Le pazienti di controllo sono state reclutate tra le pazienti note sieropositive senza sintomi di vaginite che afferivano al nostro centro nello stesso periodo dei casi per lo *screening* periodico delle neoplasie del tratto genitale inferiore.

Tra 293 donne, 44 (15%) sono state escluse dallo studio o perché colonizzate da *Candida* (20 pazienti) o per riscontro di vaginosi batterica (24 pazienti).

Quindi la popolazione finale compresa nello studio comprende 66 casi con candidosi vulvo-vaginale e 249 pazienti di controllo.

E' stato dato alle pazienti reclutate un questionario dettagliato per la raccolta delle informazioni demografiche e sessuali, e dei dati clinici.

La malattia clinica da HIV è stata studiata utilizzando il sistema di classificazione dei Centri di Controllo e Prevenzione delle Malattie (CDC) [2].

Durante le visite sono stati raccolti campioni di sangue periferico per la stima dei linfociti CD4+ e la quantificazione di HIV-1 RNA nel plasma.

Dopo ispezione con lo *speculum*, sono stati raccolti con tamponi sterili di cotone le secrezioni vaginali per la ricerca di *Candida*, *Trichomonas*, o altri batteri. Per valutare l'infezione da *Candida*, i campioni vaginali sono stati inoculati in terreno agar-destrosio (Sabouraud) contenente gentamicina 40 µg/mL. Le colture sono state incubate a 30°C per 48-72 ore, e poi esaminate per valutarne la crescita. Le colonie isolate sono state identificate usando *Germ Tube Test Auxanogram* (API 20C Aux, API system, Montalieu-Vercieu, France). La diagnosi di vaginosi batterica è stata effettuata secondo i criteri di Amsel e collaboratori [3].

Le secrezioni cervico-vaginali di acidi nucleici HIV-correlati sono state raccolte con un tampone di Dacron nel fornice posteriore, e con un *washing* di 10 mL di RPMI-1640 vaginale, seguito dall'aspirazione della sospensione dopo 1 minuto di permanenza. I tamponi sono stati utilizzati per ricercare HIV-1 RNA libero, mentre l'HIV-1 DNA e i trascritti di HIV-1 RNA intracellulare sono stati ricercati dai campioni di lavaggio. Dopo l'arrivo in laboratorio i campioni centrifugati sono stati esaminati al microscopio per confermare l'assenza di globuli rossi e spermatozoi.

La presenza di sangue è stata ulteriormente controllata usando un test di *screening* per la ricerca di emoglobina (strisce reattive, Multistix -10 Visual, Bayer, Milano, Italia). Una descrizione dettagliata dei metodi utilizzati per la ricerca e quantificazione degli acidi nucleici correlati HIV dal sangue e dalle secrezioni viene riportata in altra sede [4]. I seguenti substrati sono stati analizzati utilizzando la quantificazione della reazione a catena polimerasica (PCR) e la sua trascrizione inversa:

- HIV-1 RNA genomico dal plasma e libero nelle secrezioni vaginali,
- trascritti virus-specifici HIV-1 RNA dalle cellule cervico-vaginali,
- HIV-1 DNA provirale dai nuclei delle cellule cervico-vaginali.

L'analisi quantitativa di specifiche sequenze di RNA e DNA è stata prima eseguita con la PCR usando come coppia di *primer* il SK 426/431 [5]. Campioni di RNA sono stati trascritti al contrario usando 100 U di trascrittasi inversa del virus di leucemia murina Moloney (RT, Gibco Life Technologies, Paisley, Scotland), 20 pmol di SK 431 *primer*, 0.2 mmol/L deossinucleotide trifosfato e 20 U di RNAsi (Gibco Life Technologies).

Il DNA è stato successivamente amplificato usando 50 pmol di primer SK 462 e SK 431, 1.5 U di taq-DNA polimerasi (Perkin-Elmer Cetus, Emeryville, Calif).

La quantificazione dell'HIV-1 DNA e RNA è stata fatta con una PCR competitiva e una PCR a trascrizione inversa come descritto da Menzo e colleghi [5-7]. Usando questo metodo 2 frammenti simili di RNA o DNA sono stati trascritti al contrario o amplificati.

Il primo set (SK 38 / SK 39) era specifico per un frammento altamente conservato GAG del genoma dell'HIV-1, e il metodo è stato utile per l'analisi quantitativa dell'RNA genomico di HIV-1 dal plasma, dai trascritti RNA e dal DNA provirale, dalle cellule mononucleate del sangue periferico. Per i campioni cervico-vaginali, i risultati quantitativi sono stati espressi in numero di copie di HIV-1 RNA trascritti e HIV-1 DNA per 10⁵ cellule, e come numero di copie di HIV-1 RNA libero per mL di secreto cervico-vaginale.

I tamponi sono stati incubati in una quantità predefinita di mezzo di trasporto (1 mL) così è stato possibile conoscere esattamente la quantità di secreto cervico-vaginale presente in ciascun campione (normalmente 200-300 µL). Nelle nostre condizioni sperimentali il più basso limite di riscontro del campione era di 2 copie di DNA o RNA su 10⁵ cellule, 20 copie di RNA/mL di secreto cervico-vaginale e 50 copie di RNA/mL di plasma.

Analisi statistica

Abbiamo usato il test U di Mann-Whitney e il test χ^2 per paragonare i dati continui, nominali e categorici. Un approccio non parametrico (coefficiente di correlazione di Spearman) è stato utilizzato per analizzare le associazioni tra i livelli di acidi nucleici di HIV-1. Le associazioni tra variabili nominali sono state valutate tramite *odds ratio* (ORs) con un intervallo di confidenza (CI) di 95%.

Per valutare l'associazione tra i livelli di HIV-1 rilasciati nelle secrezioni cervico-vaginali e l'infezione vaginale da *Candida*, aggiustandoli per i possibili confondenti, abbiamo utilizzato la regressione logistica su variabili ordinate per categorie. In modelli logaritmici, abbiamo inserito le variabili ordinate per categorie (quantità di HIV nel secreto) come categorie ordinate con 4 livelli di riscontro, mentre le variabili esplicative (l'infezione da *Candida*, il conteggio delle cellule CD4+, la carica di HIV nel plasma) sono state inserite come variabili di categoria.

Tutte le analisi sono state compiute utilizzando il software statistico STATA 8.0 (Stata Corporation, Lakeway Drive, College Station, Tex).

Risultati

L'età media è di 32.1±4.4 anni tra i pazienti con infezione da *Candida*, e di 31.9±4.1 anni nei pazienti di controllo (P=0.7). Le principali caratteristiche demografiche delle pazienti dello studio sono riportate nella tabella 1. Non si sono evidenziate differenze significative tra i due gruppi studiati.

Responsabili dell'infezione vaginale sono risultate: *Candida Albicans* nel 86.4% e *Candida Glabrata* nel 9.1 % dei casi. Nei restanti 3 casi sono stati isolati altre specie di *Candida* (*C. Parapsilosis*, *C. Krusey*, e *C. Cerevisiae*).

L'HIV-1 RNA è stato riscontrato nel sangue del 39.4% delle pazienti con candidosi vaginale e nel 43% delle pazienti di controllo (P=0.3).

Ventiquattro pazienti (36.4%) con infezione vaginale e 77 pazienti di controllo (30.9%) (P=0.4) erano allo stadio C della malattia (condizioni di definizione AIDS). Inoltre, al momento dello studio, l'80.3% dei pazienti con *Candida* e l'85.5% (P=0.3) delle pazienti di controllo stavano assumendo la terapia combinata HAART (*Highly Active Antiretroviral Therapy*).

Per di più i valori di HIV-1 RNA nel plasma erano direttamente correlati con la carica virale di HIV-1 DNA nel secreto cervico-vaginale (Spearman Rank 0.153, P=0.006), di trascritti HIV-1 RNA (Spearman Rank 0.169, P=0.003) e di HIV-1 libero (Spearman Rank 0.185, P=0.001), e inversamente correlate con il conteggio delle cellule CD4+ (Spearman Rank -0.21, P=0.02). Comunque il 26.4% delle pazienti che erano risultate negative al test per l'HIV-1 RNA nel plasma, sono risultate positive per l'HIV-1 DNA nel secreto cervico-vaginale. I corrispettivi quadri per i trascritti HIV-1 RNA e HIV-1 RNA libero sono rispettivamente di 19.2% e di 17%.

Il riscontro di HIV-1 DNA provirale nel secreto cervico-vaginale era più basso nelle donne che assumevano regolarmente la terapia HAART rispetto a quelle non trattate (77/266 paragonate con 21/49, P=0.053).

La tabella 2 riporta i risultati della ricerca degli acidi nucleici HIV correlati nel plasma e nel secreto cervico-vaginale rispetto alla presenza di infezione da *Candida*.

Le cariche di trascritti HIV-1 RNA e HIV-1 RNA libero erano significativamente più alte nelle pazienti con candidosi vulvo-vaginale rispetto a quelle di controllo. Il conteggio medio delle cellule CD4+ era leggermente più basso tra le pazienti con *Candida* rispetto alle pazienti di controllo (352 cellule/mm³, range 9-1150, paragonato con 400 cellule/mm³, range 0-1569, P=0.1) sebbene la differenza fosse di significato statistico *borderline*.

La prevalenza di cellule CD4+ con conteggio <200 mm³ era di 19.7% nei soggetti con infezione da *Candida* e di 12.9 % nelle pazienti di controllo (P=0.16).

Per rendere attendibile l'analisi dei dati ordinati univariabili e multivariabili, la carica virale dell'HIV-1 cervico-vaginale, come si evince dal numero di copie di acidi nucleici virus-correlati, è stata stratificata in 4 livelli. Il primo livello ha incluso i casi negativi, e gli altri tre i terzili di carica virale tra i casi positivi. L'analisi univariata della tendenza ha mostrato che la carica di HIV-1 RNA nel secreto cervico-vaginale, sia nella forma di trascritti HIV-1 RNA che nella forma di HIV-1 RNA libero, era più alta nelle pazienti con infezione da *Candida* che nelle pazienti di controllo (figure 1-3).

Per valutare l'effetto dell'infezione vaginale sulla quantità di acidi nucleici HIV correlati nel secreto cervico-vaginale, aggiustandoli per i potenziali fattori confondenti, abbiamo utilizzato una regressione logistica su dati ordinati. Abbiamo inserito le cariche virali di HIV-1 nel secreto cervico-vaginale in un modello logistico come variabili dipendenti con 4 livelli di riscontro. Le variabili esplicative sono:

- infezione vaginale da *Candida* (si, no);
- presenza di HIV-1 RNA nel plasma (si, no);
- conteggio di cellule CD4+ <200 mm³ (si, no);
- HAART (si, no).

I risultati dell'analisi sono riportati nella tabella 3.

Dopo la correzione per i potenziali confondenti, è emerso che le pazienti con candidosi vulvo-vaginale sintomatica hanno un numero significativamente più alto di trascritti HIV-1 RNA e di copie di HIV-1 RNA libero nel secreto cervico-vaginale rispetto alle pazienti di controllo senza l'infezione vaginale.

Conclusioni

Il tasso di ricerca di acidi nucleici HIV-1 correlati nel secreto cervico-vaginale in questo studio è simile a quello trovato in altre ricerche.

Conformemente agli altri studi, la presenza di HIV-1 RNA nel plasma è il miglior indice della presenza di acidi nucleici HIV-correlati nel secreto cervico-vaginale [8-9]. Tuttavia, circa il 20 % delle pazienti con acidi nucleici HIV-correlati riscontrati nel secreto cervico-vaginale, sono negative per la presenza di HIV-1 RNA nel plasma [8].

Questo suggerisce che i fattori regolanti la replicazione dell'HIV nel tratto genitale possano essere differenti rispetto a quelli modulanti la sua presenza nel sangue [8, 10].

Nel nostro studio, la presenza di candidosi vulvo-vaginale sintomatica era associata a una aumentata carica di acidi nucleici HIV-correlati nel secreto cervico-vaginale. Le potenziali limitazioni di questo studio potrebbero essere correlate al numero di pazienti e al tipo di popolazione studiata. In particolare, la candidosi vulvo-vaginale sintomatica è più frequente e persistente tra le pazienti gravemente immunodepresse. La gravità della immunodepressione è a sua volta associata con i fattori predittivi la presenza degli acidi nucleici HIV-correlati nelle secrezioni cervico-vaginali, come il valore di HIV-1 RNA nel sangue. Per di più, usando definizioni differenti dell'infezione vaginale da *Candida*, Duerr e colleghi [11] suggeriscono che la carica virale alta nel plasma possa essere direttamente associata con il tasso aumentato di candidosi vulvo-vaginale.

Abbiamo cercato di superare queste limitazioni usando metodi multivariabili; dopo la correzione per i potenziali confondenti, l'infezione vaginale da *Candida* era ancora associata a una carica virale aumentata di HIV-1 nel secreto cervico-vaginale.

In uno studio precedente su pazienti HIV-sieropositive [4], abbiamo trovato che il riscontro di HIV-1 RNA libero era leggermente più alto nelle 25 donne con colonizzazione o infezione da *Candida* rispetto alle pazienti di controllo senza infezione vaginale. In questo studio abbiamo deciso di limitare l'analisi solo alle pazienti con candidosi vulvo-vaginale sintomatica, escludendo le pazienti con infezione asintomatica.

Questo approccio è stato scelto per aumentare il potere dello studio perché è più probabile che le pazienti con vaginite sintomatica abbiano un tasso aumentato di diffusione genitale di HIV. Infatti, studi precedenti sulla relazione tra malattia ulcerativa genitale o infiammazione cervico-vaginale e HIV hanno suggerito che la presenza di una risposta infiammatoria locale vaginale possa essere il fattore chiave nella diffusione genitale dell'HIV. In modo particolare Wrigh e collaboratori [12] hanno scoperto che la diffusione dell'HIV-1 nelle secrezioni genitali può essere aumentato fino a 10000 volte più alta nelle donne con infiammazione cervicale.

La relazione tra la candidosi vulvo-vaginale e la diffusione genitale di HIV-1 DNA provirale è stata precedentemente studiata da Mostad e colleghi [13]. Questi autori hanno trovato che l'infezione vaginale da miceti era associata a una probabilità aumentata 2 volte di riscontrare cellule HIV-1 infettate nei tamponi vaginali.

Nello studio di Kovacs e colleghi [14] la presenza di *Candida* vaginale, diagnosticata con l'esame all'idrossido di potassio, era associata a un rischio significativamente più alto di diffusione genitale di HIV-1 libero nell'analisi univariata; tuttavia questo risultato non era confermato poi nell'analisi multivariata. Una delle limitazioni potenziali dello studio di Kovacs era che l'HIV-1 RNA libero era utilizzato come unico *marker* di diffusione genitale.

Secondo altri autori [34], l'infezione genitale può determinare un aumento della diffusione genitale sia di HIV-1 libero che associato alle cellule.

Nel nostro studio ci siamo concentrati sulla diffusione sia di trascritti HIV-1 (associati alle cellule) che di HIV-1 RNA libero. I due tipi di HIV-1 RNA ricercati potrebbero essere i *marker* del passaggio virale dal plasma al secreto vaginale (HIV-1 RNA libero), ma anche della replicazione virale (trascritti HIV-1 RNA).

I nostri risultati suggeriscono che sia la diffusione che la replicazione di HIV nel tratto genitale possono aumentare nelle pazienti con candidosi vulvo-vaginale sintomatica.

Le ragioni biologiche potrebbero essere correlate con la risposta immunologica e infiammatoria suscitata sulla mucosa vaginale dall'infezione da *Candida*.

La vulvo-vaginite sintomatica da *Candida* è associata ad un aumento locale di recettori CD4 che richiamano i linfociti nella mucosa vaginale, cosa che può influenzare la replicazione virale locale [16]. In più, l'eritema e lo stravasamento di fluido vaginale, associato alla infiammazione mucosale conseguente, può facilitare il passaggio di HIV libero nel secreto vaginale [17]. Wang e colleghi, hanno riscontrato che il trattamento della candidosi vaginale era associato ad una riduzione di 3 volte della prevalenza di HIV-1 DNA nel secreto cervico-vaginale [17]. Questo effetto era più marcato nelle pazienti con evidente infiammazione locale come l'eritema vulvare.

Le implicazioni potenziali della aumentata diffusione di HIV tra le pazienti con candidosi vulvo-vaginale può essere rilevante. Data l'alta prevalenza e persistenza di candidosi vulvo-vaginale tra le donne sieropositive, anche un modesto aumento della diffusione genitale di HIV può incrementare il rischio di trasmissione della malattia in modo significativo. Con l'eccezione della malattia ulcerativa genitale, l'effetto delle altre infezioni vaginali sul tasso di trasmissione sessuale o verticale di HIV, non è ancora stato adeguatamente investigato. Comunque, finché i dati definitivi non saranno disponibili, emerge che il trattamento adeguato e la profilassi della candidosi vulvo-vaginale tra le pazienti HIV-infette è consigliabile non solo per curare i sintomi associati, ma anche per ridurre il potenziale rischio di infettività da HIV.

Tabelle e Figure

| | CANDIDOSI VULVOVAGINALE N=66 | PAZIENTI DI CONTROLLO N=249 | P test χ^2 |
|--------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| Grado di istruzione (anni) | | | |
| ≤ 8 | 37 (57.1%) | 157 (63.1%) | 0.49 |
| 9-13 | 24 (36.4%) | 80 (32.1%) | |
| >13 | 5 (7.6%) | 12 (4.8%) | |
| Numero di gravidanze | | | |
| 0 | 21 (31.8%) | 84 (33.7%) | 0.9 |
| 1 | 9 (13.6%) | 37 (14.9%) | |
| >1 | 36 (54.5%) | 128 (51.4%) | |
| Fumo | | | |
| No | 11 (16.7%) | 28 (11.2%) | 0.48 |
| ≤ 10 die | 28 (42.4%) | 108 (43.4%) | |
| >10 die | 27 (40.9%) | 113 (45.4%) | |
| Numero di partner sessuali | | | |
| ≤ 2 | 4 (6.1%) | 20 (8.0%) | 0.64 |
| 3-4 | 30 (45.5%) | 93 (37.3%) | |
| 5-9 | 17 (25.8%) | 78 (31.3%) | |
| ≥ 10 | 15 (22.7%) | 58 (23.3%) | |
| Metodo contraccettivo | | | |
| Nessuno | 23 (34.8%) | 109 (43.8%) | 0.23 |
| Di barriera | 40 (60.6%) | 122 (49.0%) | |
| Ormonale | 3 (4.6%) | 18 (7.2%) | |
| Modo di acquisizione dell'HIV | | | |
| Uso di droghe endovena | 27 (40.9%) | 114 (45.8%) | 0.31 |
| Eterosessuale | 38 (57.6%) | 123 (49.4%) | |
| Altro | 1 (1.5%) | 12 (4.8%) | |
| Esito Pap-test | | | |
| Negativo | 37 (56.1%) | 145 (58.2%) | 0.18 |
| SIL 1 | 23 (34.8%) | 93 (37.3%) | |
| SIL 2 | 6 (9.1%) | 9 (3.6%) | |

Tabella 1. Caratteristiche demografiche in 66 pazienti sieropositive con candidosi vulvo-vaginale sintomatica e 249 pazienti di controllo sieropositive senza infezione vaginale (valori espressi come frequenza assoluta e relativa).

| | CANDIDOSI VULVOVAGINALE N=66 | PAZIENTI DI CONTROLLO N=249 | P test U |
|--|------------------------------------|-----------------------------------|-------------|
| Plasma | | | |
| HIV-1 RNA (copie/mL) | 1800 (100-183.000) | 1150 (50-151.000) | 0.99 |
| Secrezioni cervico-vaginali | | | |
| HIV-1 DNA (copie/ 10^3 cellule) | 50 (5-1000) | 50 (5-500) | 0.07 |
| Trascritti HIV-1 RNA (copie/ 10^5 cellule) | 50 (8-200) | 30 (5-500) | 0.03 |
| HIV-1 RNA libero (copie/mL) | 150 (20-3500) | 50 (10-3800) | 0.028 |

Tabella 2. Carica di HIV-1 nel plasma e nelle secrezioni cervico-vaginali tra i casi e i controlli (valori espressi come media e range).

| | HIV-1 DNA provirale | P |
|---------------------------------|-----------------------------|----------|
| <i>Candidosi vulvo-vaginale</i> | 1.62 (0.93-2.79) | .09 |
| <i>HIV-1 RNA nel plasma</i> | 1.65 (1.03-2.65) | .039 |
| <i>Conta CD4+ <200</i> | 1.60 (0.84-3.04) | .14 |
| <i>HAART</i> | 0.63 (0.34-1.15) | .13 |
| | Trascritti HIV-1 RNA | |
| <i>Candidosi vulvo-vaginale</i> | 1.97 (1.09-3.57) | .025 |
| <i>HIV-1 RNA nel plasma</i> | 1.95 (1.16-3.29) | .011 |
| <i>Conta CD4+ <200</i> | 1.13 (0.55-2.31) | .74 |
| <i>HAART</i> | 0.71 (0.37-1.37) | .31 |
| | HIV-1 RNA libero | |
| <i>Candidosi vulvo-vaginale</i> | 2.03 (1.10-3.37) | .02 |
| <i>HIV-1 RNA nel plasma</i> | 2.11 (1.24-3.59) | .006 |
| <i>Conta CD4+ <200</i> | 1.33 (0.64-2.79) | .45 |
| <i>HAART</i> | 0.57 (0.29-1.12) | .11 |

Tabella 3. Aumento di secrezione di HIV nel secreto cervico-vaginale in base alla candidosi vulvo-vaginale, la presenza di HIV-1 nel plasma, conta di CD4+ nel plasma <200, e HAART (valori espressi come ORs e CI).

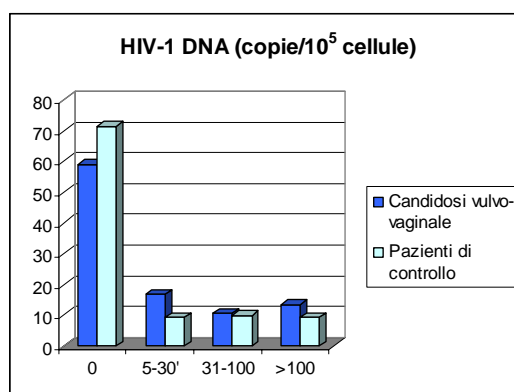


Figura 1. Distribuzione della positività ad HIV-1 DNA stratificato in 4 livelli nelle coorte (% di casi positivi, P=0.125).

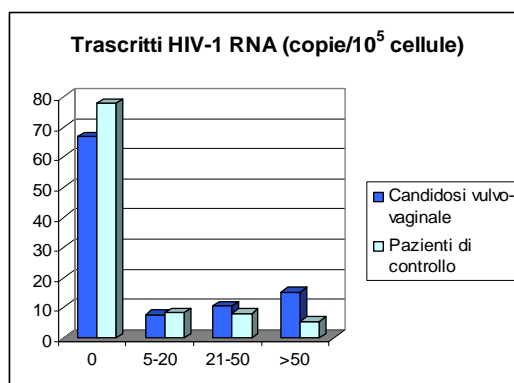


Figura 2. Distribuzione della positività ad HIV-1 RNA trascritti stratificato in 4 livelli nelle coorte (% di casi positivi, P=0.011).

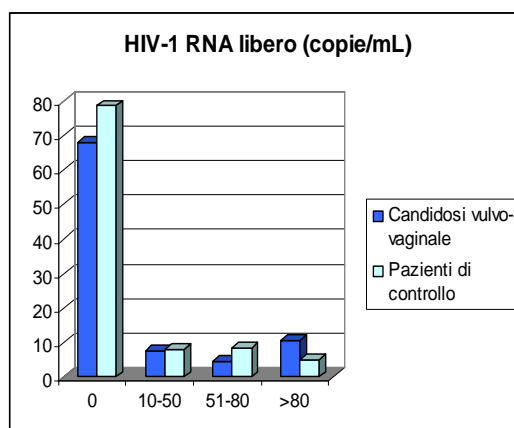


Figura 3. Distribuzione della positività ad HIV-1 RNA libero stratificato in 4 livelli nelle coorte (% di casi positivi, P=0.005).

Bibliografia

1. Spinillo A et al. Factors associated with nucleic acids related to human immunodeficiency virus type 1 in cervico-vaginal secretions. *BJOG* 2001; 108: 634-641.
2. CDC. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR* 1992; 41: 1-15.
3. Amsel R et al. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiological associations. *Am J Med* 1983; 74: 14-22.
4. Debiaggi M, Spinillo A et al. Quantitative assessment of cell-associated and cell-free virus in cervicovaginal samples of HIV-1 infected women. *Clin Microbiol Infect* 1999; 5: 605-611.
5. Menzo S et al. Absolute quantitation of viremia in human immunodeficiency virus infection by competitive reverse transcription and polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1752-1757.
6. Bagnarelli P et al. Dynamics of molecular parameters of human immunodeficiency virus type 1 activity in vivo. *J Virol* 1994; 68: 2495-2502.
7. Bagnarelli P et al. Dynamics and modulation of human immunodeficiency virus type 1 transcripts in vitro e in vivo. *J Virol* 1996; 70: 7603-7613.
8. Rasheed S. Infectivity and dynamics of HIV type 1 replication in the blood and reproductive tract of HIV type 1-infected women. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998; 14: S105-117.
9. Iversen AKN et al. Distinct determinants of human immunodeficiency virus type 1 RNA and DNA loads in vaginal and cervical secretions. *J Infect Dis* 1998; 177: 1214-1220.
10. Cu Uvin S et al. Cervicovaginal human immunodeficiency virus secretion and plasma viral load in human immunodeficiency virus-seropositive women. *Obstet Gynecol* 1997; 90: 739-743.
11. Duerr A et al. Incident and persistent vulvovaginal candidiasis among human immunodeficiency virus-infected women: Risk factors and severity. *Obstet Gynecol* 2003; 101(3): 548-556.
12. Wright TC Jr et al. Human immunodeficiency virus 1 expression in the female genital tract in association with cervical inflammation and ulceration. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184(3): 279-285.
13. Mostad SB et al. Hormonal contraception, vitamin A deficiency, and other risk factors for shedding of HIV-1 infected cells from the cervix and vagina. *Lancet* 1997; 350: 922-927.
14. Kovacs A et al. Determinants of HIV-1 shedding in the genital tract of women. *Lancet* 1997; 350: 1593-1601.
15. Vernazza PL et al. Genital shedding of HIV-1 despite successful antiretroviral therapy. *Lancet* 2001; 358: 1564-1565.
16. Santoni G et al. Immune cell-mediated protection against vaginal candidiasis: evidence for major role of vagina CD4(+) T cells and possible participation of other local lymphocyte effectors. *Infect Immun* 2002; 70: 4791-4791.
17. Wang CC et al. The effect of treatment of vaginal infections on shedding of human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 2001; 183: 1017-1022.