

Lek. med. Magda Nawceniak-Balczerska

„Ocena wykrywalności zakażeń wewnątrzowodniowych na podstawie dostępnych metod diagnostycznych”

Streszczenie

Wstęp

Jednym z problemów współczesnego położnictwa jest zakażenie wewnątrzowodniowe, stanowiące podstawową przyczynę zachorowalności okołoporodowej, umieralności matek, płodów oraz noworodków. Infekcja wewnątrzmaciczna skutkuje często porodem przedwczesnym, a w dalszej kolejności powikłaniami wcześniactwa. Wśród nich należy wymienić: dysplazję oskrzelowo-płucną, krwawienia wewnątrzczaszkowe, zespół zaburzeń oddychania (RDS), martwicze zapalenie jelit (NEC), retinopatię wcześniacza (ROP), mózgowie porażenie dziecięce oraz opóźniony rozwój psychoruchowy. Zakażenie wewnątrzowodniowe jest istotnym problemem medycznym ze względu na powikłania mogące wystąpić również u matki, wśród nich należy wymienić m.in. sepsę, wstrząs septyczny, zakażenia połogowe, krwotok poporodowy, zakończenie ciąży drogą cięcia cesarskiego z powodu nieprawidłowej czynności porodowej, zakażenie rany pooperacyjnej, zakażenie endometrium po porodzie, zespół niewydolności oddechowej oraz koagulopatie. Częstość występowania infekcji wewnątrzmacicznej nie zmienia się od wielu lat pomimo postępu medycyny. Szacuje się, że wikła 2-4% ciąż donoszonych oraz 40-70% ciąż zakończonych przedwcześnie. Etiopatogeneza zakażenia wewnątrzowodniowego jest wieloczynnikowa. Rozwój następuje najczęściej na drodze infekcji wstępującej z pochwy oraz szyjki macicy, drogą krwionośną – przezłożyskową, drogą zstępującą (z jamy otrzewnowej przez jajowody do jamy macicy) oraz jako powikłanie zabiegów inwazyjnych m. in. amniopunkcji, kordocentezy, założenia szwu okrężnego na szyjkę macicy. Najczęstszym spośród wymienionych mechanizmów rozwoju zakażenia jest droga wstępująca, z racji obecności licznych bakterii w wydzielinie pochwowej. Z uwagi na znaczenie problemu jakim jest infekcja wewnątrzmaciczna wciąż poszukiwane są metody ułatwiające identyfikację pacjentek z toczącą się infekcją.

Celem pracy była ocena wykrywalności zakażeń wewnątrzowodniowych na podstawie dostępnych metod diagnostycznych. Realizacja tego zadania polegała na: analizie przydatności oceny stężeń biochemicznych parametrów zapalnych (CRP, PCT, IL-6) we krwi obwodowej, (IL-6 i PCT) płynie owodniowym oraz w wydzielinie pochwowej w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego; analizie przydatności oznaczania stężenia glukozy w płynie owodniowym w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego; analizie przydatności badań mikrobiologicznych (posiewy, PCR) w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego; analizie przydatności badań histopatologicznych popłodu w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego; analizie związku rozpoznania zakażenia wewnątrzmacicznego z wystąpieniem zakażenia wrodzonego u noworodka.

Materiały i metodyka

Badaniami objęto 46 pacjentek rodzących drogą cięcia cesarskiego w Klinice Położnictwa i Ginekologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie w okresie 1.12.2018 -

30.06.2020 oraz 1.11.2020 - 31.12.2021. Do udziału w badaniu kwalifikowano losowo pacjentki, u których ciążę rozwiązywano cięciem cesarskim. Podział na grupy nastąpił po uzyskaniu wyników badań histopatologicznych, które uznano za potwierdzające i weryfikujące obecność zakażenia wewnątrzmacicznego.

Pacjentki ciężarne podzielono na dwie grupy:

- grupę badaną stanowiło 12 pacjentek z zakażeniem wewnątrzrodniowym
- grupę kontrolną stanowiło 36 pacjentek bez zakażenia wewnątrzrodniowego

Celem oceny zgodności rozpoznania zakażenia wewnątrzrodniowego u rodzącej z rozpoznaniem zakażenia o wczesnym początku u noworodka, przeprowadzona została analiza dokumentacji medycznej noworodka, z uwzględnieniem stanu klinicznego, stosowania antybiotykoterapii oraz długości hospitalizacji.

W dniu rozwiązania drogą cięcia cesarskiego pobierano:

- krew żylną pacjentki w celu oznaczenia stężeń CRP, IL-6, PCT,
- wydzielinę z pochwy celem oznaczenia stężeń IL-6, PCT,
- wymaz z kanału szyjki macicy w celu wykonania posiewów w kierunku bakterii tlenowych i beztlenowych oraz atypowych (*Ureaplasma spp.*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*), grzybów, PCR w kierunku *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* i *Chlamydia trachomatis*,
- płyn owodniowy celem wykonania posiewu w kierunku bakterii tlenowych, beztlenowych oraz PCR w kierunku patogenów atypowych: *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* oraz celem oznaczenia stężeń glukozy, IL-6, PCT.
- fragment łożyska i błon płodowych celem oceny histopatologicznej nacieku zapalnego.

Leukocytoza w krwi obwodowej wykonywana była przy użyciu aparatu Cell-Dyn 3500 firmy Abbott. Stężenie białka C-reaktywnego w krwi obwodowej oceniano za pomocą testu opartego na kasecie COBAS INTEGRA 800 C-Reactive Protein (Latex CRPLX). Do oceny stężenia interelukiny-6 oraz prokalcytoniny wykorzystano metodę elektrochemiluminescencji z użyciem kasety COBAS 801. Stężenie interleukiny-6 w wydzielinie z pochwy została oznaczona za pomocą testu Atellica IM IL6, techniką chemiluminescencji, natomiast stężenie prokalcytoniny w wydzielinie z pochwy została oznaczona przy użyciu testu Atellica IM BRAHMS PCT, wykorzystując technologię bezpośredniej chemiluminescencji oraz 3 monoklonalne przeciwciała mysie swoiste względem PCT. Wykonano posiew w kierunku bakterii tlenowych i grzybów, beztlenowych oraz w kierunku patogenów atypowych: *Ureaplasma spp.*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* z wymazu z kanału szyjki macicy. Do posiewu wydzieliny z kanału szyjki macicy w kierunku bakterii tlenowych, beztlenowych i grzybów wykorzystano podłoża stałe. Natomiast badanie w kierunku patogenów atypowych wykonano z użyciem testu MYCOPLASMA IST 3 firmy Biomerieux, a w kierunku *Chlamydia trachomatis* wykonano z użyciem testu kasetkowego NADAL *Chlamydia Test* firmy nal von minden GmbH. Wykonano również, badanie molekularne wymazu z kanału szyjki macicy metodą Real-Time PCR w kierunku *Ureaplasma urealyticum*,

Mycoplasma hominis oraz *Chlamydia trachomatis*. Wykonano posiew płynu owodniowego w kierunku bakterii tlenowych i grzybów oraz bakterii beztlenowych oraz badanie molekularne metodą Real-Time PCR w kierunku patogenów atypowych. W płynie owodniowym oznaczano również stężenie IL-6 w płynie owodniowym za pomocą testu Atellica IM IL6, stężenie PCT w przy użyciu testu Atellica IM BRAHMS PCT, natomiast stężenie glukozy oznaczono przy użyciu testu Atellica CH Glucose Hexokinase_3. Popłód oceniono pod kątem występowania nacieku zapalnego w obrębie błon płodowych i łożyska.

Wyniki

Wszystkie pacjentki z grupy badanej w dniu rozwiązania były w ciąży niedonoszonej. W grupie kontrolnej 26,5% stanowiły pacjentki w ciąży poniżej 37 t.c. Wszystkie pacjentki uczestniczące w badaniu zostały rozwiązane cięciem cesarskim. U 91,66% (11/12) noworodków pacjentek z grupy z zakażeniem wewnątrzowodniowym rozpoznano zakażenie wrodzone. Mediana stężenia IL-6 we krwi wynosiła w grupie badanej 6,3 pg/ml vs 2,6 pg/ml w grupie kontrolnej ($p=0,008$), w wydzielinie pochwowej 9,65 pg/ml vs 2,7 pg/ml ($p<0,0001$) oraz w płynie owodniowym 920 pg/ml vs 221,8 pg/ml ($p=0,04$). Mediana stężenia PCT we krwi była równa 0,06 ng/ml vs 0,05 ng/ml ($p=0,19$), w wydzielinie pochwowej 0,04 ng/ml vs 0,03 ng/ml ($p<0,0001$), w płynie owodniowym 0,07 ng/ml vs 0,06 ng/ml ($p=0,02$). Mediana CRP we krwi wynosiła 7,36 mg/l vs 2,99 mg/l ($p=0,15$). Mediana stężenia glukozy w płynie owodniowym była równa w grupie kontrolnej 16 mg/dl vs 25 mg/dl ($p=0,002$). Najczęstszym typem zakażenia w wymazie szyjki macicy było zakażenie grzybicze oraz wzrost bakterii tlenowych, co dotyczyło 11% pacjentek, z kolei 5% pacjentek cierpiało z powodu zakażenia mieszanego związanego ze wzrostem flory grzybiczej i bakterii tlenowych. W przypadku posiewu płynu owodniowego, najczęstszymi patogenami były bakterie tlenowe, a problem ten dotyczył 5% wszystkich pacjentek. Obecność *Ureaplasma spp.* wykryto w przypadku 26% preparatów z wymazu szyjki macicy wykonanych metodą posiewu oraz ponad 30% wykonanych metodą PCR. W przypadku płynu owodniowego obecność *Ureaplasma urealyticum* wykryto w niecałych 5% preparatów. W płynie owodniowym nie wykryto patogenów atypowych takich jak: *Mycoplasma hominis* oraz *Chlamydia trachomatis*, a zakażenie *Ureaplasma urealyticum* dotyczyło jedynie 5% badanych preparatów. Wyniki analizy statystycznej pokazały, że nie istnieją statystycznie istotne różnice między metodą posiewu oraz metodą PCR ($p=0,13$). Badanie histopatologiczne popłodów wykazało, że u prawie 65% pacjentek, nie stwierdzono istotnych zmian zapalnych w popłodzie, natomiast u 26% pacjentek takie zmiany wykryto. We wszystkich przypadkach zmiany zapalne dotyczyły jedynie błon płodowych. W analizowanym materiale w grupie badanej uzyskano tylko 3 dodatnie wyniki posiewów z płynu owodniowego (3/12, tj. 25%). W związku z tym różnica między rozpoznaniem zakażenia wewnątrzowodniowego metodą posiewu z płynu owodniowego, a metodą badania histopatologicznego była istotna ($p=0,03$). Wyniki analizy regresji logistycznej pokazały, że podwyższenie IL-6 we krwi, wydzielinie pochwowej, płynie owodniowym oraz PCT w wydzielinie pochwowej i płynie owodniowym było związane ze wzrostem ryzyka wystąpienia zakażenia wewnątrzmacicznego. Wzrost stężenia glukozy w płynie owodniowym był natomiast związany ze spadkiem ryzyka zakażenia wewnątrzmacicznego. Analiza krzywej ROC wykazała dla CRP we krwi AUC 0,63; czułość 58%, swoistość 89%, dla IL-6 we krwi AUC 0,72; czułość 75% i swoistość 85%, dla IL-6 w wydzielinie pochwowej AUC 0,95; czułość 92%, swoistość 96%, dla IL-6 w płynie

owodniowym AUC 0,88; czułość 83%, swoistość 97%. Analiza ROC wykazała dla PCT we krwi AUC 0,66; czułość 67%, swoistość 70%, dla PCT w wydzielinie pochwowej AUC 0,83; czułość 73%, swoistość 96%, dla PCT w płynie owodniowym AUC 0,79; czułość 67%, swoistość 87%, dla stężenia glukozy w płynie owodniowym AUC 0,93; czułość 100% i swoistość 80%.

Wnioski

Oznaczenie Il-6 we krwi pacjentki jest bardzo przydatne w detekcji infekcji wewnątrzmacicznej. Jest to metoda dostępna w większości ośrodków klinicznych, przez co może być powszechnie używana, a oznaczenia wielokrotnie powtarzane. Oznaczenie Il-6 i PCT w wydzielinie pochwowej można uznać za metodę pomocną w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzowodniowego. Prostota pobrania materiału i krótki czas potrzebny na uzyskanie wyniku, daje możliwość wielokrotnego powtarzania oznaczeń, co może okazać się istotne w podejmowaniu bardzo trudnych klinicznie decyzji o zakończeniu ciąży niedonoszonej. Oznaczenie Il-6 i PCT w płynie owodniowym pobranym w trakcie cięcia cesarskiego, dostarcza informacji o toczącym się procesie zapalnym, co przekłada się bezpośrednio na postępowanie z noworodkiem. Oznaczenie stężenia glukozy w płynie owodniowym jest pomocą metodą w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego. Dużo większą wartość ma uzyskanie wyniku w trakcie ciąży, a nie w momencie rozwiązania. Jednak wiąże się to z koniecznością wykonania amniopunkcji, która obarczona jest ryzykiem wystąpienia powikłań zarówno dla matki jak i dla płodu. Rozpoznanie zakażenia wewnątrzowodniowego prawie zawsze wiąże się z wystąpieniem wrodzonego zakażenia u noworodka. Wyniki badania mikrobiologicznych płynu owodniowego pobranego w trakcie cięcia cesarskiego obarczone są zbyt dużym błędem, aby móc uznać metodę tę jako przydatną w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzowodniowego. Uzyskanie wyników ujemnych wcale nie wyklucza zakażenia.