

**POMORSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W SZCZECINIE**



**Lek. med. Magda Nawceniak-Balczerska**

**Ocena wykrywalności zakażeń wewnątrzodniowych na podstawie  
dostępnych metod diagnostycznych**

*Rozprawa doktorska w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu*

*Dyscyplina nauki medyczne*

*Promotor: prof.dr hab.n.med. Agnieszka Kordek*

**Szczecin 2023 r.**

*Za wyrozumiałość przy realizacji tej pracy  
pragnę złożyć podziękowania Pani promotor prof. dr hab. n. med. Agnieszce Kordek.*

*Gorące podziękowania kieruję  
do wszystkich osób na co dzień wspierających mnie w pisaniu rozprawy .  
Dziękuję za Waszą cierpliwość .*

## Wykaz skrótów

BV- bakteryjna waginoza

CMV- cytomegalovirus

CRP- białko C- reaktywne

HCV- wirus zapalenia wątroby typu C ( Hepatitis C virus)

HE- barwienie hematoksyliną i eozyną

HIV- ludzki wirus niedoboru odporności ( Human immunodeficiency virus)

HSV- wirus opryszczki pospolitej (Herpes simplex virus)

IAI- zakażenie wewnątrzrodniowe (Intra-amniotic Infection)

IL-6- interleukina 6

NEC- martwicze zapalenie jelit (Necrotizing Enterocolitis)

PCR- reakcja łańcuchowa polimerazy ( polymerase chain reaction)

PCT- prokalcytonina

pPROM- (preterm prelabor rupture of membranes) – przedwczesne pęknięcie błon płodowych przed 37 t.c

RDS- zespół niewydolności oddechowej (Respiratory Distress Syndrome)

ROP- retinopatia wcześniacza (Retinopathy of prematurity )

TORCH- jest akronimem pochodzącym od angielskich nazw czynników infekcyjnych (Toxoplasmosis – toksoplazmoza, Other – inne (ospa wietrzna, wirus B19), Rubella – różyczka, Cytomegalovirus – cytomegalia, Herpes simplex – wirus opryszczki)

WBC- liczba białych krwinek (white blood cell count)

VZV- wirus ospy wietrznej i półpaśca ( Varicella Zoster Virus)

# Spis treści

Wykaz skrótów .....	3
1. Wstęp .....	6
1.1 Epidemiologia .....	6
1.2 Etiopatogeneza .....	7
1.3 Objawy kliniczne .....	12
1.4 Diagnostyka .....	14
1.5. Leczenie .....	16
1.6 Profilaktyka .....	19
Profilaktyka zakażenia wewnątrzowodniowego o etiologii bakteryjnej waginozy .....	20
Profilaktyka zakażenia wewnątrzowodniowego w przedwczesnym pęknięciu pęcherza płodowego przed 37 tygodniem ciąży (pPROM) .....	21
Profilaktyka zakażenia paciorkowcami grupy B .....	22
2. Cel pracy .....	25
Cel główny .....	25
Cele szczegółowe .....	25
3. Materiał i metodyka .....	26
3.1. Materiał .....	26
3.2. Metodyka .....	27
3. Analiza statystyczna .....	29
4.1 Ogólna charakterystyka grup .....	30
4.2 Analiza parametrów stanu zapalnego we krwi, wydzielinie pochwowej oraz płynie owodniowym .....	32
4.3 Analiza stężenia glukozy w płynie owodniowym .....	37
4.4 Ocena przydatności badań mikrobiologicznych w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego .....	37
Porównanie wyników posiewów mikrobiologicznych z wymazu z szyjki macicy i z płynu owodniowego .....	37
Porównanie wyników posiewów mikrobiologicznych oraz analiz metodą PCR w kierunku obecności <i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Mycoplasma hominis</i> oraz <i>Chlamydia trachomatis</i> . .....	38

<b>Procentowy rozkład wykonanych posiewów mikrobiologicznych oraz PCR w kierunku patogenów atypowych w poszczególnych grupach.....</b>	<b>39</b>
<b>Porównanie metod posiewu mikrobiologicznego oraz analizy PCR z wymazu szyjki macicy w kierunku <i>Ureaplasma spp.</i>.....</b>	<b>44</b>
<b>4.5 Analiza wyników badania histopatologicznego. ....</b>	<b>45</b>
<b>Porównanie metod mikrobiologicznych i histopatologicznych w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzowodniowego. ....</b>	<b>47</b>
<b>4.6 Ocena związku wybranych parametrów biochemicznych z wystąpieniem zakażenia wewnątrzmacicznego.....</b>	<b>48</b>
<b>5. Dyskusja i omówienie wyników.....</b>	<b>50</b>
<b>Określenie czy stężenie CRP we krwi ma związek z wystąpieniem zakażenia wewnątrzmacicznego.....</b>	<b>50</b>
<b>Określenie czy stężenie IL-6 we krwi, w wydzielinie pochwowej oraz w płynie owodniowym ma związek z wystąpieniem zakażenia wewnątrzmacicznego. ....</b>	<b>51</b>
<b>Określenie czy stężenie prokalcytoniny we krwi, wydzielinie pochwowej oraz płynie owodniowym ma związek z wystąpieniem zakażenia wewnątrzmacicznego. ....</b>	<b>56</b>
<b>Określenie czy stężenie glukozy w płynie owodniowym ma związek z wystąpieniem zakażenia wewnątrzowodniowego. ....</b>	<b>60</b>
<b>Ocena przydatności badań mikrobiologicznych w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego.....</b>	<b>62</b>
<b>6. Wnioski.....</b>	<b>66</b>
<b>7. Bibliografia.....</b>	<b>67</b>
<b>8. Streszczenie.....</b>	<b>73</b>
<b>9. Summary.....</b>	<b>78</b>
<b>10. Spis tabel, rycin, wykresów oraz rysunków.....</b>	<b>83</b>
<b>Załącznik nr 1 : Informacja dla pacjentki.....</b>	<b>85</b>

# 1. Wstęp

Współczesne położnictwo, mimo ogromnego rozwoju medycyny wciąż zmagają się z wieloma problemami klinicznymi. Jednym z nich jest zakażenie wewnątrzrodniowe, które stanowi podstawową przyczynę zachorowalności okołoporodowej, umieralności matek, płodów oraz noworodków. Infekcja wewnątrzmaciczna skutkuje często porodem przedwczesnym, a w dalszej kolejności powikłaniami wcześniactwa. W 2021 r. w Polsce odbyło się 25 624 porodów przedwczesnych, co stanowi 7,18% wszystkich porodów [1]. Dane te pokazują skalę problemu jakim jest poród przedwczesny oraz związane z nim powikłania. Wśród powikłań wcześniactwa należy wymienić: dysplazję oskrzelowo-płucną, krwawienia wewnątrzczaszkowe, zespół zaburzeń oddychania (RDS), martwicze zapalenie jelit (NEC), retinopatię wcześniaczą (ROP), mózgowie porażenie dziecięce oraz opóźniony rozwój psychoruchowy. Odległe konsekwencje wcześniactwa stanowią istotny problem w wymiarze ekonomicznym, socjologicznym oraz psychologicznym. Dzieci przedwcześnie urodzone wymagają przez długie lata wielokierunkowej wielospecjalistycznej opieki medycznej oraz wsparcia rozwoju psychoruchowego.

Zakażenie wewnątrzrodniowe jest istotnym problemem medycznym ze względu na powikłania mogące wystąpić 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 [2]. Cięcia cesarskie wykonane u pacjentki z zakażeniem wewnątrzrodniowym związane jest ze wzrostem ryzyka ciężkiej niedokrwistości z koniecznością transfuzji krwi, powstania ropnia miednicy oraz septycznego, zakrzepowego zapalenia żył miednicy [3].

Pomimo rozwoju współczesnej medycyny nie ma jednoznacznie ustalonego schematu diagnostyki, terapii oraz profilaktyki zakażenia wewnątrzrodniowego.

## 1.1 Epidemiologia

Częstość występowania zakażenia wewnątrzrodniowego jest trudna do oszacowania ze względu na różnorodne kryteria diagnostyczne. Gibbs i wsp. wykazali częstość występowania infekcji wewnątrzmacicznej u 1-5% ciężarnych. Do grupy wysokiego ryzyka zakażenia wewnątrzrodniowego zaliczamy: pacjentki z przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego, z przedłużającym się porodem, z monitorowaniem wewnętrznym płodu czy też

wielokrotnie badane przez pochwę. Wśród tych ciężarnych widoczny jest wyraźny wzrost częstości występowania sięgający 4- 10,5% [4]. Na podstawie innego badania szacuje się, że zakażenie wewnątrzodniowe włośnicy około 2-4 % ciąży donoszonych [5] oraz około 40-70% ciąży zakończonych przedwcześnie [6]. Mueller-Heubach i wsp. rozpoznali zakażenie wewnątrzodniowe na podstawie badania histopatologicznego u 95 % kobiet, których ciąża zakończyła się pomiędzy 21-24 tygodniem oraz u 10 % pacjentek rodzących między 33-36 tygodniem ciąży [7].

## 1.2 Etiopatogeneza

Rozwój zakażenia wewnątrzodniowego 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.

Zakażenie wewnątrzodniowe rozwijające się na drodze wstępującej można podzielić na etapy. Pierwszy etap dotyczy namnażania się drobnoustrojów patogennych w obrębie pochwy i szyjki macicy. Drugi etap polega na penetracji czynników chorobotwórczych do jamy macicy, co w konsekwencji powoduje zapalenie doczesnej. W kolejnym etapie dochodzi do rozprzestrzeniania się infekcji na naczynia krwionośne kosmówki i /lub owodnię powodując wewnątrzodniowe zakażenie, które ostatecznie skutkuje zakażeniem płodu.

Zakażenie krwiopochodne jest dużo rzadszą drogą infekcji. W ten sposób dochodzi do zakażeń objętych akronimem TORCH. Drobnoustroje przedostają się do płodu przez łożysko z krwi matki, pokonując po drodze naczynia włosowate oraz przestrzenie międzykosmkowe. Wirusy są znacznie częstszym krwiopochodnym czynnikiem sprawczym niż bakterie, z racji niewielkich rozmiarów. W konsekwencji ryzyko zakażeń wirusowych płodu w ciąży wynosi 6-8% w porównaniu z ryzykiem zakażeń bakteryjnych nieprzekraczającym 1% na drodze krwiopochodnej. Patogenami wywołującymi zakażenie wewnątrzodniowe przezłożyskowe są najczęściej: wirus różyczki, cytomegalii (CMV), opryszczki (HSV), parwowirus B19, wirus ospy wietrznej (VZV), ludzki wirus niedoboru odporności (HIV), wirus zapalenia

wątroby typu C (HCV), *Toxoplasma gondii*, *Listeria monocytogenes*, *Treponema pallidum*, prątki gruźlicy.

Zakażenie wewnątrzowodniowe wywołane obecnością ognisk zakażenia w jamie brzusznej należy do rzadkości.

Szacuje się, że ryzyko infekcji w wyniku przeprowadzenia amniopunkcji wynosi ok 1%, natomiast ryzyko związane z założeniem szwu okrężnego na szyjkę macicy ok 2 - 8 % i jest wprost proporcjonalne do rozwarcia kanału szyjki macicy przed zabiegiem [8].

Zakażenie wewnątrzowodniowe spowodowane jest czasami więcej niż jednym drobnoustrojem. Patogenami wykrywanymi najczęściej w płynie owodniowym są *Ureaplasma urealyticum* oraz *Mycoplasma hominis* w 30-47% przypadków zakażeń [8]. Pozostałymi czynnikami chorobotwórczymi hodowanymi z posiewu płynu owodniowego są przede wszystkim bakterie z grupy: *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacterioides spp.*, *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis*, *Mobiluncus spp.*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella bivia*, *Clostridium barati* [8, 9].

Nieuszkodzone błony płodowe oraz błona śluzowa kanału szyjki macicy stanowią barierę zapobiegającą inwazji bakterii do jamy owodni. W sytuacji zachwiania równowagi ekosystemu pochwy, może dojść do kolonizacji błon płodowych, czego konsekwencją jest ich osłabienie w wyniku produkcji enzymów proteolitycznych przez drobnoustroje. Innym mechanizmem prowadzącym do przedwczesnego pęknięcia błon płodowych jest aktywacja leukocytów wielojądrzastych, odpowiedzialnych za hydrolizę kolagenu owodni.

Prawidłowa wydzielina pochwy zawiera ponad 100 rodzajów bakterii tlenowych oraz beztlenowych. Pałeczki z rodzaju *Lactobacillus* stanowiące 96% prawidłowej flory bakteryjnej pochwy, odpowiedzialne są za utrzymanie stałego kwaśnego pH środowiska pochwy w wyniku produkcji kwasu mlekowego z fermentacji węglowodanów komórek nabłonka pochwy. Wytwarzają one nadtlenek wodoru - substancję toksyczną dla innych drobnoustrojów. Wszystkie te cechy odpowiedzialne są za hamowanie namnażania się patogenów chorobotwórczych w pochwie. Pozostałe bakterie wchodzące w skład ekosystemu pochwy to przede wszystkim bakterie z rodzaju: *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Gardnerella*, *Bacterioides*, *Mobiluncus*, *Ureaplasma*, *Mycoplasma*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella*.

Stan, w którym prawidłowa, dominująca flora bakteryjna pochwy - *Lactobacillus spp.* zastępowana jest potencjalnie patogennymi mikroorganizmami bytującymi w pochwie w



warunkach prawidłowych w mniejszej ilości, zwany jest bakteryjną waginozą. W jej przebiegu dochodzi do około tysiąckrotnego wzrostu liczebności potencjalnie patogennych drobnoustrojów, głównie beztlenowych. Stosunek bakterii tlenowych do beztlenowych wynosi wtedy 1:10. Wśród drobnoustrojów potencjalnie patogennych należy wymienić m. in.: *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella spp.*, *Peptostreptococcus*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mobiluncus spp.*, *Bacteroides spp.* U ciężarnych bakteryjna waginoza występuje w 5-41% przypadków [8]. Napisano wiele prac poświęconych bakteryjnej waginozie jako przyczynie zakażenia wewnątrzrodniowego. Między innymi Krohn i wsp. wykazali związek pomiędzy obecnością bakteryjnej waginozy, a częstszym występowaniem zakażenia wewnątrzrodniowego [9].

U większości pacjentek bakteryjna waginoza przebiega bezobjawowo lub skąpoobjawowo. Rozpoznanie kliniczne opiera się na stwierdzeniu 3 z 4 kryteriów (wg Amsela).

Kryteria wg Amsela:

- Jednorodna, białoszara wydzielina pochwową
- Wzrost pH pochwy > 4,5
- Komórki jeżowe tzw. *Clue cells* w preparacie mikroskopowym (złuszczone komórki nabłonka pochwy opłaszczone bakteriami beztlenowymi).
- Rybi zapach - dodatni test zapachowy z KOH [8].

Stwierdzenie BV na podstawie kryteriów przedstawionych powyżej jest łatwe oraz tanie, niestety charakteryzuje się mniejszym wskaźnikiem powtarzalności.

Wśród innych metod diagnostycznych należy wymienić barwienie wymazu z pochwy metodą Grama z następową oceną materiału w skali Haya-Isona lub skali Nugenta.

Skala Nugenta opiera się na ocenie stosunku ilościowego 4 morfotypów bakterii tj.: *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Gardnerella vaginalis* oraz *Mobiluncus* w bezpośrednich preparatach wymazów pobranych z pochwy, barwionych metodą Grama. W celu stwierdzenia bakteryjnej waginozy należy obliczyć liczbę punktów, dodając wykrytą liczbę morfotypów bakterii: *Lactobacillus*, *Mobiluncus*, *Gardnerella vaginalis* oraz *Bacteroides*.

Tab. II. Kryteria Nugenta w diagnostyce BV

Obecność morfotypów	Liczba drobnoustrojów	Liczba punktów
<i>Lactobacillus</i> spp.	> 30	0
	5–30	1
	1–4	2
	< 1	3
	0	4
<i>Mobiluncus</i> spp.	≥ 5	2
	1–4	1
	0	0
<i>G. vaginalis</i> i <i>Bacteroides</i> spp.	> 30	4
	5–30	3
	1–4	2
	< 1	1
	0	0

Źródło: Donders, 2007

- 0-3 punktów – stan prawidłowy
- 4-6 punktów – stan pośredni
- 7-10 punktów – bakteryjna waginoza [10].

Wyniki uzyskane na podstawie skali Nugenta charakteryzują się większą powtarzalnością w wykrywaniu BV [11]. Taj i wsp. wykazali, że skala Nugenta jest najczulszą metodą potwierdzającą BV u kobiet w ciąży (czułość 97%, swoistość 98%) [12].

Skala Haya i Isona, dużo prostsza i zarazem szybsza metoda diagnostyki bakteryjnej waginozy, która opiera się na identyfikacji tych samych morfotypów bakterii co skala Nugenta:

- stan prawidłowy: dominacja pałeczek *Lactobacillus*
- stan pośredni: flora mieszana (pałeczki *Lactobacillus*, bakterie *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*)
- bakteryjna waginoza: dominują bakterie *Gardnerella*, *Mobiluncus*, natomiast *Lactobacillus* występuje w niewielkiej ilości lub wcale [8].

Wiele kontrowersji budzi leczenie bakteryjnej waginozy u bezobjawowych ciężarnych na podstawie jedynie wyniku laboratoryjnego. Bezsprzecznie należy wdrożyć leczenie w

momencie stwierdzenia objawów chorobowych lub też u pacjentki z czynnikami ryzyka porodu przedwczesnego celem prewencji rozwoju infekcji wstępującej.

Podłożem dla rozwoju zakażenia wewnątrzodniowego może być naruszenie równowagi ekosystemu pochwy, w wyniku czego dochodzi do kolonizacji bakteryjnej błon płodowych. Najczęściej wykrywanymi patogenami odpowiedzialnymi za zakażenie w płynie owodniowym są *Ureaplasma urealyticum* oraz *Mycoplasma hominis* [8]. Mykoplazmy te stymulują produkcję prostaglandyn w błonach płodowych, doczesnej oraz mięśniówce macicy, co w konsekwencji prowadzi do wywołania czynności skurczowej macicy oraz do porodu przedwczesnego. Zakażenie wewnątrzodniowe o etiologii *Ureaplasma* spp. oraz *Mycoplasma hominis* stanowi zagrożenie dla noworodka w postaci zwiększonego ryzyka rozwoju m.in. dysplazji oskrzelowo-płucnej, wylewów wewnątrzczaszkowych, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenia płuc oraz martwiczego zapalenia jelit [8].

W Polsce rutynowo nie wykonuje się diagnostyki w kierunku obecności mykoplazm urogenitalnych, dlatego też skala nosicielstwa w polskiej populacji nie jest do końca znana. Mykoplazmy urogenitalne do których możemy zaliczyć m.in. *Ureaplasma urealyticum* oraz *Mycoplasma hominis* są to organizmy posiadające charakterystyczne cechy, m.in.: brak ściany komórkowej oraz niewielkie rozmiary. W praktyce wykrywanie omawianych patogenów opiera się głównie na metodzie hodowlanej. Procedura ta wymaga selektywnych podłoży oraz inkubacji w specjalnych warunkach, co stwarza znaczne ryzyko błędu. Natomiast metoda oparta na zastosowaniu diagnostyki molekularnej (PCR), poza wyższą czułością, ułatwia uzyskanie wyniku znacznie szybciej oraz umożliwia identyfikację konkretnych gatunków mykoplazm [13].

Dane pochodzące z piśmiennictwa sugerują, że około 90 % kobiet czynnych seksualnie może być nosicielkami ureoplazm, natomiast nosicielstwo *Mycoplasma hominis* dotyczy 20-50% kobiet. Inne doniesienia sugerują poziom kolonizacji rzędu 40-70% [13]. Matasariu i wsp. wykazali występowanie *Ureaplasma urealyticum* u 40,2- 57,3% pacjentek z pPROM pomiędzy 17- 37 tygodniem ciąży, jednak im niższy wiek ciążowy tym częstsze zakażenie *Ureaplasma urealyticum* [14].

Wielu autorów dużą uwagę poświęca roli mykoplazm urogenitalnych w patogenezie infekcji wewnątrzmacicznej. Kacerovsky i wsp. dowiedli, że obecność DNA *Ureaplasma* sp. w wymazie z kanału szyjki macicy zwiększa ryzyko rozwoju zakażenia wewnątrzodniowego oraz zmian zapalnych w łożysku u pacjentek z pPROM [15].

Podsumowując należy stwierdzić, że mykoplazmy urogenitalne odpowiedzialne są za ponad połowę porodów przedwczesnych. U noworodka mogą skutkować niższą punkcją w skali Apgar, zakażeniem ogólnoustrojowym oraz m.in. rozwojem dysplazji oskrzelowo-płucnej [16].

### 1.3 Objawy kliniczne

Stwierdzenie objawów klinicznych zakażenia wewnątrzowodniowego możliwe jest w przypadku 0,5-2% wszystkich ciąż, natomiast w grupach wysokiego ryzyka w 4-10,5% przypadków. Do grup wysokiego ryzyka zaliczamy w szczególności pacjentki z przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego w ciążach niedonoszonych oraz pacjentki z inwazyjnym monitorowaniem wewnątrzmacicznym [8].

Klinicznie zakażenie wewnątrzowodniowe można rozpoznać na podstawie m.in. kryteriów Gibbsa, Lencki lub klasyfikacji klinicznej Triple I (*Intrauterine inflammation, infection, or both* - Potrójne Rozpoznanie Zakażenia).

Kryteria Gibbsa, są to najczęściej stosowane kryteria kliniczne zakażenia wewnątrzowodniowego. Należą do nich wzrost temperatury ciała  $> 37,8^{\circ}\text{C}$  oraz dwa z niżej wymienionych objawów [17]:

- tachykardia u płodu  $> 160$  uderzeń/min.,
- tachykardia u matki  $> 100$  uderzeń/min.,
- leukocytoza [WBC]  $> 15\ 000/\text{mm}^3$ ,
- tkliwość mięśnia macicy,
- nieprawidłowy, cuchnący płyn owodniowy.

Kryteria Lencki, są mniej znanymi, rzadziej wykorzystywanymi klinicznymi wskaźnikami zakażenia wewnątrzowodniowego. Należą do nich wzrost temperatury ciała  $> 38^{\circ}\text{C}$  oraz co najmniej jeden z niżej wymienionych objawów:

- tachykardia u matki  $> 100$  uderzeń/min.,
- leukocytoza [WBC]  $> 15\ 000/\text{mm}^3$ ,
- tkliwość mięśnia macicy,

- cuchnąca wydzielina z pochwy [18].

W 2015 roku panel ekspertów Krajowego Instytutu Zdrowia Dziecka oraz Rozwoju Człowieka w Stanach Zjednoczonych opracował koncepcję potrójnego I (Intrauterine Infection and/or Inflammation - Triple I) w celu zastąpienia powszechnie stosowanego terminu chorioamnionitis. Dotychczas izolowana gorączka u matki była dotychczas automatycznie równoznaczna z rozpoznaniem chorioamnionitis. Dopiero koncepcja potrójnego I być może uporządkuje nazewnictwo zakażeń u ciężarnych.

#### Klasyfikacja **Triple I**:

- **Izolowana gorączka u matki (potwierdzona gorączka)** – temperatura mierzona w jamie ustnej ciężarnej kobiety wynosi 39°C lub więcej w trakcie jednokrotnego pomiaru. W przypadku, gdy temperatura mierzona w jamie ustnej jest w zakresie 38,0-39,0°C, pomiar musi zostać powtórzony po 30 minutach. Po ponownym stwierdzeniu temperatury wyższej lub równej 38,0°C należy potwierdzić gorączkę.
- **Podejrzenie potrójnego I-** w przypadku gorączki bez uchwytej przyczyny klinicznej oraz jedno z poniższych kryteriów:
  - obecność tachykardii u płodu tj. powyżej 160 uderzeń/min. przez minimum 10 minut, po wykluczeniu akceleracji, deceleracji oraz zmienności okresowej,
  - stwierdzenie leukocytozy u matki powyżej 15 000 leukocytów/mm<sup>3</sup>,
  - obecność ropnego wycieku z szyjki macicy stwierdzona w trakcie badania ginekologicznego.
- **Potwierdzenie potrójnego I** -spełnione muszą zostać wszystkie powyższe kryteria oraz:
  - obecność bakterii w płynie owodniowym pobranym w trakcie amniopunkcji,
  - niskie stężenie glukozy lub dodatni posiew płynu owodniowego,
  - zakażenie potwierdzone histopatologicznie [19].

Obecność bakterii w płynie owodniowym można potwierdzić za pomocą posiewu tego materiału, jednak wynik uzyskujemy w ciągu 3-5 dni. Badanie histopatologiczne błon płodowych i łożyska wiąże się z oczekiwaniem na wynik od

kilku do kilkunastu dni. Z racji dość długiego czasu oczekiwania na wyniki niezbędne do spełnienia kryteriów podanych wyżej, klasyfikacja ta aktualnie ma ograniczoną wartość w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzowodniowego.

Pomimo istnienia wielu kryteriów rozpoznania infekcji wewnątrzmacicznej, nie potwierdzają one jednoznacznie obecności zakażenia. Romero i wsp. dowiedli, że rozpoznanie zakażenia wewnątrzowodniowego na podstawie kryteriów Gibbisa, jedynie w 54 % przypadków zostało potwierdzone poprzez obecność nieprawidłowej flory bakteryjnej w płynie owodniowym [20]. W innej pracy natomiast wykazano trafność diagnostyczną wynoszącą jedynie 46,7-57,8% dla pojedynczych kryteriów klinicznych oraz stwierdzono, że występowanie 3 lub więcej objawów klinicznych zakażenia wewnątrzowodniowego oraz gorączki nie zwiększa dokładności diagnostycznej tego schorzenia [21].

## **1.4 Diagnostyka**

Zakażenie wewnątrzowodniowe możemy rozpoznać na podstawie obecności objawów klinicznych, wyników badań laboratoryjnych, mikrobiologicznych czy też oceny histopatologicznej łożyska.

Najważniejszym objawem klinicznego zakażenia wewnątrzowodniowego jest gorączka u matki. Szacuje się, że występuje w 95-100% przypadków klinicznej infekcji wewnątrzmacicznej. Kolejnym objawem często występującym jest tachykardia u matki, występująca u około 50-80% pacjentek oraz tachykardia płodu występująca w około 40-70% przypadków. Wzrost częstości uderzeń serca ciężarnej oraz płodu może mieć różnorodną etiologię, jednak w połączeniu z obecnością gorączki u matki może sugerować rozwijającą się infekcję wewnątrzmaciczną. W przypadku tachykardii u matki należy wykluczyć obecność anemii, hipertyreozы, hipowolemii oraz wpływ leków między innymi takich jak: leków antyhistaminowych, efedryny, beta mimetyków. Z kolei w przypadku tachykardii płodu należy rozważyć inne przyczyny zwiększonej ilości uderzeń serca płodu niż zakażenie wewnątrzowodniowe tj. m.in.: anemia płodu, niedotlenienie, wrodzone zaburzenia rytmu serca, gorączka u matki, wpływ leków np. beta mimetyków lub hydroksyzyny. Pozostałe objawy kliniczne zakażenia wewnątrzowodniowego tj.: tkliwość mięśnia macicy oraz nieprzyjemny zapach płynu owodniowego ze względu na dość subiektywny charakter, zgłaszane są tylko w 4-25% przypadków. Niestety większość infekcji toczących się

wewnątrzmacicznie ma charakter subkliniczny, przebiegający skąpoobjawowo [22], dlatego wciąż poszukiwane są wiarygodne markery zakażenia.

W celu rozpoznania zakażenia wewnątrzrodniowego pomocne wydają się być wyniki badań laboratoryjnych m.in.: poziomu WBC ( $> 15\ 000/\text{mm}^3$ ), stężenie CRP oraz narastanie jego wartości w kontrolnych badaniach, stężenie Il-6.

W niektórych ośrodkach klinicznych wykonuje się rutynowo amniopunkcję w przypadku podejrzenia zakażenia wewnątrzrodniowego u pacjentek z zagrażającym porodem przedwczesnym oraz pPROM. Oceniany jest wtedy w płynie owodniowym poziom glukozy, dehydrogenazy mleczanowej, poziom leukocytów oraz wykonywane są posiewy mikrobiologiczne. O występowaniu infekcji w płynie owodniowym mogą świadczyć:

- dodatni wynik badania bakteriologicznego płynu owodniowego,
- stwierdzenie więcej niż 6 leukocytów lub bakterii w polu widzenia (w trakcie przeprowadzania badania pod mikroskopem),
- stężenie glukozy poniżej 15 mg/dl,
- stężenie interleukiny-6 powyżej 7,9 pg/ml,
- liczba leukocytów powyżej  $30/\text{mm}^3$ .

Rozpoznanie infekcji wewnątrzmacicznej na podstawie badania płynu owodniowego pobranego w trakcie amniopunkcji, pozwala wdrożyć leczenie, które ostatecznie poprawi wyniki rokownicze u noworodków. Jednak postępowanie to obarczone jest pewnym ryzykiem z racji drogi pozyskania płynu owodniowego do badań laboratoryjnych oraz mikrobiologicznych.

Trudności diagnostyczne w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego, zwłaszcza na jego wczesnym etapie skłaniają do poszukiwania odpowiednich biomarkerów. Kopyra i wsp. wykazali przydatność oznaczania stężenia PCT we krwi kobiety ciężarnej z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych w przewidywaniu występowania zakażenia wrodzonego u noworodka. Punktem odcięcia było stężenie prokalcytoniny wyższe od 0,5 ng/ml. Wykazano również celowość oznaczania stężenia Il-6 we krwi matki. W przypadku stężenia Il-6 powyżej 5,0 pg/ml u kobiety ciężarnej, częściej wykrywano objawy wrodzonej infekcji u noworodka w porównaniu do grupy kobiet, u których wartość IL-6 była mniejsza od 5,0 pg/ml [23].

Wielu autorów podkreśla ogromną rolę oznaczania stężenia niektórych cytokin obecnych w wydzielinie z pochwy w diagnostyce zakażenia wewnątrzrodniowego. Combs i

wsp. wykazali przydatność oznaczania stężenia Il-6 w wydzielinie z pochwy kobiety ciężarnej z porodem przedwczesnym w celu przewidywania obecności infekcji wewnątrzowodniowej [24]. Z kolei Di Naro i wsp. dowiedli, że poziom CRP w wydzielinie z pochwy u pacjentek z przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego jest podwyższony w przypadku toczącego się zakażenia wewnątrzmacicznego [25].

Postawienie rozpoznania zakażenia wewnątrzowodniowego możliwe jest na podstawie badania płynu owodniowego. Markerami toczącej się infekcji są m.in. spadek stężenia glukozy, leukocytoza, wzrost stężenia Il-6, wzrost poziomu CRP oraz obecność bakterii w płynie owodniowym [26]. Yoon i wsp. wykazali przydatność oznaczania leukocytozy w płynie owodniowym w porównaniu z oznaczaniem CRP oraz WBC we krwi matki w diagnostyce zakażenia wewnątrzowodniowego u pacjentek z przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego [27]. Z kolei Romero i wsp. dowiedli, że spośród badanych markerów w płynie owodniowym, najlepszym czynnikiem prognostycznym infekcji wewnątrzmacicznej jest Il-6 [28].

Wykonywanie badania histopatologicznego popłodu i rozpoznanie na jego podstawie zakażenia wewnątrzowodniowego w większym stopniu koreluje z dodatnimi wynikami mikrobiologicznymi płynu owodniowego uzyskanego na drodze amniopunkcji niż objawy kliniczne [21]. Częstość występowania zmian zapalnych w popłodzie zależna jest od czasu trwania ciąży, mianowicie w przypadku porodów o czasie występują w 15%, natomiast w przypadku porodów przedwczesnych występują w 60-80% [29].

## **1.5. Leczenie**

Według aktualnych zasad rozpoznanie zakażenia wewnątrzowodniowego skutkuje wdrożeniem dożylniej antybiotykoterapii oraz szybkim zakończeniem ciąży. Obecnie nie są dostępne dane potwierdzające słuszność stosowania antybiotykoterapii w celu leczenia infekcji płodu oraz pacjentki ciężarnej, celem przedłużenia czasu trwania ciąży.

Rekomendowane leczenie zakażenia wewnątrzowodniowego w trakcie porodu opiera się na antybiotykoterapii. Rutynowo polega ono na stosowaniu:

- 2 g Ampicyliny dożylnie co 6 h  
oraz
- Gentamycyny 1,5 mg/kg co 8 h lub 5 mg/kg w jednorazowej dawce na dobę



W przypadku umiarkowanej reakcji alergicznej na penicyliny, leczenie powinno polegać na podaży:

- Cefazoliny 2 g dożylnie co 8 h  
oraz
- Gentamycyny 1,5 mg/kg co 8 h lub 5 mg/kg w jednorazowej dawce na dobę.

Antybiotykami rekomendowanymi w przypadku silnej reakcji alergicznej na penicyliny są:

- Klindamycyna 900 mg dożylnie co 8 h  
lub
- Wankomycyna 1 g dożylnie co 12 h  
oraz
- Gentamycyna 1,5 mg/kg co 8 h lub 5 mg/kg w jednorazowej dawce na dobę.

Alternatywnym postępowaniem jest dożylne leczenie antybiotykami:

- Ampicylina z sulbaktamem
- Piperacylina z tazobaktamem
- Cefotetan
- Cefoksytyna
- Ertapenem.

Antybiotykoterapia stosowana w czasie porodu nie powinna być kontynuowana rutynowo po urodzeniu dziecka. Poród drogami natury związany jest z mniejszym ryzykiem zapalenia błony śluzowej macicy, dzięki czemu stosowanie antybiotyków nie jest wymagane. U pacjentek rozwiązywanych drogą cięcia cesarskiego zaleca się zastosowanie przynajmniej jednej dodatkowej dawki leków przeciwdrobnoustrojowych z podanych wyżej schematów oraz preparat działający na patogeny beztlenowe tj. klindamycynę lub metronidazol, celem zmniejszenia ryzyka rozwoju zapalenia endometrium. W przypadku występowania dodatkowych objawów, na przykład gorączki, antybiotykoterapia powinna być kontynuowana po porodzie bez względu na jego rodzaj [30].

W leczeniu infekcji wewnątrzmacicznej bardzo ważny jest czas od postawienia rozpoznania do wdrożenia antybiotykoterapii. Ma to kluczowe znaczenie, ponieważ istotnie zmniejsza pojawienie się lub nasilenie powikłań zarówno u matki jak i u płodu/novorodka. Wykazano, że czas trwania porodu po włączeniu leczenia przeciwdrobnoustrojowego nie odgrywa bardzo znaczącej roli, jeśli nie przekracza ogólnie przyjętej normy [22]. Natomiast

rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników jednoznacznie określają, że poród drogami natury w przypadku rozpoznania zakażenia wewnątrzrodniowego może być kontynuowany, jeśli rokuje zakończeniem w ciągu 1-2 godzin. W innym przypadku wskazane jest rozwiązanie cięciem cesarskim [31].

Zgodnie z Narodowym Programem Ochrony Antybiotyków, przed wykonaniem zabiegu operacyjnego należy podać lek przeciwdrobnoustrojowy dożylnie. Wynika to z przeprowadzonych badań klinicznych w których udowodniono zmniejszenie liczby powikłań infekcyjnych po zabiegu. Antybiotyk powinien zapewnić działanie bakteriobójcze w miejscu operowanym przez cały czas trwania zabiegu.

Najszerzej badanym lekiem jest cefazolina. Należy ona do grupy cefalosporyn krótkodziałających, dlatego też powinna być podana dożylnie 0-30 minut przed nacięciem skóry [73]. Swym działaniem obejmuje bakterie Gram-dodatnie: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, paciorkowce  $\beta$ -homolizujące grupy A, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus viridans* oraz Gram-ujemne bakterie: *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Haemophilus influenzae*. Cefazolina dobrze wchłania się po podaniu dożylnym lub domięśniowym. Zgodnie z charakterystyką produktu leczniczego 5 minut po podaniu dożylnym osiąga stężenie w surowicy krwi wynoszące 188,4 ug/ml, po 30 minutach 106,8 ug/ml, po 1 godzinie 73,7 ug/ml natomiast po 2 godzinach 45,6 ug/ml. Łatwo penetruje do płuc, kości, stawów, przez łożysko do krwi pępowinowej i do płynu owodniowego [74]. Mitchell i wsp. badał matczyną i przezłożyskową farmakokinetykę cefazoliny w zależności od czasu jaki upłynął od podaży leku do porodu. Ustalono, że minimalne stężenie hamujące 90% lub więcej (MIC90) dla *Streptococcus* grupy B wynosi 0,5 ug/ml, MIC50 wynosi 0,25 ug/ml. Czas od podania cefazoliny do porodu wahał się w przedziale 20 min. do 7 h. Stężenie leku we krwi matki było w przedziale 0,2- 37,7 ug/ml. U 96% pacjentek wartości te przekraczały MIC90 dla *Streptococcus* grupy B. Natomiast w płynie owodniowym stężenia leku zawierały się w przedziale 0,3-2,9 ug/ml. U 90% pacjentek stężenia te przekraczały MIC90 [75]. Brown i wsp. prowadził badanie na temat łożyskowego transferu cefazoliny i piperacyliny u pacjentek z izoimmunizacją w zakresie czynnika Rh. W swojej pracy przedstawił m.in. poziomy cefazoliny w płynie owodniowym po podaniu dożylnym 2 g cefazoliny matce przed zabiegiem transfuzji dopłodowej. W 90% przypadków poziom cefazoliny przekraczał 0,5 ug/ml (zakres 0,3-1,8 ug/ml), a więc przekraczał minimalne stężenie hamujące 90% lub więcej dla *Streptococcus* grupy B [76].

Antybiotyk stosowany w terapii infekcji wewnątrzodniowych powinien charakteryzować się wysoką biodostępnością, odpowiednim spektrum działania z uwzględnieniem szczepów antybiotykoopornych, nie powinien być toksyczny dla matki oraz płodu. W odpowiedzi na coraz to częstsze doniesienia na temat braku skuteczności leczenia infekcji makrolidami starszej generacji, powstają badania nad nowszymi preparatami. Jednym z nich jest solithromycyna. Lek z grupy makrolidów, ma 30-krotnie silniejsze działanie niż azytromycyna. Cechuje się brakiem występowania szczepów opornych. Istnieją doniesienia o działaniu immunomodulującym oraz ograniczającym proces reakcji zapalnej [32].

Lee i wsp. przeprowadzili badanie oceniające wymazy pochwowe pod kątem obecności *Mycoplasma hominis* i *Ureaplasma urealyticum* oraz wrażliwości tych drobnoustrojów na antybiotyki. W przypadku zakażenia *Mycoplasma hominis* wykazano brak wrażliwości na rutynowo stosowane makrolidy tj. erytromycynę, azytromycynę oraz klarytromycynę. Wykazano natomiast, że w przypadku infekcji *Ureaplasma urealyticum* wrażliwość na wyżej wymienione makrolidy wynosiła odpowiednio 64,0%, 75,2%, 86,0%. Wykazano jednocześnie niemal 100% wrażliwość obu szczepów na antybiotyki nowej generacji, tj.: josamycynę oraz pristinamycynę [33].

## 1.6 Profilaktyka

Profilaktyka zakażenia wewnątrzodniowego jest pośrednio związana z szybkim wykryciem i leczeniem czynników ryzyka infekcji wewnątrzmacicznej, tj. między innymi: przedłużonym odpływaniem płynu owodniowego powyżej 18 godzin, wielokrotnym badaniem przez pochwę, bakteryjną waginozę, kolonizacją pochwy przez paciorkowce grupy B oraz *Ureaplasma urealyticum*, inwazyjnym monitorowaniem wewnątrzmacicznym płodu, przedłużonym porodem, chorobami przyzębia.

Wśród ogólnych zaleceń profilaktycznych zakażenia wewnątrzodniowego rozwijającego się na drodze wstępującej należy wymienić:

- Higienę okolic intymnych tj.: zaniechanie stosowania gąbek oraz myjek, stosowanie płynów do mycia o pH 5,5, podmywanie się w kierunku od przodu do tyłu, nie stosowanie irygacji pochwy, stosowanie bawełnianej bielizny.
- Stosowanie doustnych lub dopochwowych preparatów zawierających bakterie kwasu mlekowego u pacjentek z powtarzającymi się infekcjami dróg rodnych [8].

## **Profilaktyka zakażenia wewnątrzrodniowego o etiologii bakteryjnej waginozy**

Aktualnie nie istnieją jednoznaczne rekomendacje dotyczące wykonywania przesiewowych badań oraz wdrożenia leczenia u pacjentek ciężarnych z rozpoznaną jedynie na podstawie wyniku badania mikrobiologicznego, bezobjawową bakteryjną waginozą.

McDonald i wsp. wykazali, że leczenie antybiotykami pacjentek ciężarnych z bezobjawową bakteryjną waginozą jest skuteczne, lecz nie wpływa to na częstość występowania porodu przedwczesnego przed 37 tygodniem ciąży oraz przedwczesnego pęknięcia błon płodowych. Istnieją jednak przesłanki, aby włączyć antybiotykoterapię przed 20 tygodniem ciąży u pacjentek bezobjawowych mających w wywiadzie poród przedwczesny [34]. Rekomendacje Kanadyjskiego Towarzystwa Ginekologów i Położników zalecają:

- Wykonanie badania potwierdzającego obecność bakteryjnej waginozy oraz wdrożenie leczenia u pacjentek objawowych.
- Leczenie doustnymi preparatami lub dopochwowymi pacjentek ciężarnych, objawowych bez czynników ryzyka porodu przedwczesnego.
- Pacjentki bezobjawowe oraz bez czynników ryzyka porodu przedwczesnego nie powinny rutynowo być poddawane badaniom przesiewowym i antybiotykoterapii.
- Kobiety u których występuje zagrożenie porodem przedwczesnym mogą odnosić korzyści z przeprowadzania badań przesiewowych oraz włączenia leczenia na podstawie uzyskanych wyników badań.
- Nie zaleca się stosowania preparatów dopochwowych w leczeniu bakteryjnej waginozy u pacjentek z czynnikami ryzyka porodu przedwczesnego (tj.m.in. poród przedwczesny w wywiadzie, zabiegi na szyjce macicy, niedożywienie, ciąża wielopłodowa) [35].

Leczenie doustne polega na stosowaniu:

- Metronidazolu 500 mg 2 x dziennie przez 7 dni  
lub
- Klindamycyny 300 mg 2 x dziennie przez 7 dni.

W Niemczech zaleca się pacjentkom ciężarnym wykonywanie dwukrotnie w ciągu 7 dni pomiaru pH pochwy za pomocą papierka lakmusowego. Pacjentki z pH > 4,5 poddawane są dalszej diagnostyce i leczeniu [8]. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego w zakresie opieki przedporodowej w ciąży o prawidłowym przebiegu zalecają pomiar pH wydzieliny pochwowej na każdej z wizyt położniczych do 37 tygodnia ciąży [36].

## **Profilaktyka zakażenia wewnątrzowodniowego w przedwczesnym pęknięciu pęcherza płodowego przed 37 tygodniem ciąży (pPROM)**

Przedwczesne pęknięcie pęcherza płodowego (pPROM) jest to samoistne przerwanie ciągłości pęcherza płodowego przed 37 tygodniem ciąży. Stanowi jedną z kluczowych przyczyn przedwczesnych urodzeń, wikła 3-5% ciąż. Jest głównym czynnikiem ryzyka rozwoju infekcji wewnątrzmacicznej z powodu przerwania naturalnej bariery, jaką jest pęcherz płodowy, przed kontaktem środowiska pochwy z jamą macicy. Stanowi jedną z głównych przyczyn wzrostu zachorowalności płodów, noworodków i ich matek [37].

Najistotniejszy z punktu widzenia noworodka jest czas latencji czyli czas od momentu odpłynięcia płynu owodniowego do porodu. Im czas ten jest dłuższy, tym dojrzałość płodu wzrasta, z drugiej strony rośnie ryzyko rozwoju zakażenia wewnątrzowodniowego [38]. Test i wsp. wykazali, że czas latencji jest odwrotnie proporcjonalny do czasu trwania ciąży. U kobiet z pPROM przed 34 tygodniem ciąży, czas latencji był dłuższy, natomiast w przypadku PROM u kobiet w ciążach donoszonych czas latencji był krótszy [39].

W 2019 roku na łamach American Journal of Obstetrics and Gynecology ukazała się praca porównująca skuteczność profilaktyki w przedwczesnym pęknięciu pęcherza płodowego azytromycyną oraz erytromycyną, w której wykazano: czas latencji podobny dla obu antybiotyków, porównywalną częstość występowania zakażenia wewnątrzowodniowego oraz podobną częstość powikłań noworodkowych. W związku z problemami z dostępnością erytromycyny, coraz bardziej powszechnie stosowana jest azytromycyna [40].

Aktualnie obowiązujący schemat profilaktyki pPROM polega na stosowaniu:

- Azytromycyna 1g doustnie w dawce jednorazowej  
oraz
- Ampicylina 2 g co 6 h dożylnie przez 48 h, następnie przez kolejne 5 dni amoksycylina 500 mg co 8 h doustnie.

W przypadku występowania alergii na penicyliny stosujemy:

- Azytromycyna 1g doustnie w dawce jednorazowej  
oraz

- Klindamycyna 900 mg co 8 h dożylnie przez 48 h + Gentamycyna 5 mg/kg co 24 h dożylnie przez 48 h, następnie Klindamycyna 300 mg co 8 godzin doustnie przez 5 dni.

W przypadku występowania alergii na penicyliny oraz oporności GBS na klindamycynę stosujemy:

- Azytromycyna 1g doustnie w dawce jednorazowej  
oraz
- Wankomycyna 20 mg/kg co 8 godzin dożylnie przez 48 h (maksymalnie jednorazowo 2g) [41].

### **Profilaktyka zakażenia paciorkowcami grupy B**

U około 10-30% kobiet ciężarnych stwierdza się obecność *Streptococcus agalactie* w pochwie i/ lub odbytnicy. W Polsce patogen ten występuje u około 20% pacjentek. Stanowi to poważny czynnik ryzyka zakażenia wczesnego u noworodka w wyniku kolonizacji jamy ustnej, płuc oraz przewodu pokarmowego w trakcie porodu. Konsekwencją może być ciężkie zakażenie pod postacią zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenia płuc lub sepsy u noworodka [8].

W przypadku braku profilaktyki okołoporodowej, ryzyko kolonizacji noworodka wynosi 50%. Ulega ono zmniejszeniu w miarę wydłużenia czasu jaki upłynął od podania pierwszej dawki antybiotyku do urodzenia dziecka. W przypadku podania pierwszej dawki leku w czasie krótszym niż 1 godzina przed urodzeniem noworodka, ryzyko kolonizacji wynosi 40%. Natomiast po upływie czterech i więcej godzin od podania pierwszej dawki antybiotyku do narodzin, ryzyko kolonizacji noworodka jest na poziomie 1% [42].

Aktualnie w Polsce zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia dotyczącym standardu organizacyjnego opieki okołoporodowej pomiędzy 35-37 tygodniem ciąży, u każdej ciężarnej pacjentki powinien zostać pobrany posiew z pochwy i odbytu w kierunku paciorkowców z grupy B [43].

Obecnie stosowana śródporodowa profilaktyka antybiotykowa polega na podaniu:

- Benzylopenicyliny 5 mln j. dożylnie, następnie 2,5 mln j. co 4 h do końca porodu

Lub

- Ampicylina 2 g dożylnie, następnie, 1g co 4 h do końca porodu.

W przypadku alergii na penicyliny:

- uczulenie typu I (anafilaksja)

- Klindamycyna 900 mg co 8 h dożylnie do końca porodu

lub

- W przypadku oporności *Streptococcus agalactiae* na klindamycynę, należy zastosować
  - wankomycynę 20 mg/kg co 8 h dożylnie
- uczulenie typu III (wysypka skórna bez anafilaksji )
  - cefazolina 2g dożylnie, następnie 1g co 8 h do końca porodu.

Przed włączeniem leczenia powinno się sprawdzić wrażliwość *Streptococcus agalactiae* na erytromycynę oraz klindamycynę.

Profilaktykę należy stosować w przypadku:

- Występowania bakteriurii o etiologii *Streptococcus agalactiae* w dowolnym okresie ciąży;
- Dodatniego wyniku posiewu w kierunku GBS w 35 tygodniu ciąży lub później;
- Stwierdzenia inwazyjnego zakażenia *Streptococcus agalactiae* u noworodka we wcześniejszej ciąży pomimo wyniku ujemnego w aktualnej ciąży;
- Nieznanego statusu GBS na początku porodu oraz jednego z poniższych czynników:
  - poród przedwczesny < 37 t.c
  - pPROM lub pęknięcie błon płodowych powyżej 18 godzin
  - dodatniego testu w kierunku GBS wykonanego metodą amplifikacji kwasu nukleinowego (NAAT)
  - pozytywny wynik GBS występujący w poprzedniej ciąży (do rozważenia).

W przypadku pacjentki z zachowanymi błonami płodowymi, u której planowane jest rozwiązanie ciąży drogą cięcia cesarskiego przed rozpoczęciem porodu, bez względu na status kolonizacji GBS oraz czas trwania ciąży nie ma konieczności stosowania profilaktyki okołoporodowej GBS [30].

Istnieje szereg prac potwierdzających słusność stosowania profilaktyki okołoporodowej zakażenia *Streptococcus agalactiae*. Między innymi Velaphi i wsp. wykazali

zmniejszenie ilości zakażeń wczesnych u noworodków o etiologii GBS o 76% [44]. W przygotowanym raporcie Centers for Disease Control and Prevention w 2007 roku wykazano zmniejszenie wskaźnika zakażeń wczesnych o etiologii *Streptococcus agalactiae* u noworodków w latach 2003-2005 o 33% w porównaniu z latami 2000-2001. W pracy Kociszewskiej-Najman i wsp. z 2010 roku wykazano, że częstość występowania zakażeń w grupie noworodków pacjentek otrzymujących śródporodową profilaktykę antybiotykową była istotnie niższa od częstości zakażeń w grupie noworodków pacjentek bez profilaktyki antybiotykowej (11,05% vs 21,56%) [45].



## **2. Cel pracy**

Aktualnie jednym z głównych problemów perinatologii jest poród przedwczesny. Skala tej patologii położniczej jest ogromna. W większości przypadków przyczyną porodu przedwczesnego jest zakażenie wewnątrzodniowe. Pracując w ośrodku o III stopniu referencyjności bardzo często spotykam się z pacjentkami diagnozowanymi w kierunku infekcji wewnątrzmacicznej. Jednoznaczne postawienie rozpoznania jakim jest zakażenie wewnątrzodniowe, jest często niemożliwe. Tocząca się infekcja u większości ciężarnych ma charakter bezobjawowy lub skąpoobjawowy, natomiast rutynowo stosowane badania laboratoryjne są często niewystarczające. Ustalenie pewnego rodzaju schematu postępowania może przyczynić się do zmniejszenia śmiertelności okołoporodowej oraz powikłań związanych z sepsą u przedwcześnie urodzonych noworodków.

### **Cel główny**

Ocena wykrywalności zakażeń wewnątrzodniowych na podstawie dostępnych metod diagnostycznych.

### **Cele szczegółowe**

1) Analiza przydatności oceny stężeń biochemicznych parametrów zapalnych (CRP, PCT, IL-6) we krwi obwodowej, płynie owodniowym oraz w wydzielinie pochwowej w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego.

2) Analiza przydatności oznaczania stężenia glukozy w płynie owodniowym w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego.

3) Analiza przydatności badań mikrobiologicznych (posiewy, PCR) w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego.

4) Analiza przydatności badań histopatologicznych płodu w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego.

5) Analiza związku rozpoznania zakażenia wewnątrzmacicznego z wystąpieniem zakażenia wrodzonego u noworodka.

## 3. Materiał i metodyka

### 3.1. Materiał

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. Pacjentki wyraziły świadomą zgodę na udział w badaniu po wcześniejszym zapoznaniu się z kartą informacyjną opisującą sposób pozyskiwania materiału badawczego. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie nr KB-0012/140/18.

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

Kryteria włączenia do badania:

- wiek powyżej 18 roku życia
- wyrażenie świadomej zgody na udział w badaniu
- pacjentki rodzące drogą cięcia cesarskiego
- dostępne dane demograficzne oraz kliniczne umożliwiające przeprowadzenie analizy.

Kryteria wyłączenia z badania:

- wiek poniżej 18 roku życia
- brak świadomej zgody na udział w badaniu
- pacjentki rodzące drogami natury
- brak danych demograficznych oraz klinicznych umożliwiających przeprowadzenie analizy.

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.

### **3.2. Metodyka**

Krew żylną pacjentki pobierano w dniu przeprowadzania cięcia cesarskiego celem oznaczenia stężeń CRP, IL-6 oraz PCT i przekazywano do Laboratorium Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego nr 2 w Szczecinie. 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.

Wydzielinę z pochwy pobierano do sterylnych probówek wirówkowych typu Eppendorf w trakcie przeprowadzania badania ginekologicznego we wziernikach, następnie przechowywano w zamrażarkach w temperaturze – 80°C do momentu wykonywania oznaczeń. Po zebraniu materiału od wszystkich pacjentek biorących udział w badaniu materiał przekazano w termopudełkach przeznaczonych do transportu materiału biologicznego celem wykonania badań w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Wielospecjalistycznego Szpitala Wojewódzkiego w Gorzowie Wielkopolskim. Po rozmrożeniu, stężenie interleukiny-6 w wydzielinie z pochwy została oznaczona za pomocą

testu Atellica IM IL6. Jest to w pełni zautomatyzowany, jednoetapowy, bezpośredni test immunologiczny, wykorzystujący technikę chemiluminescencji, natomiast stężenie prokalcytoniny w wydzielinie z pochwy została oznaczona przy użyciu testu Atellica IM BRAHMS PCT. Jest to 2-miejscowy test immunologiczny typu sandwich, w którym wykorzystano technologię bezpośredniej chemiluminescencji oraz 3 monoklonalne przeciwciała mysie swoiste względem PCT.

W trakcie badania we wziernikach pobrano również wymaz z kanału szyjki macicy w celu wykonania posiewu w kierunku bakterii tlenowych i grzybów, beztlenowych oraz w kierunku patogenów atypowych: *Ureaplasma spp*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* i przekazano do Samodzielnej Pracowni Mikrobiologii Lekarskiej PUM SPSK-2 w Szczecinie celem wykonania badań. 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. Wymaz z kanału szyjki macicy w celu wykonania badania metodą Real-Time PCR w kierunku *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* oraz *Chlamydia trachomatis* pobierano dedykowaną wymazówką, następnie przechowywano w zamrażarce w  $-25^{\circ}\text{C}$ . Materiał ten przekazywano w pudełku transportowym przeznaczonym do przewożenia materiału biologicznego i przekazywano do Zakładu Diagnostyki Medycznej w Poznaniu.

W trakcie cięcia cesarskiego pobierano 25 ml płynu owodniowego, z którego po 8 ml rozlewano na płynne podłoża w celu wykonania posiewu bakterii tlenowych i grzybów oraz bakterii beztlenowych, 5 ml płynu zamrażano w temperaturze  $-25^{\circ}\text{C}$  celem wykonania oznaczeń w kierunku patogenów atypowych w Zakładzie Diagnostyki Medycznej w Poznaniu metodą Real-Time PCR. Materiał ten podobnie jak wymazówki z szyjki macicy przekazywano do pracowni w pudełkach transportowych. Pozostałą część płynu owodniowego zamrażano w probówkach i przechowywano w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  do momentu wykonania oznaczeń takich jak: glukoza, Il-6 i PCT. Po zebraniu materiału od wszystkich pacjentek biorących udział w badaniu materiał przekazano w termopudełkach przeznaczonych do transportu materiału biologicznego, celem wykonania badań w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Wielospecjalistycznego Szpitala Wojewódzkiego w Gorzowie Wielkopolskim. Stężenie Il-6 w płynie owodniowym została oznaczona za pomocą testu Atellica IM IL6, stężenie PCT w płynie owodniowym zostało oznaczone przy użyciu testu

Atellica IM BRAHMS PCT, natomiast stężenie glukozy oznaczono przy użyciu testu Atellica CH Glucose Hexokinase\_3.

Następnie po wydobyciu płodu w trakcie cięcia cesarskiego, pobierano fragment łożyska i błon płodowych, który przechowywano w zamrażarkach w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  do momentu przeprowadzenia badania histopatologicznego. Po zebraniu materiału od wszystkich pacjentek biorących udział w badaniu, fragmenty łożyska rozmrożono i utrwalono w 10% formalinie. Wykrojone skrawki opracowano w procesorze tkankowym Leica ASP300 S, następnie zatopiono w parafinie. Z wykonanych bloczków parafinowych przygotowano skrawki, które ułożono na szkiełkach podstawowych, w kolejnym etapie szkiełka umieszczono w cieplarni w temperaturze  $70^{\circ}\text{C}$  na 2 godziny. Po odparafinowaniu skrawków, zabarwiono je hematoksyliną i eozyną. Materiał został oceniony przez specjalistę patomorfologa w mikroskopie świetlnym Olympus BX46 pod kątem występowania nacieku zapalnego w obrębie błon płodowych i łożyska. Na podstawie wyników podzielono pacjentki na dwie grupy: grupa badana z zakażeniem wewnątrzodniowym i grupa kontrolna bez zakażenia wewnątrzodniowego.

### **3. Analiza statystyczna**

Analiza statystyczna została przeprowadzona za pomocą programu „R 4.0.2”. W celu sprawdzenia normalności rozkładu użyto test Shapiro-Wilk. W znacznej większości rozkład odbiegał od normy, dlatego też w obliczeniach zostały użyte testy nieparametryczne. Wyniki przedstawiono jako mediany oraz rozstępy kwartyłowe (IQR). Do porównania różnic między grupami użyto Mann-Whitney U test. Ryzyko wystąpienia zakażenia wewnątrzmacicznego zostało ocenione dzięki jednoczynnikowym regresjom logistycznym, a wyniki przedstawiono jako iloraz szans (OR) oraz 95% przedział ufności (95% CI). Analiza wyników posiewów mikrobiologicznych oraz wyniku badania histopatologicznego została oszacowana testem McNemmar. Wartości  $p < 0,05$  we wszystkich analizach zostały uznane za istotne statystycznie.

## 4. Wyniki

### 4.1 Ogólna charakterystyka grup

Tabela 1. Charakterystyka pacjentek

Parametry matki	Grupa badana N=12		Grupa kontrolna N=34		P
	X	SD	X	SD	
Wiek [lata]	29,33	4,79	32,6	4,86	<b>0,02</b>
Ciąże w wywiadzie	2,62	1,75	2,16	1,07	NS
Porody w wywiadzie	2,14	1,24	1,84	0,8	NS
Masa ciała [kg]	69,62	10,6	83,02	15,59	<b>0,002</b>
Wzrost [cm]	166,24	4,23	167,28	5,97	NS
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	25,22	3,93	29,67	5,19	<b>0,0054</b>
Temp. ciała pacjentki [°C]	36,68	0,42	36,4	0,29	NS
Tydzień ciąży w dniu rozwiązania	30,25	2,04	37,6	3,1	<b>p&lt;0,0001</b>

Legenda: X – średnia; SD- odchylenie standardowe; BMI- body mass index, NS – not significant

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.

Status nosicielstwa GBS w przypadku pacjentek z grupy badanej był nieznanym ze względu na wiek ciążowy. Według Rekomendacji PTGiP dotyczących prowadzenia ciąży, wymaz z pochwy i odbytu należy pobrać pomiędzy 35-37 tygodniem ciąży. W przypadku grupy kontrolnej, znaczna część z nich posiadała wskazania do planowego cięcia cesarskiego, nie posiadała wyniku przy przyjęciu do szpitala lub też nie miała wykonanego badania w kierunku *Streptococcus agalactiae*, dlatego nie jest znany status nosicielstwa GBS w grupach pacjentek objętych badaniem.

Wszystkie pacjentki uczestniczące w badaniu zostały rozwiązane cięciem cesarskim. W grupie badanej 25% z nich ze wskazań - podejrzenie infekcji wewnątrzmacicznej. Drugą

grupą wskazań był poród przedwczesny w toku u 33% kobiet z dodatkowym wskazaniem do ukończenia ciąży tj.: zagrożenie wewnątrzmacicznym niedotlenieniem płodu lub inne niż główkowe położenie płodu. Natomiast w grupie kontrolnej najczęstszym wskazaniem do zakończenia ciąży drogą cięcia cesarskiego była tokofobia (u 26,5% pacjentek), wśród pozostałych należy wymienić: zagrożenie wewnątrzmacicznym niedotlenieniem płodu, stan po 3x cięciach cesarskich.

Tabela 2. Charakterystyka kliniczna grup

Parametry matki	Grupa badana N = 12		Grupa kontrolna N = 34		p
	Tak	Nie	Tak	Nie	
Antybiotykoterapia prenatalna (%)	83,33	16,67	14,70	85,30	<b>0,012</b>
pPROM (%)	33	67	8,82	91,18	<b>0,03</b>
PIH (%)	8,33	91,67	11,76	88,24	0,07
GDM (%)	16,66	83,34	44,11	55,89	0,09
Steroidoterapia prenatalna (%)	91,66	8,34	20,58	79,42	<b>0,0001</b>

Legenda: pPROM – przedwczesne pęknięcie pęcherza płodowego przed 37 tygodniem ciąży; PIH – nadciśnienie indukowane ciążą, GDM-cukrzyca ciążowa

Tabela 3. Charakterystyka noworodków obu grup

Parametry noworodka	Grupa badana N=12		Grupa kontrolna N=34		p
	X	SD	X	SD	
Masa urodzeniowa noworodka [g]	1538,57	453,26	3371	492	<b>p&lt;0.0001</b>
Długość ciała noworodka [cm]	42,29	4,33	53,28	2,53	<b>p&lt;0.0001</b>
Długość hospitalizacji [dni]	40	21,11	2,48	1,61	<b>p&lt;0.0001</b>
Punktacja w skali Apgar w 5 min.	7,54	0,78	9,31	0,81	<b>0,00003</b>

Legenda: X – średnia; SD – odchylenie standardowe

Tabela 4. Liczba zakażeń wrodzonych u noworodków

	<b>Grupa badana</b> N=12	<b>Grupa kontrolna</b> N=34
Zakażenie wrodzone u noworodka N (%)	11 (91,66)	3 (8,82)

U 91,66% (11/12) noworodków pacjentek z grupy z zakażeniem wewnątrzowodniowym rozpoznano zakażenie wrodzone, na podstawie analizy dokumentacji prowadzonej przez zespół neonatologów. Różnica w liczbie zakażeń wewnątrzowodniowych oraz rozpoznanych infekcji wrodzonych u noworodków może świadczyć o obecności mechanizmów ograniczających zakażenie u noworodka lub też o obecności mechanizmów ograniczających infekcję w jamie owodniowej. Możliwe też, że prenatalna antybiotykoterapia miała hamujący wpływ na rozwój infekcji u dziecka. Istnieje też ryzyko nierozpoznania zakażenia w ciągu 72 godzin od urodzenia dziecka, chociaż w przypadku wcześniaków pozostających dłużej w szpitalu jest to mniej prawdopodobne. Natomiast w grupie noworodków matek z grupy kontrolnej w 8,82% (3/34) przypadków rozpoznano zakażenie wrodzone, mimo braku rozpoznania infekcji wewnątrzowodniowej u matki. Być może dotyczyło to bardzo wczesnej fazy infekcji, która u pacjentki nie wywołała jeszcze zmian w obrębie płodu, natomiast u noworodka rozwinęło się zakażenie wrodzone.

#### **4.2 Analiza parametrów stanu zapalnego we krwi, wydzielinie pochwowej oraz płynie owodniowym**

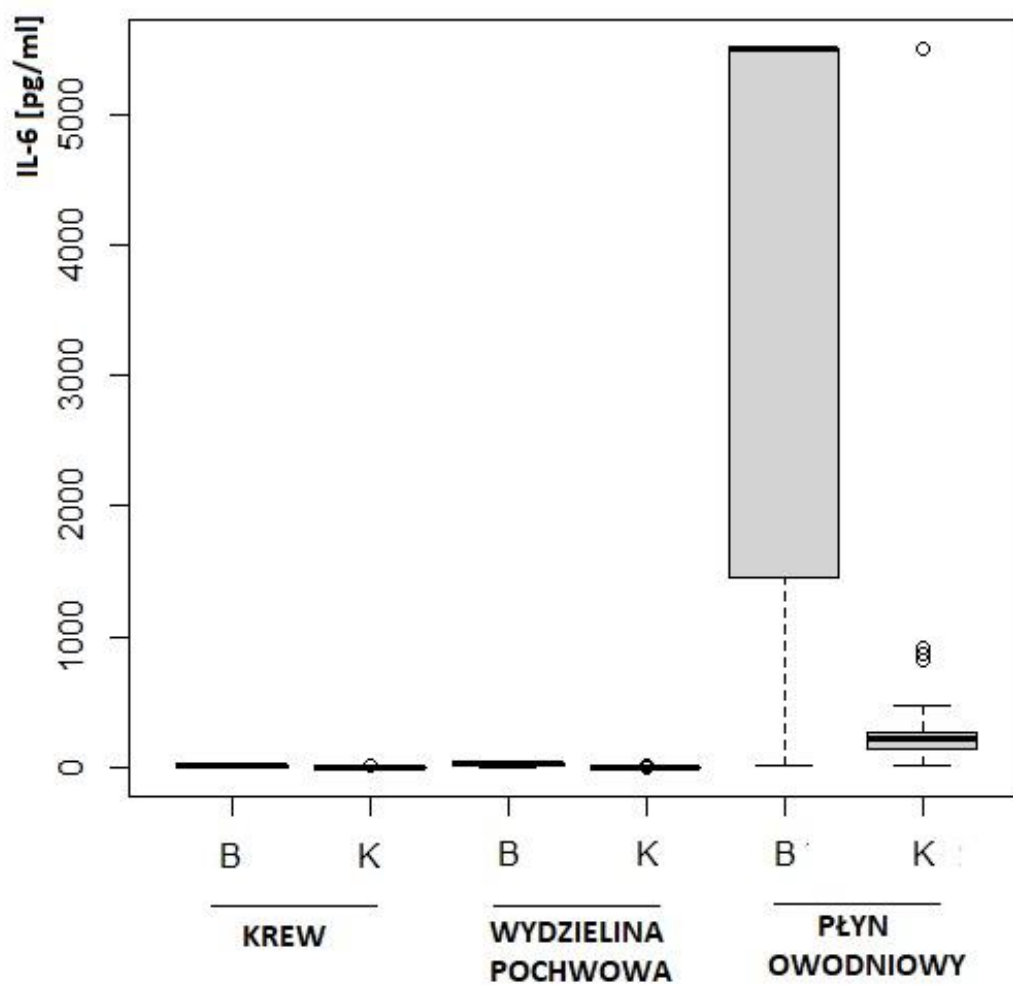
Analiza parametrów stanu zapalnego w wybranych płynach ustrojowych pokazała, że najbardziej istotne różnice między grupami możemy zauważyć w przypadku stężenia IL-6 we krwi, wydzielinie pochwowej oraz w płynie owodniowym. Istotne różnice odnotowano również w przypadku stężenia PCT w wydzielinie pochwowej oraz w płynie owodniowym. Wyniki różnic wszystkich parametrów zapalnych zostały przedstawiono w tabeli nr 5. Różnice pomiędzy stężeniami IL-6 poszczególnych płynów ustrojowych zostały przedstawione na rycinie 1, różnice między stężeniami PCT w płynach ustrojowych przedstawia rycina 2.



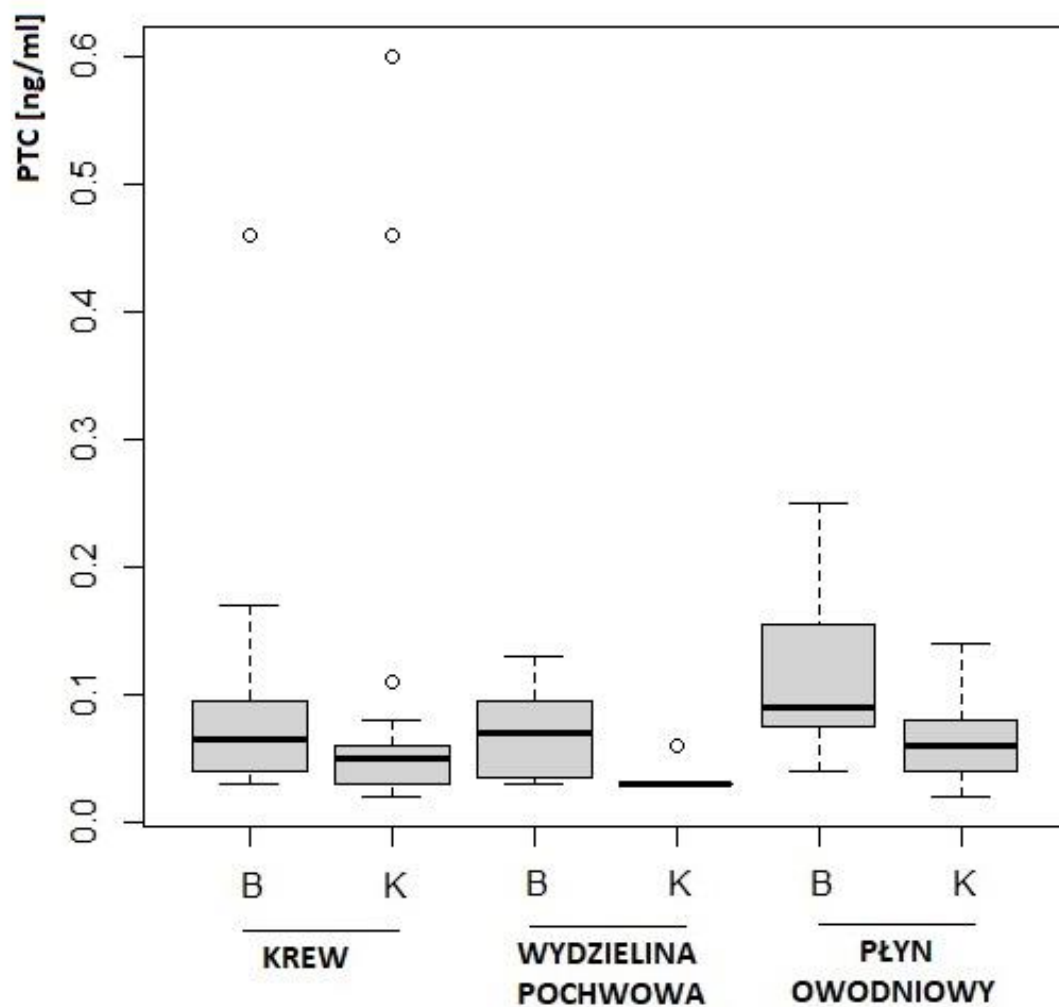
Tabela 5. Wartości stężeń parametrów stanu zapalnego w poszczególnych płynach ustrojowych.

Rodzaj materiału	Badany parametr	Grupa badana		Grupa kontrolna		P
		Me	IQR	Me	IQR	
Krew żylna	Il-6 [pg/ml]	6,3	9,2	2,6	1,4	<b>0.008</b>
	PCT [ng/ml]	0,06	0,07	0,05	0,02	0.19
	CRP [mg/l]	7,36	17,08	2,99	3,19	0.15
Płyn owodniowy	Il-6 [pg/ml]	920	5321,9	221,8	91,6	<b>0.04</b>
	PCT [ng/ml]	0,07	0,05	0,06	0,03	<b>0.002</b>
Wydzielina pochwowa	Il-6 [pg/ml]	9,65	20,95	2,7	0	<b>p&lt;0.0001</b>
	PCT [ng/ml]	0,04	0,05	0,03	0	<b>p&lt;0.0001</b>

Legenda: Me- mediana, IQR –rozstęp międzykwartyłowy



Rycina 1. Stężenie Il-6 w różnych płynach ustrojowych w grupie z zakażeniem wewnątrzmacicznym (B) oraz w grupie bez zakażenia (K)



Rycina 2. Stężenie PCT w różnych płynach ustrojowych w grupie z zakażeniem wewnątrzmacicznym (B) oraz w grupie bez zakażenia (K)

W grupie badanej stężenie Il-6 oraz PCT w płynie owodniowym było najwyższe, spośród analizowanych płynów ustrojowych. Wyniki zostały przedstawione w tabeli 6.

Tabela 6. Stężenie Il-6 i PCT w różnych materiałach badawczych w grupie badanej

GRUPA BADANA N=12									
Badany parametr	Krew żylna (1)		Płyn owodniowy (2)		Wydzielina pochwowa (3)		Wartość p		
	Me	IQR	Me	IQR	Me	IQR	1 vs 2	1 vs 3	2 vs 3
Il-6 [pg/ml]	6,3	9,2	920	5322	9,65	20,95	<b>p&lt;0.0001</b>	<b>p=0.04</b>	<b>p&lt;0.0001</b>
PCT [ng/ml]	0,06	0,07	0,07	0,05	0,04	0,05	p=0.11	<b>p=0.03</b>	<b>p&lt;0.0001</b>

Legenda: Me- mediana, IQR –rozstęp międzykwartyłowy

Podobnie jak w grupie badanej, w grupie kontrolnej stężenie Il-6 oraz PCT w płynie owodniowym było najwyższe spośród analizowanych płynów ustrojowych. Wyniki zostały przedstawione w tabeli 7.

Tabela 7. Stężenie Il-6 i PCT w różnych materiałach badawczych w grupie kontrolnej.

GRUPA KONTROLNA N=34									
Badany parametr	Krew żylna (1)		Płyn owodniowy (2)		Wydzielina pochwowa (3)		Wartość p		
	Me	IQR	Me	IQR	Me	IQR	1 vs 2	1 vs 3	2 vs 3
Il-6 [pg/ml]	2,6	1,4	221,8	91,6	2,7	1,1	<b>p&lt;0.0001</b>	p=0.13	<b>p&lt;0.0001</b>
PCT [ng/ml]	0,05	0,02	0,06	0,03	0,03	0,01	p=23	<b>p=0.01</b>	<b>p&lt;0.0001</b>

Legenda: Me- mediana; IQR –rozstęp międzykwartyłowy

### 4.3 Analiza stężenia glukozy w płynie owodniowym

Analiza stężenia glukozy w płynie owodniowym wykazała istotne różnice między grupami. Wyniki różnic stężenia glukozy w płynie owodniowym przedstawia tabela nr 8.

Tabela 8. Stężenie glukozy w płynie owodniowym w grupie badanej i kontrolnej

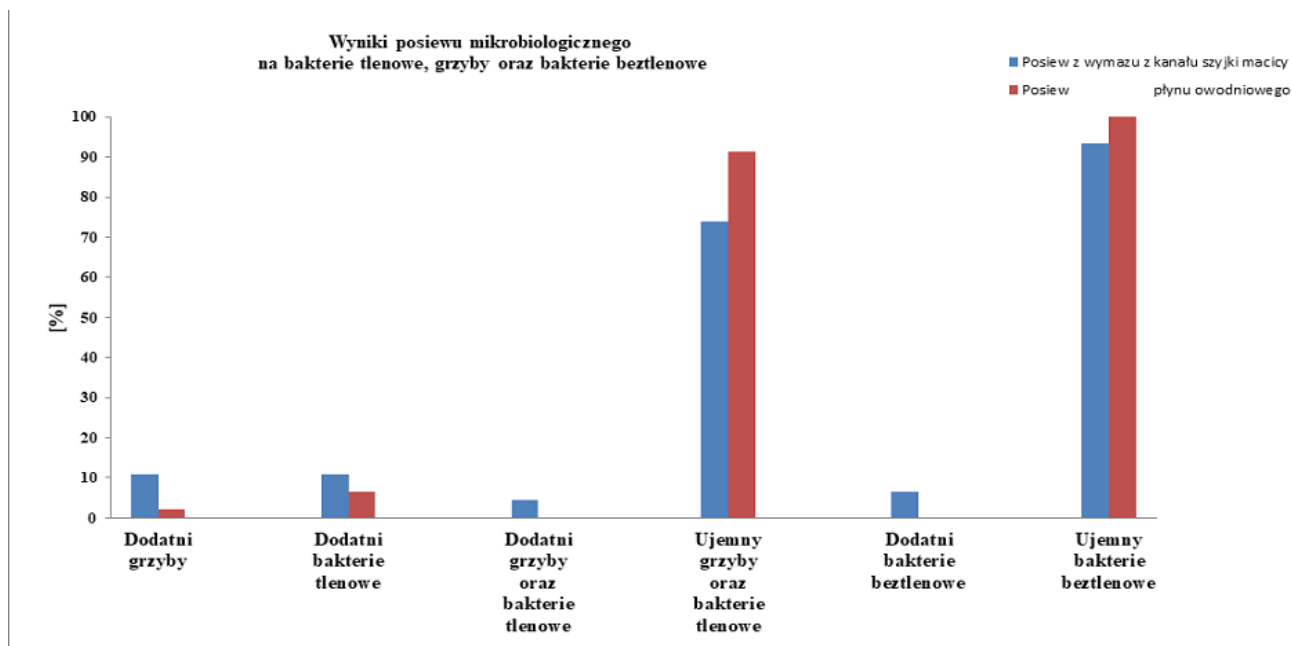
Parametr	BADANA N=12		KONTROLA N=34		p
	Me	IQR	Me	IQR	
Glukoza płyn owodniowy [mg /dl]	16	11	25	11	<b>0.002</b>

Legenda: Me-mediana; IQR-rozstęp międzykwartyłowy

### 4.4 Ocena przydatności badań mikrobiologicznych w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego

#### Porównanie wyników posiewów mikrobiologicznych z wymazu z szyjki macicy i z płynu owodniowego

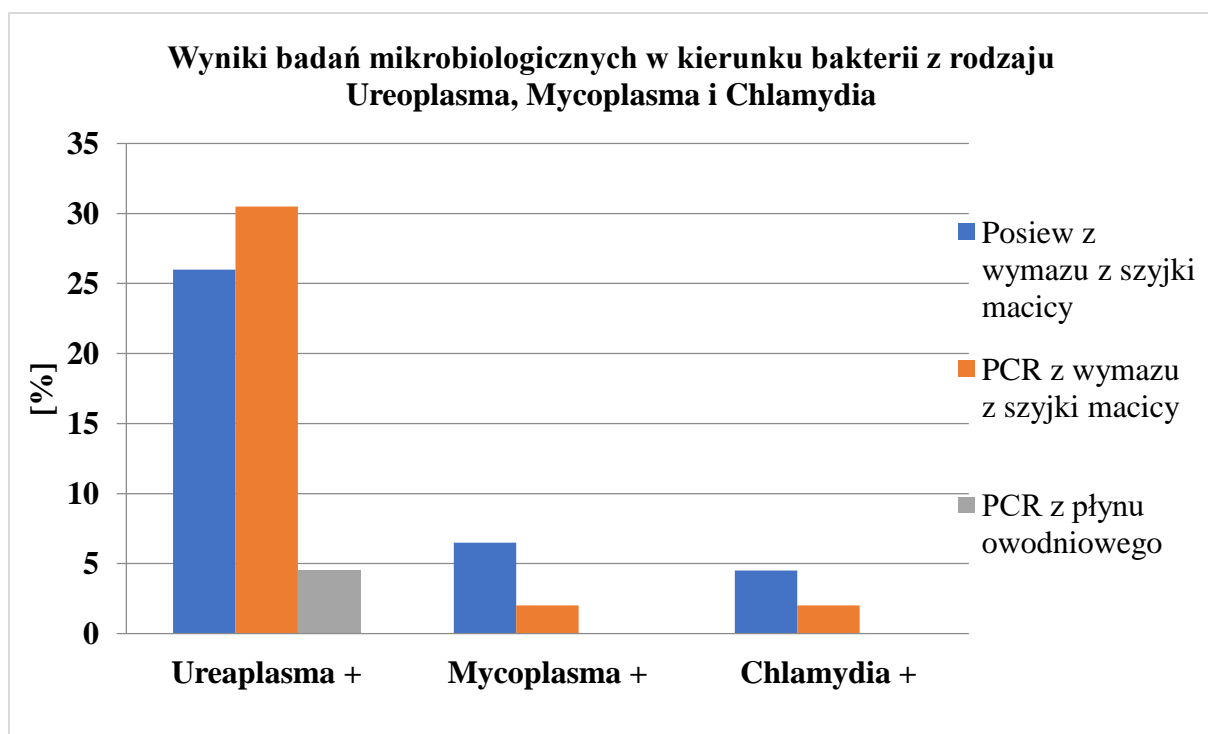
U wszystkich pacjentek wykonano posiew mikrobiologiczny wymazu szyjki macicy oraz płynu owodniowego, w kierunku bakterii tlenowych, grzybów oraz bakterii beztlenowych. Najczęstszym typem zakażenia w wymazie szyjki macicy było zakażenie grzybicze oraz wzrost bakterii tlenowych, co dotyczyło 11% pacjentek, 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. Wyniki posiewów mikrobiologicznych z wymazu szyjki macicy i płynu owodniowego zostały przedstawione na wykresie nr 1.



Wykres 1. Wyniki posiewów mikrobiologicznych z wymazu z szyjki macicy i płynu owodniowego

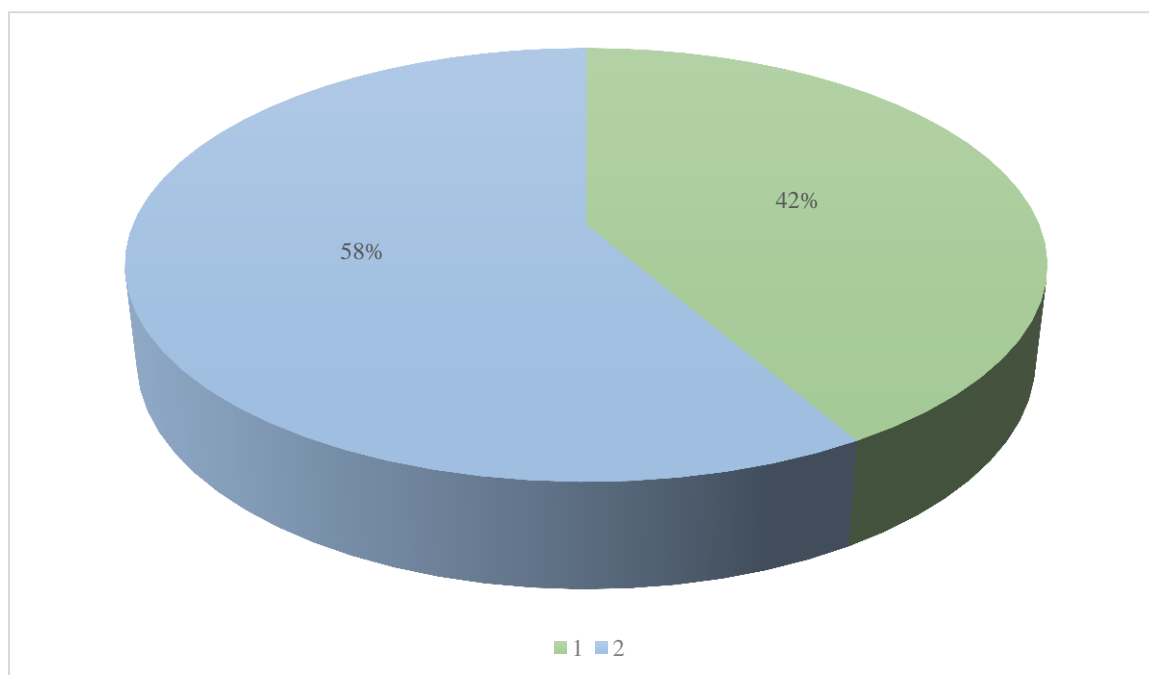
### **Porównanie wyników posiewów mikrobiologicznych oraz analiz metodą PCR w kierunku obecności *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* oraz *Chlamydia trachomatis*.**

Wszystkie pacjentki miały wykonany posiew (z użyciem testu Mycoplasma IST 3 oraz NADAL) z wymazu szyjki macicy w kierunku *Ureaplasma spp.*, *Mycoplasma hominis* oraz *Chlamydia trachomatis* oraz analizę PCR z wymazu szyjki macicy i płynu owodniowego, w kierunku tych atypowych patogenów. Najczęstszym czynnikiem etiologicznym zakażenia, niezależnie od wybranej metody i materiału badanego, okazały się patogeny atypowe *Ureaplasma spp.* 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 analiz zostały przedstawione na wykresie nr 2.

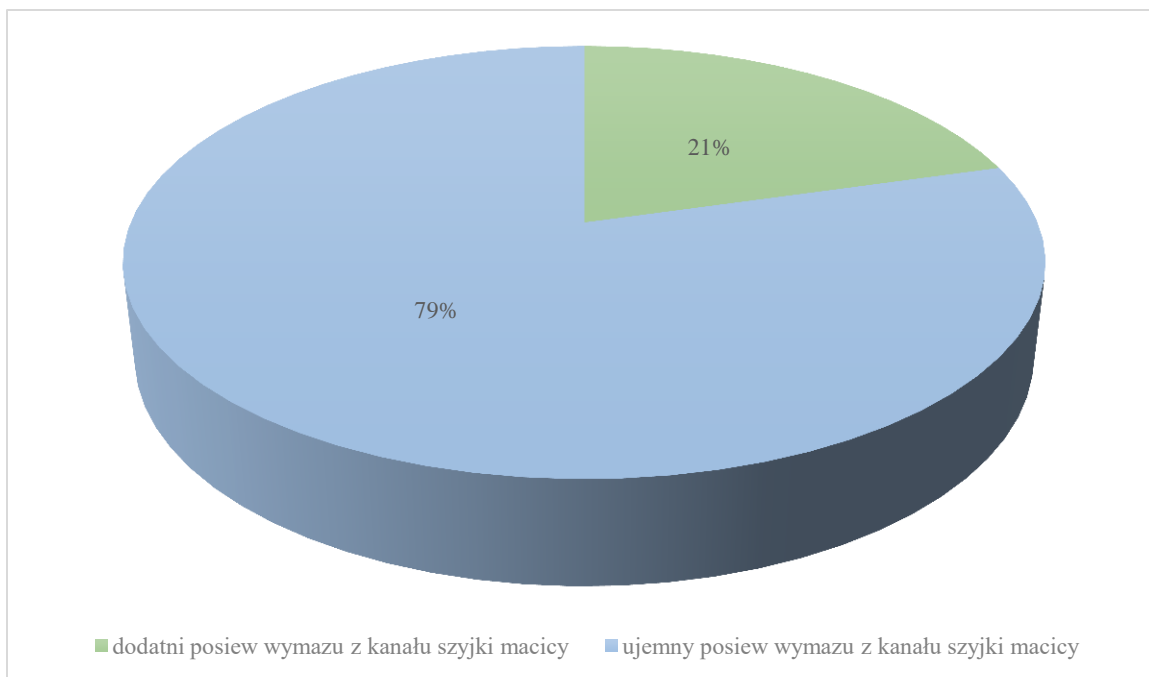


Wykres 2. Wyniki badań mikrobiologicznych w kierunku patogenów atypowych z rodzaju *Ureaplasma*, *Mycoplasma*, *Chlamydia*

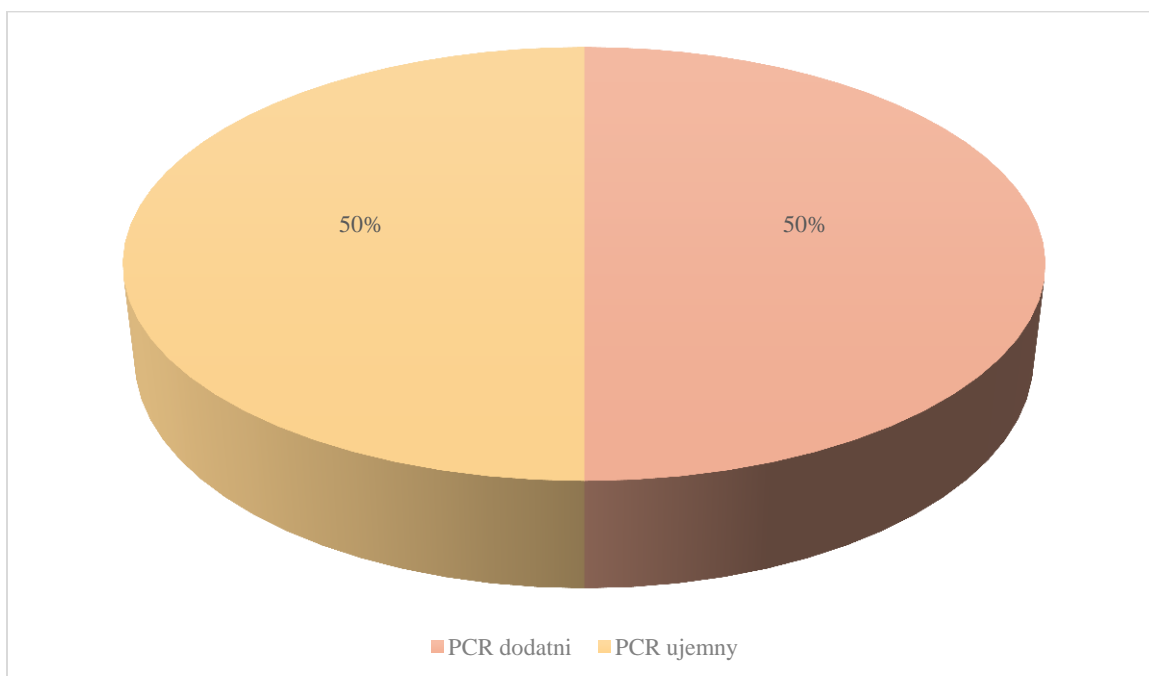
**Procentowy rozkład wykonanych posiewów mikrobiologicznych oraz PCR w kierunku patogenów atypowych w poszczególnych grupach.**



Wykres 3. Posiew z kanału szyjki macicy w kierunku *Ureaplasma* spp. w grupie badanej

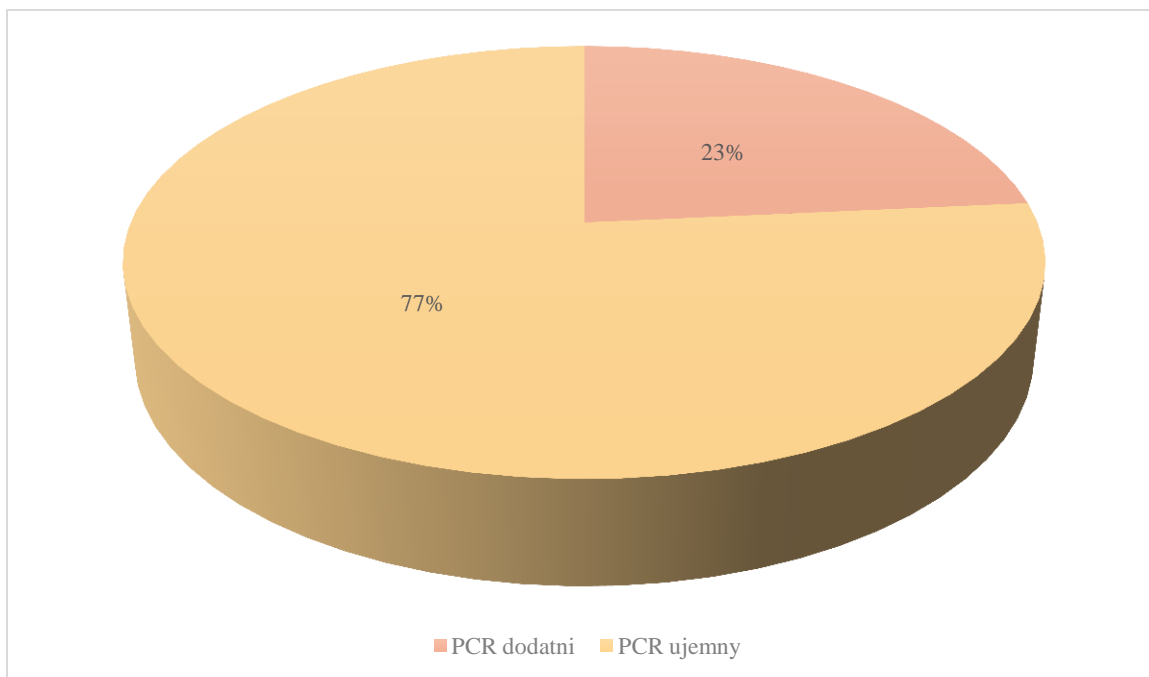


Wykres 4. Posiew z kanału szyjki macicy w kierunku *Ureaplasma spp.* w grupie kontrolnej

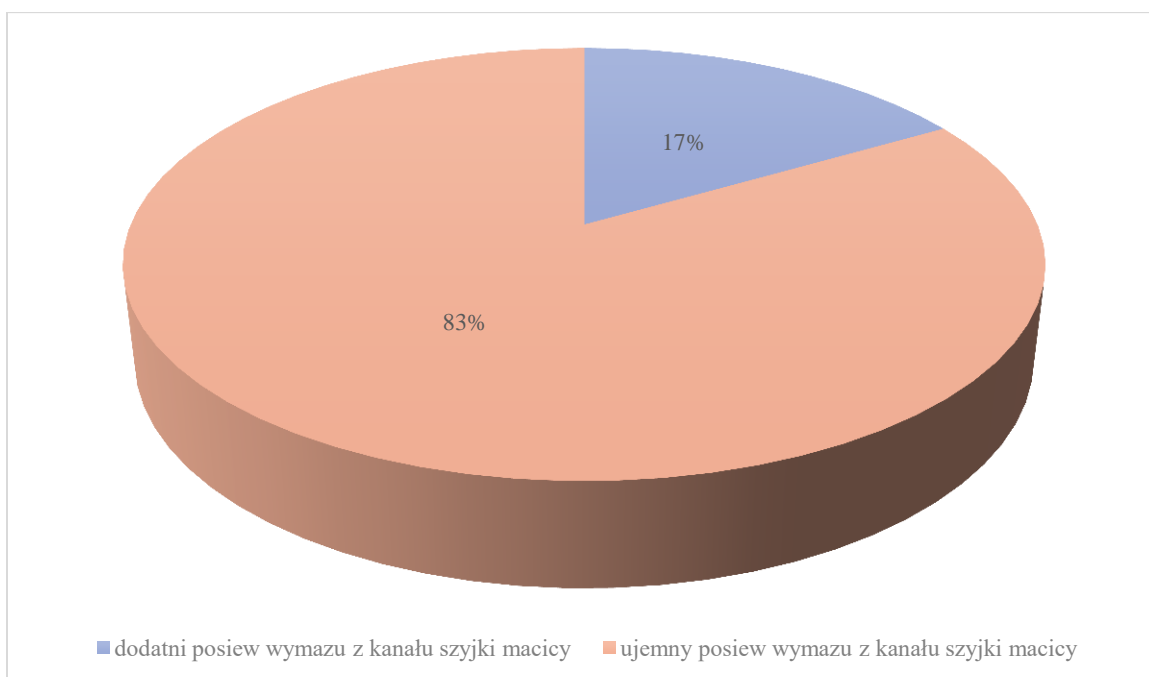


Wykres 5. PCR z wymazu z kanału szyjki macicy w kierunku *Ureaplasma urealyticum* w grupie badanej

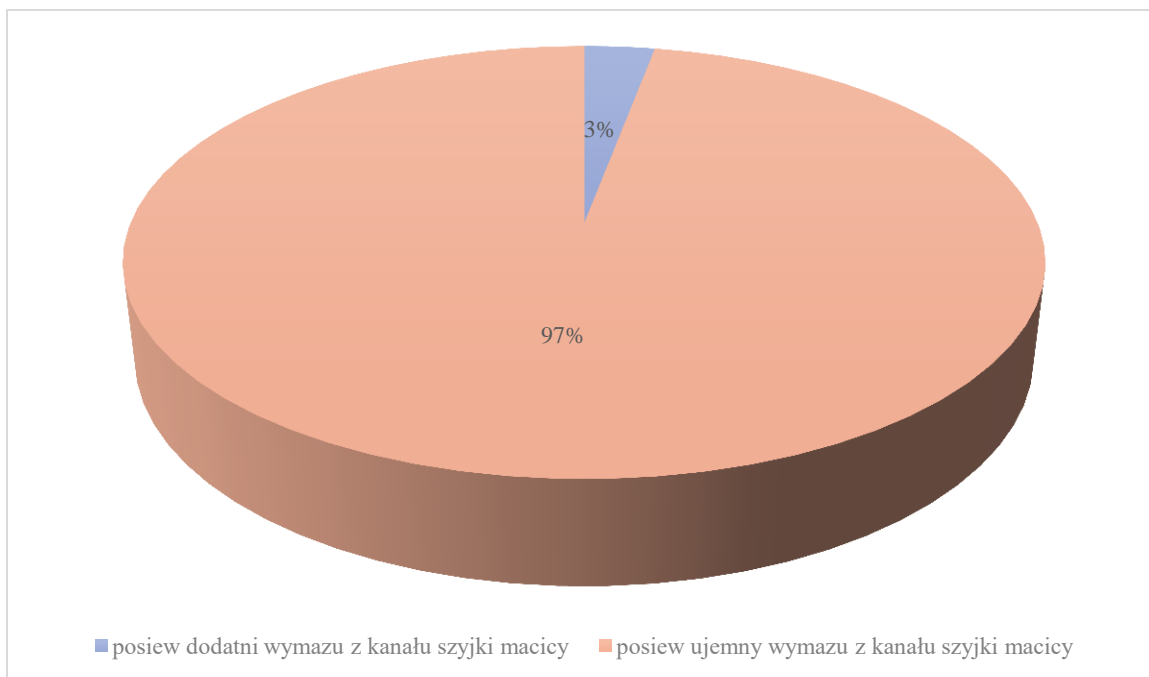




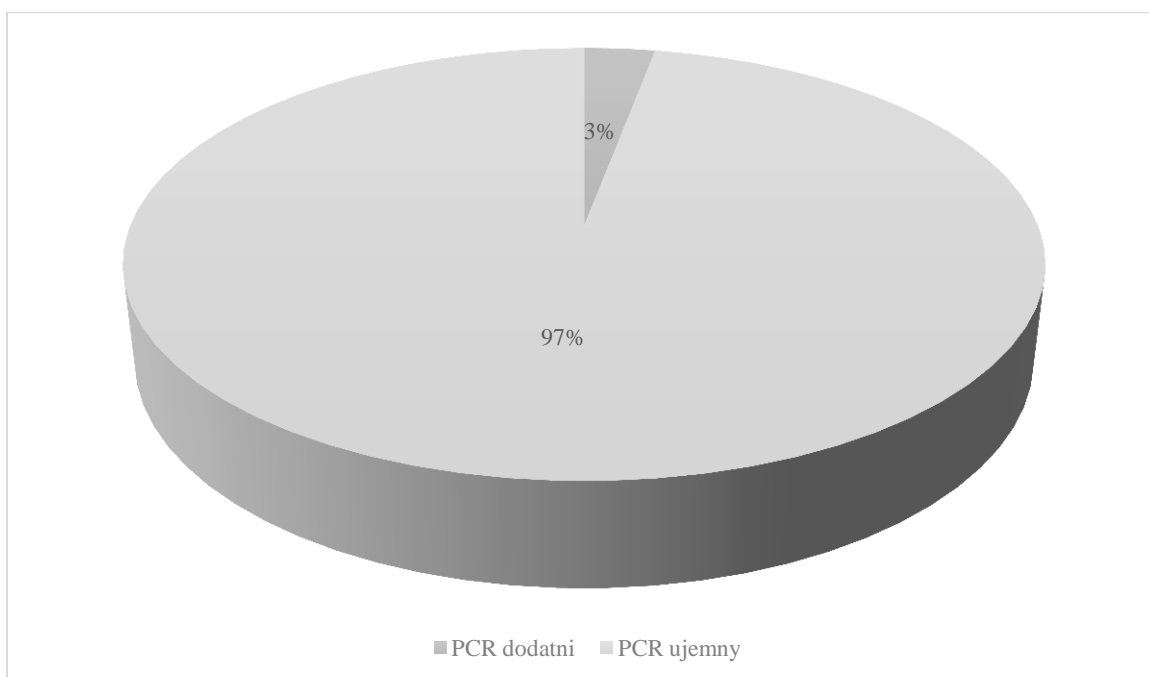
Wykres 6. PCR z wymazu z kanału szyjki macicy w kierunku *Ureaplasma urealyticum* w grupie kontrolnej



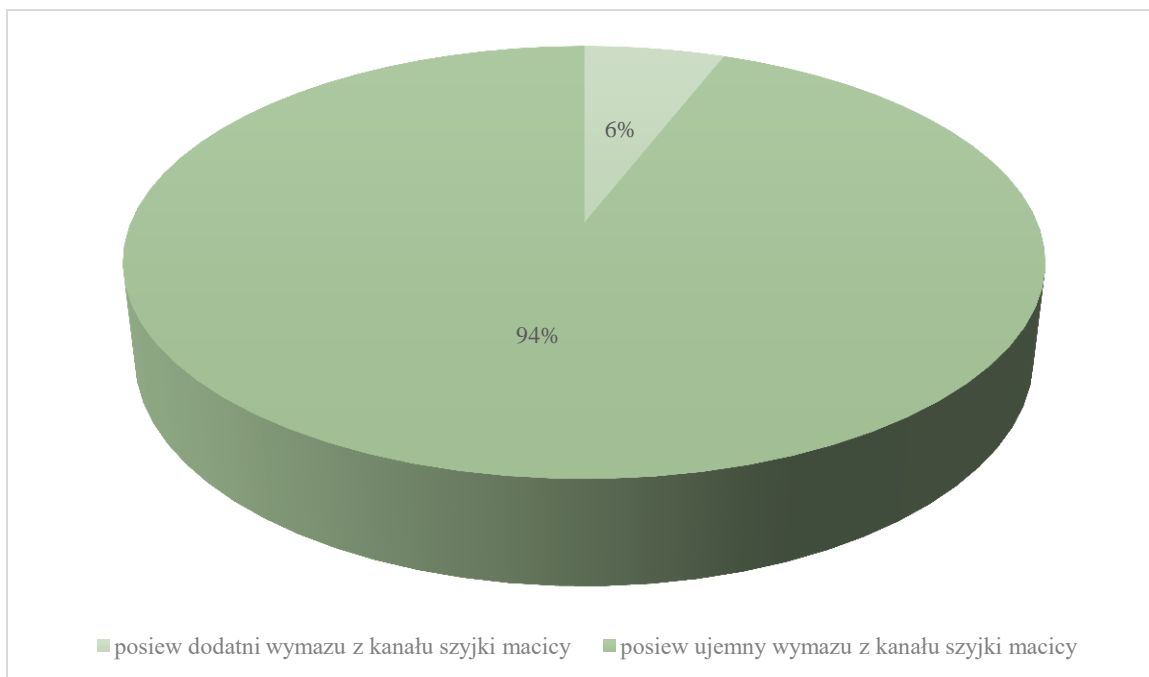
Wykres 7. Posiew z kanału szyjki macicy w kierunku *Mycoplasma hominis* w grupie badanej



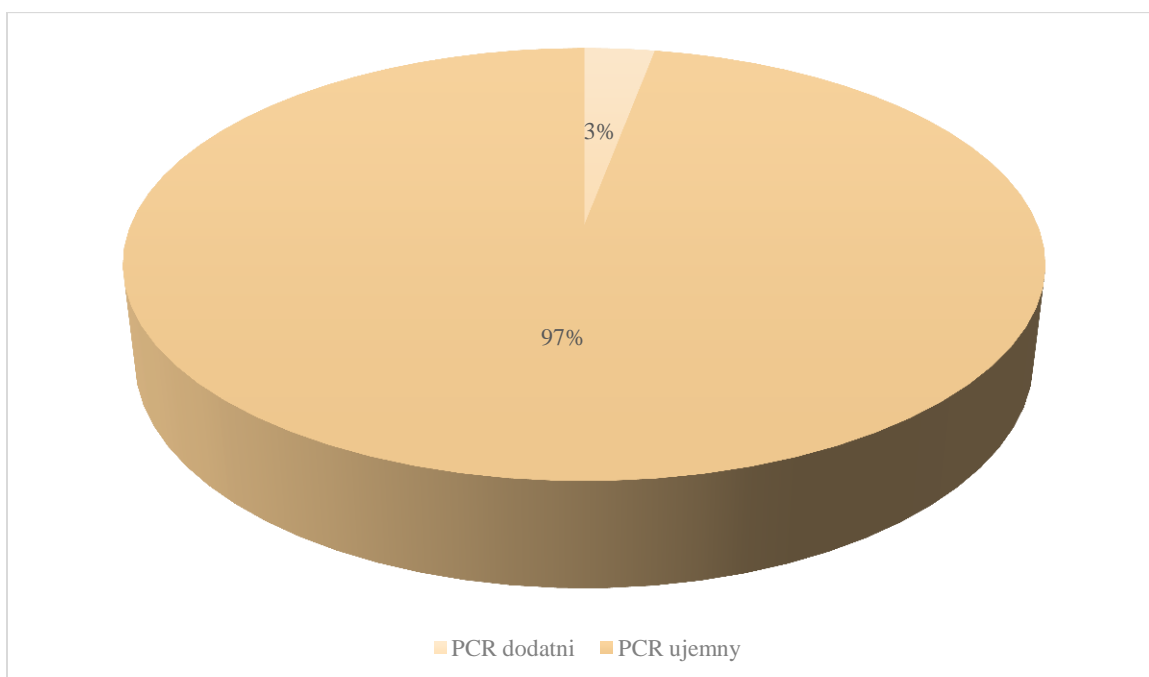
Wykres 8. Posiew wymazu z kanału szyjki macicy w kierunku *Mycoplasma hominis* w grupie kontrolnej



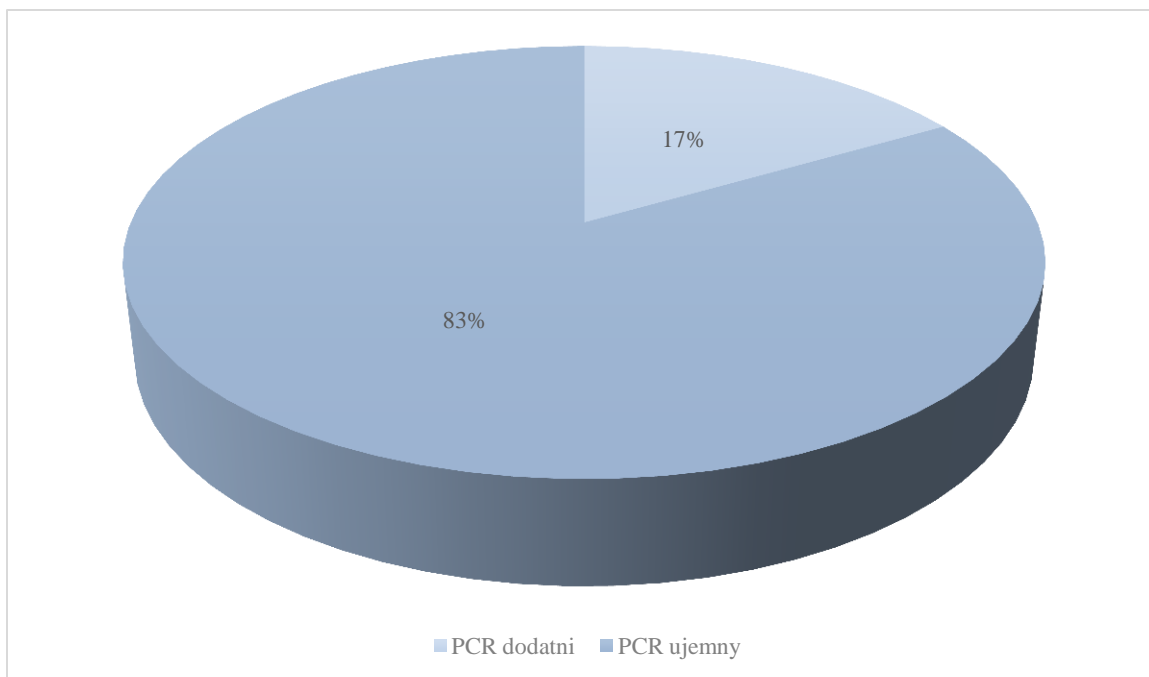
Wykres 9. PCR z wymazu z kanału szyjki macicy w kierunku *Mycoplasma hominis* w grupie kontrolnej



Wykres 10. Posiew wymazu z kanału szyjki macicy w kierunku *Chlamydia trachomatis* w grupie kontrolnej



Wykres 11. PCR z wymazu z kanału szyjki macicy w kierunku *Chlamydia trachomatis* w grupie kontrolnej



Wykres 12. PCR z płynu owodniowego w kierunku *Ureaplasma urealyticum* w grupie badanej

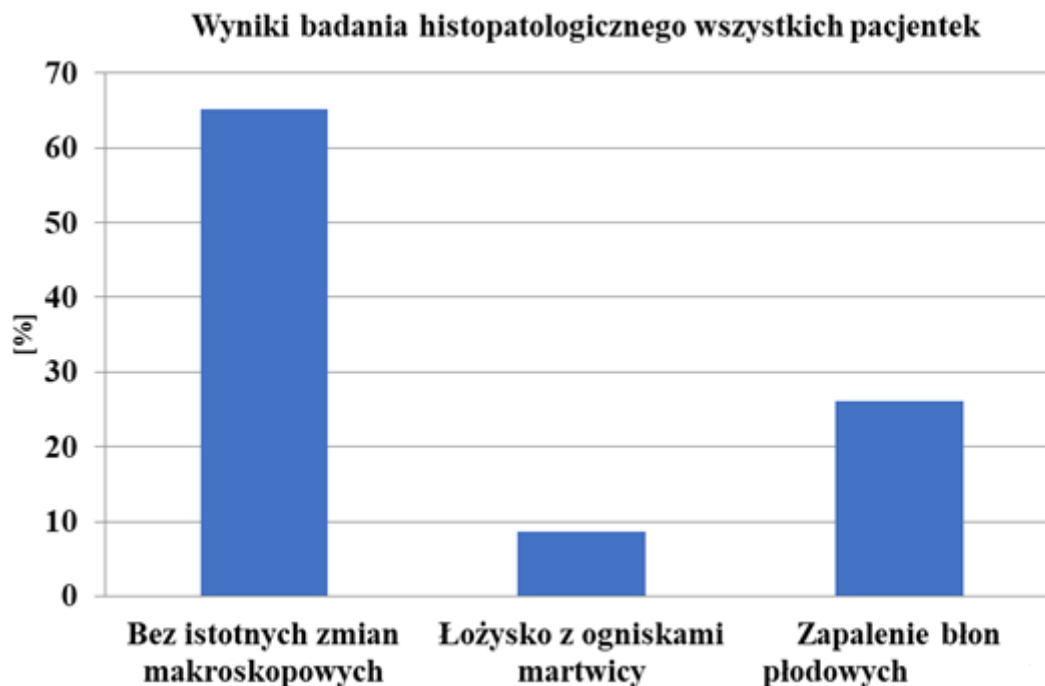
W badaniu mikrobiologicznym płynu owodniowego u jednej z pacjentek grupy kontrolnej uzyskano dodatni wynik posiewu tlenowego płynu owodniowego. Uzyskano jednorodny wzrost *Escherichia coli*, pomimo braku cech zapalenia w badaniu histopatologicznym płodu. Na podstawie analizy dokumentacji medycznej noworodka urodzonego przez matkę z wyżej wymienionym wynikiem, nie stwierdzono obecności zakażenia wrodzonego. Również follow up noworodka wypadł negatywnie dla zakażenia. Być może obecność tych bakterii w płynie owodniowym wystąpiła niedługo przed rozwiązaniem, zanim doszło do rozwinięcia się stanu zapalnego, a antybiotyk zastosowany przed cięciem cesarskim ochronił matkę i dziecko?

#### **Porównanie metod posiewu mikrobiologicznego oraz analizy PCR z wymazu szyjki macicy w kierunku *Ureaplasma spp.***

Wyniki analizy statystycznej pokazały, że nie istnieją statystycznie istotne różnice między metodą posiewu oraz metodą PCR ( $p=0.13$ ). Oznacza to, że metody te dały porównywalne wyniki.

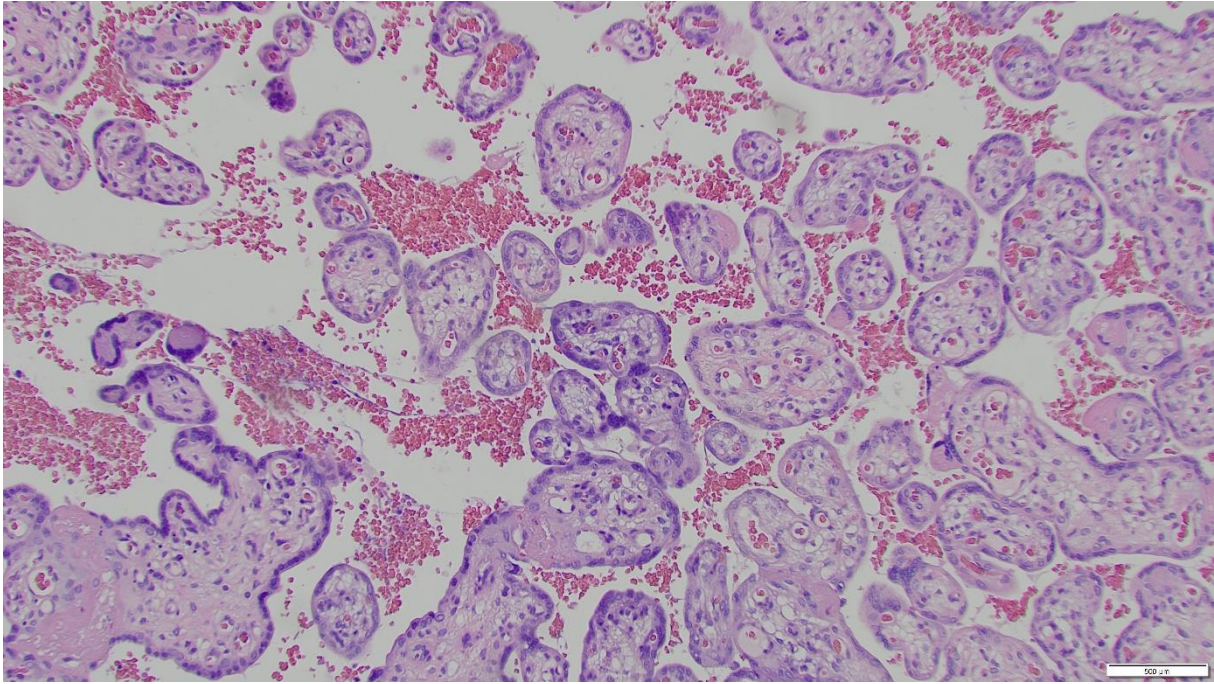
#### 4.5 Analiza wyników badania histopatologicznego.

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, nie znaleziono zmian zapalnych w preparatach łożyskowych. Wyniki zostały przedstawione na wykresie nr 3.

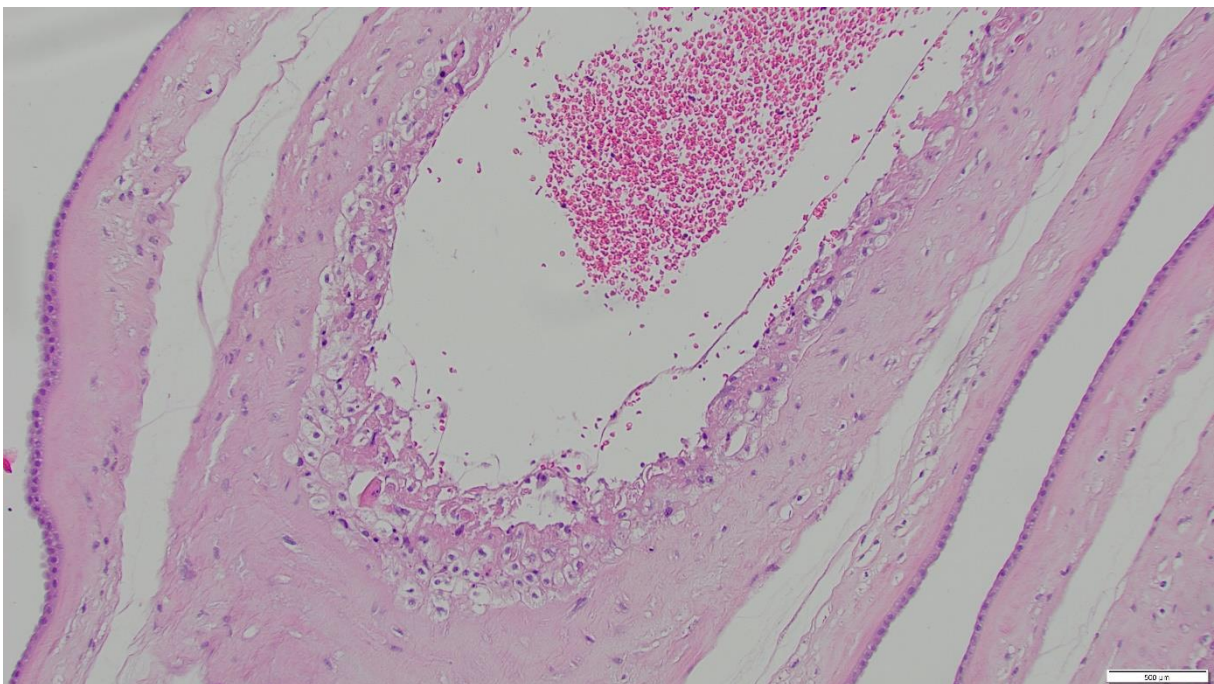


Wykres 13. Wyniki badania histopatologicznego

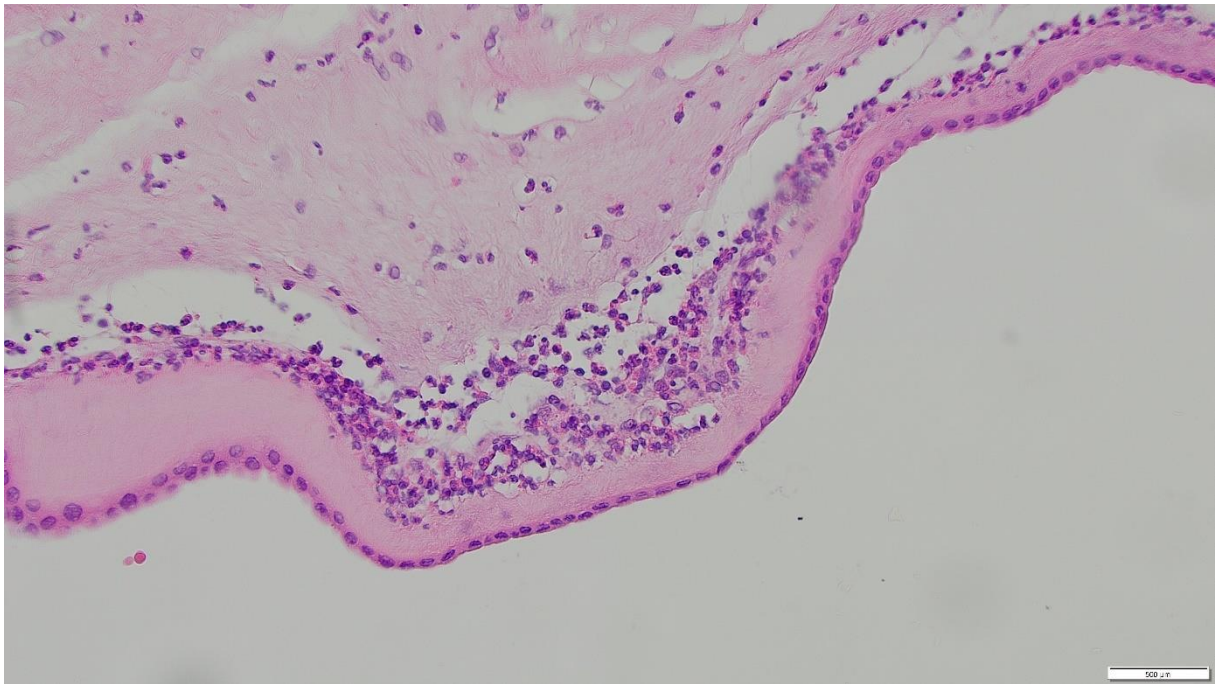
Na podstawie wyniku badania histopatologicznego podzielono pacjentki na te z zakażeniem wewnątrzodniowym (grupa badana B) i bez zakażenia (grupa kontrolna K). U wszystkich pacjentek z zakażeniem wewnątrzmacicznym wykazano obecność nacieku zapalnego w błonach płodowych.



Rysunek 1. Kosmki łożyskowe bez zmian patologicznych (HE, x100)



Rysunek 2. Błony płodowe bez zmian patologicznych. (HE, x100)



Rysunek 3. Ropne zapalenie błon płodowych. W nacieku zapalnym widoczne liczne neutrofile (HE, x2000).

### **Porównanie metod mikrobiologicznych i histopatologicznych w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzowodniowego.**

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 ( $p = 0,03$ ). W dwóch przypadkach dodatni posiew dotyczył *Ureaplasma spp.*, noworodki tych matek również były zakażone (wcześniaki z niską urodzeniową masą ciała), w jednym przypadku było to zakażenie *Candida* (noworodek tej matki urodził się zakażony, leczony od urodzenia, tzw. późny wcześniak). Znacząca liczba ujemnych wyników posiewów w grupie badanej mogła mieć związek z antybiotykoterapią prenatalną, a zanieczyszczenia florą skóry z błędami przedlaboratoryjnymi.

## 4.6 Ocena związku wybranych parametrów biochemicznych z wystąpieniem zakażenia wewnątrzmacicznego

Wyniki analizy regresji logistycznej pokazały, że podwyższenie różnych parametrów stanu zapalnego było związane ze wzrostem ryzyka wystąpienia zakażenia wewnątrzmacicznego. Wzrost stężenia glukozy w płynie owodniowym był związany ze spadkiem ryzyka zakażenia wewnątrzmacicznego. Wyniki zostały przedstawione w tabeli nr 9.

Tabela 9. Wyniki analizy regresji logistycznej ryzyka wystąpienia zakażenia wewnątrzmacicznego

<b>Analiza regresji logistycznej ryzyka zakażenia wewnątrzmacicznego</b>				
<b>Parametr</b>	<b>OR</b>	<b>95%CI</b>	<b>P</b>	
CRP we krwi [mg/l]	1,23	1,24-1,89	0,34	
Il-6 we krwi [pg/ml]	1.25	1.062-1.52	<b>0.012</b>	
Il-6 w wydzielinie z pochwy [pg/ml]	1.59	1.23-2.32	<b>0.003</b>	
Il-6 w płynie owodniowym [pg/ml]	1.01	1.0004-1.06	<b>0.01</b>	
PCT we krwi [ng/ml]	1.3	1.02-1.17	0.6	
PCT w wydzielinie z pochwy [ng/ml]	2.7	1.72-5.6	<b>0.011</b>	
PCT w płynie owodniowym [ng/ml]	3.72	1.67-4.59	<b>0.001</b>	
glukoza w płynie owodniowym [mg/dl]	0.75	0.6-0.86	<b>0.001</b>	

Legenda: CRP- stężenie białka C-reaktywnego; Il-6 -stężenie interleukiny 6, PCT- stężenie prokalcytoniny

Dla ustalenia wartości odcięcia zmiennych ciągłych dla zapalenia błon płodowych i łożyska w badaniu histopatologicznym, względem pacjentek bez istotnych zmian makroskopowych (grupa referencyjna) zastosowano analizę krzywych ROC (Receiver Operating Characteristic Curves). Wyniki opisano przez podanie powierzchni pod krzywą (AUC), błąd standardowy AUC (SD), 95% przedział ufności dla AUC (95% CI), prawdopodobieństwa p, oraz współrzędnych krzywych ROC, czyli dla poszczególnych zakresów wartości zmiennej ciągłej oszacowano czułość grupy 'zapalenie' i swoistość grupy referencyjnej.



Tabela 10. Analiza ROC dla badanych parametrów: AUC, cut of point, SE, SP.

Parametr	AUC	SD	95%CI	p	Cut off point	SE	SP
CRP krew	0,63	0,12	0,56-0,93	0,2044	7,82	58	89
Il-6 krew	0,72	0,12	0,49-0,94	<b>0,0319</b>	4,55	75	85
Il-6 VF	0,95	0,05	0,85-1,05	<b>&lt;0,00001</b>	6,05	92	96
Il-6 AF	0,88	0,08	0,72-1,04	<b>0,0001</b>	1100	83	97
PCT krew	0,66	0,1	0,47-0,85	0,12	0,055	67	70
PCT VF	0,83	0,09	0,66-1,0	<b>0,0015</b>	0,035	73	96
PCT AF	0,79	0,09	0,62-0,96	<b>0,0041</b>	0,085	67	87
Glukoza AF	0,93	0,04	0,86-1,01	<b>&lt;0,00001</b>	18,5	100	80

Legenda: Il-6 – stężenie interleukiny 6 (pg/ml); PCT – stężenie prokalcytoniny (ng/ml); CRP- stężenie białka C-reaktywego ( mg/l); AUC (area under curve) wielkość pola po krzywą; SD (standard deviation) błąd standardowy pola pod krzywą; CI (confidence interval) przedział ufności; SE – (sensitivity, %) czułość; SP – (specificity; %) swoistość; VF (vaginal fluid) wydzielina pochwowa; AF (amniotic fluid) płyn owodniowy; cut of point- punkt odcięcia

## 5. Dyskusja i omówienie wyników

### **Określenie czy stężenie CRP we krwi ma związek z wystąpieniem zakażenia wewnątrzmacicznego.**

Jednym z podstawowych badań powszechnie stosowanych w diagnostyce zakażenia wewnątrzrodniowego jest oznaczenie stężenia białka C-reaktywnego we krwi. Związane jest to z szeroką dostępnością oraz stosunkowo niskimi kosztami wymienionego badania. Białko C-reaktywne należy do białek ostrej fazy, syntetyzowanych w wątrobie w odpowiedzi na działanie interleukiny-6, interleukiny-1 oraz czynnika martwicy nowotworów. Poziom stężenia CRP zaczyna wzrastać około 6-8 godzin po pojawieniu się czynnika pobudzającego wzrost poziomu białka. Szczyt stężenia zostaje osiągnięty po 24-72 godzinach.

W badaniach własnych mediana stężenia CRP we krwi pacjentek grupy badanej wynosiła 7,36 mg/l, natomiast we krwi pacjentek grupy kontrolnej 2,99 mg/l, różnice nie były istotne ( $p=0,15$ ). Wyniki uzyskane za pomocą regresji logistycznej wykazały, że wzrost stężenia CRP we krwi nie zwiększa ryzyka zakażenia wewnątrzrodniowego (OR-1,23; 95%CI 1,24-1,89;  $p=0,34$ ). Analiza krzywej ROC wykazała AUC na poziomie 0,63; ( $p=0,2$ ); czułość 58%, swoistość 89%. Odmienne wyniki uzyskał Caloone i wsp. w pracy dotyczącej oceny m.in. CRP w przewidywaniu chorioamnionitis w badaniu histopatologicznym u pacjentek z przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego pomiędzy 22-36+6 t.c. Pacjentki podzielono na grupę z histopatologicznym chorioamnionitis oraz bez chorioamnionitis w badaniu popłodu. Wśród pacjentek ze zmianami zapalnymi w popłodzie poziom CRP we krwi był znacząco wyższy niż u pacjentek bez zapalenia 10,1 mg/ml (zakres 4-20,5 mg/ml) vs 4 mg/ml (zakres 2,1-7,5),  $p<0,001$ . Analiza krzywej ROC wykazała AUC= 0,7; 95%CI: 0,64-0,77 [46]. Podobne wyniki zaprezentował Yoon i wsp. Wykazał on, że mediana stężenia CRP we krwi u pacjentek zapaleniem w badaniu histopatologicznym popłodu jest znacząco wyższa od tej występującej u pacjentek bez zapalenia (0,4 vs 1,2 mg/dl); AUC=0,79. Stężenie 0,7 mg/ml związane było z uzyskaniem czułości wynoszącej 0,81 w identyfikacji ostrego zapalenia w obrębie popłodu [47]. Z kolei Torbe i wsp. próbował określić przydatność oznaczania CRP w surowicy krwi matek z pPROM w przewidywaniu wystąpienia zakażenia wrodzonego u noworodka. Średnie stężenie CRP w surowicy matki rodzącej dziecko z zakażeniem wrodzonym wynosiło 9,4 mg/l w porównaniu do stężenia

równego 6,3 mg/l ( $p=0,32$ ). Ustalono dwa punkty odcięcia dla stężenia CRP w surowicy, cut-off  $\geq 10$  mg/l i  $\geq 15$  mg/l. Czulość, swoistość, PPV oraz NPV w przewidywaniu zakażenia wrodzonego u noworodka wynosiła odpowiednio 47% vs 47%, 63% vs 76%, 38% vs 47%, 72% i 76%. W związku z uzyskanymi wynikami, wysunięto wniosek, że stężenie CRP w surowicy matki ma niską wartość diagnostyczną w przewidywaniu wystąpienia zakażenia wrodzonego u noworodków [48]. Podobne wyniki uzyskał Martius i wsp. Wyniki analizy regresji logistycznej wykazały, że stężenie CRP  $> 15$  mg/l nie zwiększa ryzyka zakażenia wrodzonego u noworodka [49].

### **Określenie czy stężenie IL-6 we krwi, w wydzielinie pochwowej oraz w płynie owodniowym ma związek z wystąpieniem zakażenia wewnątrzmacicznego.**

Interleukina-6 jest cytokiną prozapalną wytwarzaną głównie przez limfocyty T oraz monocyty, ale też limfocyty B, komórki śródbłonka oraz makrofagi. Jej działanie jest wielokierunkowe, m.in. odpowiada za indukcję gorączki, wpływa na hepatocyty stymulując je do produkcji białek ostrej fazy, pobudza limfocyty B do produkcji przeciwciał. Omawiana cytokina prozapalna wpływa na hematopoezę, poprzez obniżenie poziomu żelaza, co przekłada się na rozwój niedokrwistości. W szpiku kostnym stymuluje dojrzewanie megakariocytów, skutkujące wzrostem poziomu trombocytów. W rozwijającym się procesie zapalnym jej poziom może osiągnąć wartość kilku tysięcy pg/ml. Porównując ją do innych prozapalnych cytokin m.in. Il-1 oraz czynnika martwicy nowotworów, cechuje się najdłuższym okresem półtrwania. Jej główną zaletą jest osiągnięcie najwyższych stężeń w surowicy po 2-3 godzinach od stymulacji [50]. W moim badaniu mediana stężenia interleukiny-6 we krwi wynosiła w grupie badanej 6,2 pg/ml, w grupie kontrolnej 2,6 pg/ml ( $p=0,008$ ). Wyniki analizy regresji logistycznej wykazały, że wzrost stężenia Il-6 we krwi, zwiększa ryzyko wystąpienia zakażenia wewnątrzowodniowego (OR=1,25, 95%CI:1,062-1,52,  $p=0,012$ ). Analiza ROC dla Il-6 we krwi wykazała AUC = 0,72 ( $p=0,03$ ), punkt odcięcia na poziomie 4,55 pg/ml, czulość 75% oraz swoistość 85%. Park i wsp. przeprowadzili badanie, które polegało na ocenie wybranych cytokin zapalnych w tym Il-6 we krwi matki oraz płynie owodniowym, w przewidywaniu występowania zakażenia

wewnątrzowodniowego oraz spontanicznego porodu przedwczesnego u pacjentek w wieku ciążowym 23-33+6 t.c. z rozpoznaniem porodem przedwczesnym. Infekcja wewnątrzmaciczna rozpoznawana była na podstawie posiewu płynu owodniowego. Stężenie IL-6 u pacjentek z dodatnim posiewem płynu było istotnie wyższe (średnia wartość  $9,9 \pm 9,3$  pg/ml) niż u kobiet z ujemnym wynikiem badania mikrobiologicznego (średnia wartość  $4,6 \pm 6,1$  pg/ml)  $p=0,001$ . Dodatkowo analiza regresji logistycznej wykazała, że wysoki poziom IL-6 (4,8 pg/ml) w osoczu matki, był istotnie związany z nadchodzącym porodem przedwczesnym ( $p=0,001$ ) [51]. Praca Cobo i wsp., w której przeprowadzono analizy wielu cytokin we krwi, w tym IL-6, u kobiet z porodem przedwczesnym oraz pPROM w 22-33+6 t.c dostarcza nieco innych informacji. U pacjentek z przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego oraz mikrobami w płynie owodniowym mediana dla IL-6 wynosiła 19 pg/ml (zakres 3,9-106,2 pg/ml), natomiast w przypadku braku patogenów w płynie, mediana dla IL-6 wynosiła 16 pg/ml (zakres 3,9-106,2 pg/ml), jednak różnica nie była istotna. W grupie pacjentek z przedwczesnym porodem i dodatnim płynem owodniowym, mediana dla IL-6 wynosiła 18 pg/ml (zakres 4-4000 pg/ml), a u pacjentek z ujemnym wynikiem badania mikrobiologicznego płynu, mediana dla IL-6 wynosiła 16 pg/ml (zakres 4-3475,4 pg/ml), różnice również nie były istotne. Jedynie po podziale pacjentek na grupy w zależności od wieku ciążowego uzyskano istotne statystycznie wyniki, mianowicie w przypadku pacjentek z porodem przedwczesnym w wieku ciążowym 22-31+6 t.c mediana dla IL-6 wynosiła 21 pg/ml (zakres 12,6-4000 pg/ml) u kobiet z infekcją w płynie owodniowym oraz mediana dla IL-6 14 pg/ml (zakres 4-1001,5 pg/ml)  $p=0,019$  u pacjentek bez infekcji. Wśród wielu badanych substancji we krwi obwodowej matki, jedynie IL-6 miała znacząco wyższe wartości u pacjentek z porodem przedwczesnym [52]. Z kolei Kopyra i wsp. w badaniu zajmującym się oceną przydatności m.in. IL-6 w przewidywaniu zakażenia wewnątrzowodniowego oraz stanu noworodka u ciężarnych z przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego wykazał, że u dzieci matek z poziomem IL-6 przekraczającym 5 pg/ml, częściej występowały objawy infekcji wrodzonej, niż u pacjentek ze stężeniem IL-6 poniżej 5 pg/ml, uzyskując statystycznie istotne różnice [23]. Martinez-Portilla i wsp. przeprowadzili badanie u pacjentek pomiędzy 26-36+6 t.c z pPROM celem oceny stężenia IL-6 we krwi matki w przewidywaniu występowania chorioamnionitis w badaniu histopatologicznym. U 66 % pacjentek objętych badaniem rozpoznano histologiczne zapalenie błon płodowych. Stężenie IL-6 19,5 pg/ml stanowiło najlepszy punkt odcięcia w przewidywaniu zapalenia błon płodowych (OR=15; 95% CI: 3,6–61;  $p < 0,01$ [53]).

Interleukina-6 odgrywa też znaczącą rolę w przewidywaniu wystąpienia zbliżającego się porodu przedwczesnego. Mutrha i wsp. badali stężenie Il-6 u pacjentek w ciążach niedonoszonych z podwyższonym ryzykiem wystąpienia porodu przedwczesnego (co najmniej 4 skurcze/godzinę lub pPROM) ora bez czynników ryzyka porodu przedwczesnego. Wykazano, że u pacjentek bez zagrożenia porodem przedwczesnym wartość Il-6 wynosiła poniżej 8 pg/ml, natomiast u części pacjentek z czynnikami ryzyka wartość ta wynosiła  $\geq 8$  pg/ml. W przypadku poziomu Il-6  $\geq 8$  pg/ml w surowicy, mediana odstępu czasu od momentu pobrania próbki do porodu była znacznie krótsza (5,5 h) niż u pozostałych osób z grupy badanej i kontrolnej posiadających stężenie Il-6  $< 8$  pg/ml (240 oraz 1801 h)  $p=0,001$  [54]. Kopyra i wsp. w cytowanej wcześniej pracy uzyskał najwyższą wartość predykcyjną dla Il-6 w odniesieniu do czasu trwania ciąży od momentu pobrania próbki do porodu. W przypadku 7 dni AUC ROC wynosiło 0,690 (95% CI 0,525-0,856), dla 3 dni wartość AUC ROC wynosiła 0,582 (95% CI 0,407-0,756), dla 24 godzin wartość AUC ROC była równa 0,649 (95% CI 0,467-0,832). Ustalono, że stężenie Il-6 równe 7 pg/ml, stanowi punkt odcięcia przy podziale pacjentek na grupę niskiego oraz wysokiego ryzyka porodu w ciągu 7 dni. Na podstawie doniesień można stwierdzić, że poziom Il-6 wydaje się być podwyższony u pacjentek, u których przewidywany jest poród przedwczesny. Może okazać się to przydatne w przypadku leczenia pacjentek z czynnikami ryzyka porodu przedwczesnego [23].

W badaniach własnych stwierdzono istotne różnice stężeń Il-6 w wydzielinie pochwowej w grupie badanej i kontrolnej (mediana 9,65 pg/ml vs 2,7 pg/ml,  $p<0,0001$ ). Wyniki analizy regresji logistycznej wykazały, że wzrost stężenia Il-6 w wydzielinie pochwowej wiąże się ze wzrostem ryzyka zakażenia wewnątrzodniowego. Analiza ROC wykazała AUC na poziomie 0,95 ( $p<0,00001$ ) dla punktu odcięcia 6,05 pg/ml. Badanie to cechowało się wysoką czułością (92%) i swoistością 96%.

Torbe i wsp. oceniał rolę cytokin prozapalnych w tym IL-6 w wydzielinie pochwowej w przewidywaniu wystąpienia zakażenia wrodzonego u noworodka w przypadku przedwczesnego pęknięcia pęcherza płodowego u ciężarnych pomiędzy 24-34 tygodniem ciąży. U pacjentek, które urodziły dzieci z objawami infekcji, mediana dla Il-6 w wydzielinie pochwowej wynosiła 1470 pg/ml, natomiast u pacjentek, których noworodki były zdrowe mediana była równa 1014 pg/ml. Stężenie Il-6  $\geq 2000$  pg/ml było wartością graniczną w przewidywaniu zakażenia wrodzonego u noworodka. Charakteryzowało się 33% czułością, 93% swoistością, dodatnia wartość predykcyjna wyniosła 70% natomiast ujemna wartość predykcyjna 73% [55]. Znacznie wyższe wartości Il-6 uzyskane przez Torbe i wsp. mogą

wynikać z faktu przeprowadzenia badań u pacjentek z pPROM, co wiąże się z obecnością płynu owodniowego w obrębie pochwy. Nie można określić jednoznacznie pochodzenia Il-6 w badanym materiale.

Combs i wsp. badał poziom m.in. Il-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej u pacjentek z porodem przedwczesnym i zachowanymi błonami płodowymi w celu wykrycia inwazji drobnoustrojów do jamy owodniowej (potwierdzeniem inwazji był wynik badania mikrobiologicznego płynu owodniowego). Wyniki jego badań wskazują, że stężenie Il-6 równe 463 pg/ml w wydzielinie szyjkowo-pochwowej, stanowi punkt odcięcia przy podziale pacjentek na te z inwazją mikrobów do jamy owodni oraz te bez inwazji [56].

Z powodu trudności w diagnostyce zakażenia wewnątrzowodniowego, wielu badaczy skupia się na znalezieniu nieinwazyjnych metod mogących pomóc w detekcji infekcji wewnątrz owodni. M.in. El-Ghazaly i wsp. przeprowadził badanie polegające na ocenie stężenia Il-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej za pomocą szybkiego testu przyłóżkowego w celu wykrycia chorioamnionitis u pacjentek pomiędzy 24-34 tygodniem ciąży z pPROM. Wynik testu jest dodatni w momencie uzyskania dwóch linii (jedna w strefie kontrolnej C, druga w strefie testowej T) w jednym z trzech progów stężeń : niski – stężenie Il-6 0,1 ng/ml, średni Il-6 0,25 ng/ml, wysoki Il-6 5 ng/ml. Czulość, swoistość, dodatnia wartość predycyjna i ujemna wartość predycyjna wynosiły odpowiednio 98,6%, 94,7%, 97,3% oraz 97,3% dla badanego testu. Wyniki te są istotnie wyższe niż kliniczne oraz laboratoryjne wykładniki chorioamnionitis przyjęte w badaniu (gorączka u matki, tachykardia u matki, tkiwość mięśnia macicy, leukocytoza u matki, stężenie białka CRP i prokalcytoniny) – odpowiednio 65,3%, 57,9%, 74,6% oraz 46,8%. Podsumowując należy stwierdzić, że przyłóżkowy test Il-6 jest dokładną oraz nieinwazyjną metodą pomocną w rozpoznawaniu chorioamnionitis [57].

W badaniach własnych stwierdzono znamienne wyższe wartości Il-6 w płynie owodniowym (mediana 920 pg/ml) w porównaniu z grupą kontrolną (mediana 221 pg/ml,  $p=0,04$ ). Analiza regresji logistycznej wykazała, że w przypadku podwyższenia Il-6 w płynie owodniowym, ryzyko zakażenia wewnątrzowodniowego wzrasta. AUC wynosiło 0,88 ( $p=0,0001$ ), punkt odcięcia był równy 1100 pg/ml, czulość 83% i swoistość 97%. Wysokie poziomy Il-6 w płynie owodniowym u pacjentek z zakażeniem wewnątrzowodniowym oraz jej rolę w wykrywaniu zakażenia wewnątrzowodniowego potwierdzają również inni autorzy. Romero i wsp. próbowali ustalić wartość diagnostyczną i prognostyczną wybranych markerów w tym Il-6 w płynie owodniowym u pacjentek z porodem przedwczesnym i z zachowanymi błonami płodowymi. Mediana Il-6 w płynie owodniowym była znacząco

wyższa u pacjentek z zakażeniem wewnątrzowodniowym niż bez (35,9 ng/ml vs 1,7 ng/ml,  $p < 0,000005$ ). W badaniu tym u 9,2% pacjentek uzyskano dodatni wynik posiewu płynu owodniowego. W badaniu własnym było to 25%. Najbardziej czułym markerem wykrywającym inwazję mikroobów do jamy owodniowej było oznaczenie poziomu Il-6 w płynie owodniowym, punkt odcięcia 11,3 ng/ml. Dodatkowo ustalono, że czas od wykonania amniocentezy do porodu był krótszy u pacjentek z dodatnim posiewem płynu owodniowego w porównaniu z pacjentkami z posiewem ujemnym. Przytoczona praca badawcza potwierdza wartość diagnostyczną Il-6 w detekcji subklinicznej inwazji jamy owodniowej oraz wartość prognostyczną w przewidywaniu wystąpienia porodu przedwczesnego [58]. Przydatność oceny stężenia Il-6 w diagnozowaniu zakażenia wewnątrzowodniowego badał też Hsu i wsp. W ich pracy w grupie z zakażeniem wewnątrzmacicznym wartości Il-6 były znacząco wyższe w porównaniu z grupą bez zakażenia (2005 ng/ml vs 990 ng/ml  $p=0,05$ ). Dodatkowo w pracy tej wykazano, że poziom Il-6 jest ujemnie skorelowany z poziomem glukozy, natomiast dodatnio skorelowany z poziomem leukocytów w płynie owodniowym. Prawdopodobnie leukocyty w płynie owodniowym częściowo odpowiedzialne są za poziom cytokin prozapalnych, w szczególności Il-6. Bakterie i ich produkty stymulują leukocyty do produkcji m.in. Il-6 [59]. Harirah i wsp. prowadził badania nad ustaleniem roli Il-6 w płynie owodniowym w przewidywaniu zakażenia wewnątrzowodniowego. Przeprowadził badanie u pacjentek pomiędzy 22-35 t.c z czynnością skurczową macicy, porodem przedwczesnym, przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego lub z klinicznymi objawami infekcji wewnątrzmacicznej. Rozpoznanie zakażenia wewnątrzowodniowego stawiano na podstawie wyników posiewów płynu owodniowego. U pacjentek z infekcją wewnątrzowodniową mediana stężenia Il-6 w płynie owodniowym wynosiła 81,1 ng/ml (zakres 0,0-91,7 ng/ml), natomiast w przypadku braku infekcji wewnątrzowodniowej mediana była równa 1,4 ng/ml. Różnice były istotne,  $p < 0,001$ . Zastosowanie poziomu odcięcia 11,4 ng/ml dla stężenia Il-6 w płynie owodniowym, miało największą wartość w przewidywaniu obecności lub braku infekcji wewnątrzowodniowej. Wykazano też odwrotną korelację pomiędzy stężeniem Il-6 a stężeniem glukozy w płynie owodniowym. Jest to kolejne badanie potwierdzające obecność znacznie wyższych poziomów interleukiny-6 w płynie owodniowym u pacjentek z rozpoznaną infekcją wewnątrzmaciczną w porównaniu do pacjentek bez infekcji [60].

Ocena stężenia Il-6 w osoczu ma mniejszą wartość diagnostyczną w wykrywaniu zakażenia wewnątrzowodniowego niż ocena stężenia Il-6 w płynie owodniowym. Inwazja patogenów do jamy owodniowej wywołuje dużo słabszą odpowiedź zapalną we krwi matki w

porównaniu do odpowiedzi zapalnej wywołanej lokalnie. Mikroorganizmy w jamie owodniowej bezpośrednio wpływają na stymulację i produkcję cytokin zapalnych w płynie owodniowym. Ocena stężenia Il-6 w płynie owodniowym charakteryzuje się dość dużą czułością i swoistością w wykrywaniu zakażenia wewnątrzowodniowego. Jednak samo pobranie próbek płynu owodniowego w ciąży drogą amniocentezy jest procedurą inwazyjną, obciążoną pewnym ryzykiem. Dlatego też coraz więcej autorów poszukuje nieinwazyjnego, powtarzalnego testu wykrywającego infekcję wewnątrzmaciczną. Pozyskanie wydzieliny z pochwy jest procedurą bezpieczną. Natomiast pewnym ograniczeniem w przypadku oznaczania Il-6 w wydzielinie pochwowej jest wykonywanie badania u pacjentek z pPROM. Niemożliwe jest jednoznaczne ustalenie czy cytokiny prozapalne mierzone w wydzielinie pochwowej są pochodzenia owodniowego czy pochwowego. U pacjentek z pPROM pęknięcie pęcherza płodowego ma miejsce często w pobliżu ujścia wewnętrznego szyjki macicy, dlatego też stężenie Il-6 w wydzielinie pochwowej u tych pacjentek może odzwierciedlać stężenie Il-6 w płynie owodniowym. Uzyskanie wyników z różnych płynów ustrojowych jednocześnie daje możliwość rozpoznania zakażenia wewnątrzowodniowego z większą dokładnością.

### **Określenie czy stężenie prokalcytoniny we krwi, wydzielinie pochwowej oraz płynie owodniowym ma związek z wystąpieniem zakażenia wewnątrzmacicznego.**

Prokalcytonina to prekursor kalcytoniny. W warunkach rozwijającego się stanu zapalnego synteza PCT następuje niezależnie od stężenia hormonu. Endotoksyny bakteryjne indukują ekspresję genu CALC1, co skutkuje uwalnianiem prekursorów kalcytoniny z tkanek organizmu. PCT wykorzystywana jest jako marker ciężkich zakażeń o etiologii bakteryjnej, w tym również sepsy. Wzrost poziomu PCT koreluje z ciężkością choroby oraz ze śmiertelnością. Poziom prokalcytoniny rośnie w ciągu 6 godzin od zadziałania czynnika – endotoksyny bakteryjnej. Jednak już po 2 godzinach od pojawienia się w organizmie endotoksyn, stężenie PCT zaczyna wzrastać [61]. W porównaniu z białkiem C-reaktywnym, uzyskuje wcześniejszy wzrost stężenia we krwi oraz szybszy spadek po zastosowaniu



leczenia. Cechy te powodują, że jest szeroko wykorzystywana w celu monitorowania przebiegu choroby oraz postępu zastosowanego leczenia.

Rozpoznawanie zakażenia wewnątrzodniowego tylko na podstawie objawów klinicznych, cechuje się niską czułością i swoistością. Dlatego też prowadzonych jest wiele badań mających na celu znalezienie odpowiedniego markera infekcji wewnątrzmacicznej u pacjentek bezobjawowych. W badaniach własnych poziom prokalcytoniny we krwi obwodowej pacjentek z zakażeniem wewnątrzodniowym nie różnił się od poziomu u pacjentek bez zakażenia (mediana 0,06 ng/ml vs 0,05 ng/ml,  $p=0,19$ ). Analiza ROC wykazała AUC: 0,66,  $p=0,12$ ; punkt odcięcia 0,055 ng/ml, czułość 67%, swoistość 70%.

Oludag i wsp. prowadzili badania nad wykorzystaniem oznaczania stężenia PCT we krwi obwodowej pacjentek z przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego w przewidywaniu subklinicznego zakażenia wewnątrzodniowego. Średni poziom PCT u pacjentek między 24-34 t.c z pPROM był znacząco wyższy (0,086 ng/ml) niż u pacjentek w grupach kontrolnych (0,033 - 0,043 ng/ml). Dodatkowo stwierdzono, że w grupie badanej poziom prokalcytoniny u pacjentek z rozpoznaniem zapalenia błon płodowych w badaniu histopatologicznym, był istotnie wyższy w porównaniu do pacjentek bez nacieku zapalnego w błonach płodowych. Wartość odcięcia dla PCT w przewidywaniu histologicznego zapalenia błon płodowych wykazała, że najwyższa czułość i swoistość odpowiadała stężeniu 0,054 ng/ml. Czuość w przewidywaniu zapalenia błon płodowych w badaniu histopatologicznym wynosiła 92,3%, swoistość 68,4%, dodatnia wartość predykcyjna 66,7%, natomiast ujemna wartość predykcyjna 92,9%. Dodatkowo ustalono, że średnie wartości PCT u pacjentek, które urodziły noworodki z zakażeniem wrodzonym w porównaniu do pacjentek rodzących noworodki bez zakażenia nie różniły się w sposób istotny [62]. Kopyra i wsp. oceniał przydatność wykonywania oznaczeń parametrów stanu zapalnego w tym m.in. PCT w przewidywaniu zakażenia wewnątrzodniowego i stanu noworodka u pacjentek z pęknięciem pęcherza płodowego. Najwyższą wartość predykcyjną w przewidywaniu wystąpienia zakażenia wrodzonego u noworodka miała prokalcytonina. Najlepszym punktem odcięcia dla PCT był poziom 0,5 ng/ml, umożliwiający podział pacjentek na grupę pacjentek o wysokim oraz niskim ryzyku urodzenia zakażonego noworodka [23]. Z kolei Torbe porównywał wartości PCT we krwi u pacjentek w ciąży niedonoszonej z przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego, przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego w ciążach donoszonych z pacjentkami zdrowymi w ciąży niedonoszonej oraz donoszonej w celu wykrycia zakażenia wewnątrzodniowego. O ile wartości PCT u pacjentek z pPROM, jak i

u pacjentek z PROM w ciążach donoszonych były istotnie podwyższone w porównaniu z poziomami u pacjentek zdrowych (mediana 1,97 ng/ml, 1,60 ng/ml vs 1,06 ng/ml, 0,71 ng/ml) to wartości te u pacjentek z pPROM i pacjentek z PROM w ciążach donoszonych były porównywalne. Według autorów wartość graniczna PCT - 1,9 ng/ml umożliwia przewidzenie zakażenia wrodzonego u noworodka z czułością 53%, zapalenia błon płodowych w badaniu histopatologicznym z czułością 75%. Swoistość natomiast wynosiła odpowiednio 45% i 55% [63].

Biorąc pod uwagę sprzeczne doniesienia na temat przydatności oznaczania stężenia PCT we krwi obwodowej, należy stwierdzić, że wymaga to przeprowadzenia badań na większej grupie pacjentek.

W badaniach własnych wykorzystano również oznaczenie stężenia PCT w wydzielinie z pochwy jako markera infekcji wewnątrzmacicznej, uzyskując istotne różnice ( $p < 0,0001$ ). Mediana w grupie badanej wynosiła 0,04 ng/ml, natomiast w grupie kontrolnej 0,03 ng/ml. Wyniki regresji logistycznej wykazały, że wzrost stężenia PCT w wydzielinie pochwowej, zwiększa ryzyko infekcji wewnątrzrodniowej. Analiza ROC wykazała  $AUC = 0,83$  ( $p = 0,0015$ ) dla punktu odcięcia 0,035 ng/ml, czułość 73% i swoistość 96%. Jest niewiele publikacji opisujących oznaczanie wartości PCT w wydzielinie pochwowej. M.in. Torbe i wsp. prowadzili badanie oceniające przydatność oznaczania PCT w wydzielinie pochwowej w rozpoznawaniu subklinicznej infekcji wewnątrzrodniowej u pacjentek w ciążach niedonoszonych i donoszonych z przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego. W przytoczonej pracy uzyskano znacząco wyższe wartości PCT w wydzielinie pochwowej u pacjentek z pPROM w wieku ciążowym 24-34 t.c, niż u pacjentek z PROM w ciążach donoszonych (1,5 ng/ml vs 0,83 ng/ml,  $p > 0,0001$ ). Jednak wartości PCT w wydzielinie z pochwy u pacjentek, które urodziły noworodki z zakażeniem wrodzonym były porównywalne do tych, które urodziły noworodki zdrowe. Podobnie, u pacjentek z zapaleniem błon płodowych rozpoznany na podstawie przeprowadzenia badania histopatologicznego, wartości PCT były porównywalne do tych bez zmian zapalnych w badaniu histopatologicznym. Odnosząc się do powyższych wartości PCT w wydzielinie z pochwy u pacjentek z pPROM, potwierdzono słuszność hipotezy o etiologii infekcyjnej przedwczesnego pęknięcia pęcherza płodowego u pacjentek w ciążach niedonoszonych. Dodatkowo stwierdzono, że stężenie PCT w wydzielinie pochwowej nie koreluje z parametrami stanu zapalnego sugerującymi obecność subklinicznego zakażenia wewnątrzrodniowego [64].

W badaniach własnych oceniałam również stężenie PCT w płynie owodniowym, uzyskując istotne wyniki ( $p < 0,0001$ ). Mediana stężenia PCT w grupie badanej wyniosła 0,07 ng/ml, natomiast w grupie kontrolnej 0,06 ng/ml. W przypadku podwyższenia stężenia PCT, ryzyko infekcji wewnątrzmacicznej wzrasta ( $OR=3.72$ ,  $95\%CI:1.67-4.59$ ,  $p=0,001$ ). Analiza ROC wykazała  $AUC=0,79$  ( $p=0,0041$ ) dla punktu odcięcia 0,085 ng/ml, czułość 67% i swoistość 87%. Ilość badań dotyczących stężenia PCT w płynie owodniowym jest bardzo ograniczona. Horinouchi i wsp. prowadzili badania nad oznaczeniem PCT w krwi pępowinowej i płynie owodniowym w celu prognozowania wystąpienia histologicznego zapalenia błon płodowych oraz przewidywaniu stanu noworodków [65]. W przytoczonej pracy dokonywano porównań wartości PCT we krwi pępowinowej i płynie owodniowym u pacjentek z zapaleniem błon płodowych i bez. W grupie ze stwierdzonym zapaleniem błon płodowych mediana PCT wynosiła 40,3 pg/ml (zakres 30,1-67,5 pg/ml) w porównaniu do grupy bez zapalenia mediana wynosiła PCT 65,8 pg/ml (zakres 35,3-92,5 pg/ml). Nie stwierdzono różnic pomiędzy grupami. Natomiast wyniki istotne dotyczyły wartości PCT we krwi pępowinowej noworodków, tj. w grupie z zapaleniem potwierdzonym badaniem histopatologicznym błon płodowych mediana PCT wynosiła 240,2 pg/ml (zakres 125,4-350,3 pg/ml) natomiast w grupie bez histopatologicznie stwierdzonego zapalenia stężenie PCT wynosiło: mediana 105,1 pg/ml (zakres 50,2-137,5 pg/ml),  $p=0,0006$ .

Bilinski i wsp. próbowali określić związek PCT z przewidywaniem wystąpienia porodu przedwczesnego. Do tego celu wykorzystywali płyn owodniowy pobierany w trakcie przeprowadzania amniopunkcji genetycznej pomiędzy 15-23 tygodniem ciąży. Pacjentki podzielono na dwie grupy: grupa I to pacjentki, które urodziły przed 37 t.c, grupa II- pacjentki, które urodziły będąc w ciąży donoszonej. U 70% pacjentek stężenie PCT w płynie owodniowym było poniżej granicy oznaczalności. Nie stwierdzono różnic stężenia PCT u pacjentek rodzących przedwcześnie w porównaniu do pacjentek rodzących „o czasie” (mediana 20,4 pg/ml vs 20,2) zakres 0-82,8 pg/ml vs 0-198,4 pg/ml. Nie było związku pomiędzy poziomem PCT, a wiekiem ciążowym w dniu porodu. Autorzy we wnioskach podają, że PCT nie jest użyteczna w przewidywaniu wystąpienia porodu przedwczesnego [66].

## **Określenie czy stężenie glukozy w płynie owodniowym ma związek z wystąpieniem zakażenia wewnątrzowodniowego.**

W analizie statystycznej badań własnych wykazano, że poziom glukozy w płynie owodniowym ma związek z wystąpieniem zakażenia wewnątrzowodniowego. Mediana dla glukozy w płynie owodniowym wyniosła 16 mg/dl w grupie badanej oraz 25 mg/dl w grupie kontrolnej ( $p < 0,002$ ). Wyniki analizy regresji logistycznej wykazały, że wzrost wartości glukozy w płynie owodniowym, zmniejsza ryzyko wystąpienia zakażenia wewnątrzowodniowego (OR=0,749, 95% CI: 0,6-0,86,  $p=0,001$ ). Krzywa ROC wykazała AUC: 0,93;  $p < 0,0001$ ; Cut off-point 18,5 mg/dl; czułość 100%, swoistość 80%.

Rola glukozy jako markera toczącej się infekcji w płynie owodniowym została szeroko opisana. Jako pierwszy opisał ją Romero i wsp. ponad dwie dekady temu. Badał on pacjentki z porodem przedwczesnym i zachowanymi błonami płodowymi pobierając płyn owodniowy na drodze amniocentezy, następnie wykonywał posiew. W kolejnym etapie oznaczano poziom glukozy w pobranym płynie. Pacjentki z dodatnim posiewem płynu owodniowego miały znacząco niższy poziom glukozy w płynie owodniowym (mediana 11 mg/dl, zakres 2-30 mg/dl) niż pacjentki z ujemnym posiewem (mediana 28 mg/dl, zakres 3-74 mg/dl). Przy stężeniu glukozy poniżej 14 mg/dl wykazano czułość 86,9% i swoistość 91,7%, natomiast dodatnia wartość predykcyjna wynosiła 62,5%, a ujemna wartość predykcyjna 97,8% w wykrywaniu pacjentek z dodatnimi posiewami płynu owodniowego [67]. Z kolei Kacerovsky i wsp. przeprowadził badanie oceniające poziom glukozy w płynie owodniowym u kobiet z przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego w ciążach niedonoszonych. Podzielił on pacjentki na grupy w zależności od obecności drobnoustrojów w jamie owodniowej i/lub zapalenia wewnątrzowodniowego. U pacjentek z zakażeniem wewnątrzmacicznym (obecność patogenów w płynie owodniowym oraz zapalenia wewnątrzowodniowego) poziom glukozy był istotnie niższy, mediana 11,6 mg/dl. W przypadku sterylnego zapalenia wewnątrzowodniowego (obecność Il-6 3000 pg/ml bez wykrytej inwazji drobnoustrojów w płynie owodniowym) mediana stężenia glukozy wynosiła 6,3 mg/dl. Natomiast w przypadku kolonizacji płynu owodniowego (grupa pacjentek u których pomimo wykrycia patogenów w płynie owodniowym nie stwierdzono podwyższonego poziomu Il-6), jak i u kobiet z ujemnym płynem owodniowym (brak drobnoustrojów w płynie owodniowym oraz brak zapalenia) mediana poziomu glukozy wynosiła 21,6 mg/dl vs. 23,4 mg/dl. Stwierdzono istotną różnicę ( $p < 0,0001$ ) w poziomie

glukozy pomiędzy pacjentkami z zakażeniem wewnątrzowodniowym, zapaleniem wewnątrzowodniowym, z kolonizacją płynu owodniowego oraz z ujemnym płynem owodniowym. W przytoczonej pracy pacjentki z zakażeniem wewnątrzowodniowym oraz te z zapaleniem wewnątrzowodniowym miały niższe poziomy glukozy od pacjentek z kolonizacją i ujemnym płynem owodniowym. Stężenie glukozy 10 mg/dl było optymalne do identyfikacji zapalenia wewnątrzowodniowego u pacjentek z pPROM. Dodatkowo wykazano, że poziomy glukozy w płynie owodniowym nie różni się w sposób istotny w zależności od rodzaju patogenu stwierdzonego w płynie owodniowym [68].

Odibo i wsp. szukali powiązania pomiędzy określonymi markerami infekcji wewnątrzowodniowej, w tym stężenia glukozy w płynie owodniowym, a zapaleniem błon płodowych w badaniu histopatologicznym u pacjentek z porodem przedwczesnym i zachowanymi błonami płodowymi pomiędzy 22-35 t.c. W badaniu uzyskano w 17% przypadków dodatnie posiewy płynu owodniowego, natomiast histologiczne zapalenie błon płodowych uzyskano w 60,2 % przypadków. Ustalono, że poziom glukozy < 20 mg/dl jest najczulszym predyktorem histologicznego zapalenia błon płodowych [69].

Zebrane dane wyraźnie pokazują, że inwazja patogenów do jamy owodni skutkuje zmniejszeniem poziomu glukozy w płynie owodniowym. Związane jest to najprawdopodobniej z metabolizowaniem glukozy przez krwinki białe oraz bakterie. Podobne obserwacje poczyniono w innych płynach ustrojowych, m.in. w płynie mózgowo-rdzeniowym w przebiegu infekcji bakteryjnej. Dowodem może być badanie w którym wykazano, że tempo zużycia glukozy przez neutrofile w płynie mózgowo-rdzeniowym jest 2-3 razy szybsze w przypadku zakażonego płynu w porównaniu do płynu mózgowo-rdzeniowego pochodzącego od osoby bez infekcji [70]. W innym badaniu z kolei wykazano, że w przypadku inkubacji płynu mózgowo-rdzeniowego z mieszaną leukocytów i bakterii, uzyskano niskie poziomy glukozy, podczas gdy inkubacja tylko z jednym z nich nie przynosi takich samych efektów, co udowadnia rolę bakterii i neutrofilów w metabolizmie glukozy [67].

## Ocena przydatności badań mikrobiologicznych w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego.

W swoim badaniu dużą uwagę poświęciłam eubakteriom z rodzaju *Mycoplasma* oraz *Ureaplasma*. Są to organizmy charakteryzujące się małymi rozmiarami (0,3- 0,8  $\mu\text{m}$ ), brakiem ściany komórkowej, niewielkim genomem (0,58-2,20 Mb) oraz zdolnością do samoreplikowania się. Patogeny te kolonizują w szczególności drogi oddechowe oraz moczowo-płciowe. Do mykoplazm genitalnych należą: *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* oraz *Ureaplasma parvum*. Nietypowa budowa wymienionych wyżej patogenów jest przyczyną trudności z ich wykrywaniem i identyfikacją [71]. Organizmy te w dużej mierze odpowiadają za występowanie porodu przedwczesnego oraz zakażenie wewnątrzodniowe. W badaniach własnych spośród pacjentek z grupy badanej, aż 42% miało dodatni posiew z kanału szyjki macicy w kierunku *Ureaplasma spp.*, a metodą PCR stwierdzono obecność tego patogenu u 50% osób grupy badanej. Natomiast wśród grupy kontrolnej dodatni posiew z kanału szyjki macicy w kierunku *Ureaplasma spp.* uzyskano w 21% przypadków, natomiast przy użyciu metody PCR w 23% przypadków. Wyniki dotyczące *Mycoplasma hominis* kształtowały się w następujący sposób: w grupie badanej dodatni posiew uzyskano w 17% przypadków, w grupie kontrolnej dodatni posiew występował w przypadku 3% badanych. Natomiast w przypadku metody PCR, u wszystkich pacjentek z grupy badanej uzyskano wynik ujemny, a w grupie kontrolnej u 3% pacjentek uzyskano wynik dodatni. Zbrodowska-Stefanow i wsp. oceniali częstość występowania zakażeń *Ureaplasma urealyticum* oraz *Mycoplasma hominis* u kobiet nieciążarnych metodą posiewu. Wyniki ich pracy pokazują, że *Ureaplasma urealyticum* występuje u 29,8% badanych kobiet, natomiast *Mycoplasma hominis* u 3,7% badanych przypadków [71]. Dane z piśmiennictwa pokazują, że występowanie mykoplazm urogenitalnych zależne jest m.in. od wieku, aktywności seksualnej oraz ciąży. Kacerovsky i wsp. przeprowadzili badanie u pacjentek pomiędzy 22-34+6 t.c, z porodem przedwczesnym oraz zachowanymi błonami płodowymi. W pracy tej wykazano obecność *Ureaplasma spp.* oznaczoną metodą PCR u 51% pacjentek objętych badaniem. Obecność *Ureaplasma spp.* w szyjce macicy była stwierdzona dużo częściej w przypadku pacjentek z rozpoznaniem zakażeniem wewnątrzodniowym niż bez (75% vs 36%). Jednoczesne występowanie *Ureaplasma spp.* i *Mycoplasma hominis* w szyjce macicy stwierdzono częściej w przypadku pacjentek z zakażeniem wewnątrzodniowym niż bez (42% vs 7%) [72].

W prezentowanej pracy własnej zwraca uwagę znikoma ilość dodatnich posiewów płynu owodniowego w grupie badanej. Prawdopodobnie związane jest to z zastosowaniem okołooperacyjnej profilaktyki antybiotykowej.

Za pomocą metody Real Time PCR wykonywano badanie płynu owodniowego w kierunku patogenów atypowych. W przypadku 4,5% pacjentek uzyskano wynik dodatni.

W piśmiennictwie można znaleźć wiele prac potwierdzających, że najczęstszymi patogenami odpowiedzialnymi za zakażenie wewnątrzowodniowe są patogeny atypowe. M.in. Musilova i wsp. wykazała, u pacjentek z pPROM pomiędzy 24-36+6 t.c w badaniu płynu owodniowego z użyciem PCR, że *Ureaplasma spp.* występowała u 19% badanych kobiet. Po podziale na grupy, 48,5% pacjentek z zapaleniem wewnątrzowodniowym posiadało dodatni wynik PCR w kierunku *Ureaplasma spp.*, 1,4% w kierunku *Chlamydia trachomatis*, nie uzyskano dodatnich wyników w kierunku *Mycoplasma hominis*. Natomiast w grupie pacjentek bez zapalenia wewnątrzowodniowego 59,7% posiadało pozytywny wynik w kierunku *Ureaplasma spp.*, 9,7% w kierunku *Mycoplasma hominis* oraz 3,2 % w kierunku *Chlamydia trachomatis* [77]. Yoon i wsp. badał pacjentki  $\leq 35$  t.c z porodem przedwczesnym i zachowanymi błonami płodowymi pod kątem występowania *Ureaplasma urealyticum* w posiewie płynu owodniowego oraz w badaniu PCR płynu owodniowego. Wykazano, że u 6% pacjentek wynik badania płynu owodniowego badanego metodą PCR pod kątem obecności *Ureaplasma urealyticum* był dodatni. Spośród tych pacjentek klasyczna hodowla płynu owodniowego w kierunku *Ureaplasma urealyticum* w 40% była ujemna [16]. Gerber i wsp. przeprowadził badanie polegające na wykrywaniu *Ureaplasma urealyticum* metodą PCR w płynie owodniowym u pacjentek pomiędzy 15-17 t.c, celem oceny związku z występowaniem porodu przedwczesnego w późniejszych tygodniach ciąży. U 11,4% przypadków uzyskano dodatni wynik PCR płynu owodniowego. U 24,1% pacjentek, u których stwierdzono obecność *Ureaplasma urealyticum* w płynie owodniowym w II trymestrze ciąży, wystąpił poród przedwczesny przed 37 t.c, a u 20,7% pacjentek stwierdzono pPROM. Natomiast w grupie pacjentek z ujemnym wynikiem PCR płynu owodniowego, tylko 0,4% ciąż zakończyło się przedwcześnie i u 0,4% ciąż wystąpiło przedwczesne pęknięcie pęcherza płodowego przed 37 tygodniem ciąży. Badanie płynu owodniowego w II trymestrze ciąży pod kątem obecności *Ureaplasma urealyticum* może pomóc zidentyfikować pacjentki zagrożone porodem przedwczesnym [78].

## **Analiza przydatności badań histopatologicznych popłodu w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego.**

W badaniach własnych u 26% pacjentek wykazano zmiany zapalne w badaniu histopatologicznym popłodu. Na podstawie obecności nacieku zapalnego w badaniu histopatologicznym dokonano podziału na grupy: grupa badana pacjentki z zakażeniem wewnątrzowodniowym oraz grupa kontrolna pacjentki bez zakażenia wewnątrzowodniowego. Z uwagi na zastosowanie antybiotyków w trakcie cięcia cesarskiego, metody mikrobiologiczne wydały się niedoskonałe, dlatego też zdecydowano o takim podziale pacjentek na grupy. Caloone i wsp. przeprowadził badanie wśród pacjentek z rozpoznaniem pPROM pomiędzy 22-36+6 tygodniem ciąży celem oceny wybranych markerów matki w przewidywaniu wystąpienia zakażenia wewnątrzowodniowego rozpoznanego na podstawie badania histopatologicznego popłodu. Pacjentki zostały podzielone na grupę pacjentek z zakażeniem wewnątrzmacicznym i bez na podstawie przeprowadzonego badania popłodu. Autor wykazał, że spośród 295 pacjentek biorących udział w badaniu, u 126 (42,7%) z nich rozpoznano zakażenie wewnątrzowodniowe na podstawie przeprowadzenia badania histopatologicznego. Dzieci urodzone przez pacjentki z zakażeniem wewnątrzowodniowym są statystycznie mniejsze niż te urodzone przez pacjentki bez chorioamnionitis (mediana 1480 g vs 2030 g;  $p=0,01$ ) [79]. Wu i wsp. wykazał, że zapalenie błon płodowych w badaniu histopatologicznym związane jest z występowaniem porodu przedwczesnego oraz ze zwiększoną chorobowością i śmiertelnością noworodków. Wyniki jego analiz jednoznacznie pokazują, że histopatologiczne chorioamnionitis jest związane z wyższym stężeniem białka C-reaktywnego u noworodka ( $0,56 \text{ mg/dl} \pm 0,92 \text{ mg/dl}$  vs  $0,12 \pm 0,14 \text{ mg/dl}$ ,  $p<0,05$ ) oraz niższym wiekiem ciążowym ( $30,8 \pm 4,1 \text{ t.c}$  vs  $33,0 \pm 2,6 \text{ t.c}$ ,  $p<0,05$ ) [80]. Katz i wsp. przeprowadził badanie polegające na ocenie popłodów pacjentek z przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego oraz analizie związku wyniku badania histopatologicznego z CRP, wiekiem ciążowym, masą urodzeniową noworodka oraz punktacją w skali Apgar. U 50% badanych popłodów stwierdzono cechy histopatologicznego zapalenia błon płodowych. U wcześniaków urodzonych przez matki z chorioamnionitis w badaniu histopatologicznym wiek ciążowy, masa urodzeniowa oraz punktacja w skali Apgar były istotnie niższe niż u dzieci urodzonych przez matki bez cech zapalnych w badaniu popłodu. Natomiast stężenie CRP noworodków mierzone bezpośrednio po porodzie oraz 12 h później było istotnie wyższe u dzieci urodzonych przez matki z zapaleniem w badaniu histopatologicznym [81].



## **Analiza związku rozpoznania zakażenia wewnątrzmacicznego z wystąpieniem zakażenia wrodzonego u noworodka**

W badaniach własnych wśród grupy z rozpoznaniem zakażeniem wewnątrzowodniowym na podstawie badania histopatologicznego w 91,66% przypadków potwierdzono zakażenie wrodzone u noworodka, natomiast w grupie kontrolnej w 8,82%. Romero i wsp. przeprowadził badanie u kobiet ciężarnych z porodem przedwczesnym i nienaruszonymi błonami płodowymi celem ustalenia znaczenia klinicznego rozpoznania zakażenia wewnątrzmacicznego. Wykazał, że pacjentki z dodatnim posiewem płynu owodniowego miały niższy wiek ciążowy oraz większe rozwarście szyjki macicy przy przyjęciu niż kobiety z ujemnymi posiewami. Natomiast dzieci urodzone przez pacjentki z dodatnim posiewem płynu owodniowego częściej rozwijały zespół niewydolności oddechowej oraz powikłania infekcyjne częściej niż noworodki matek z ujemnym posiewem płynu owodniowego [82]. Ramsey i wsp. wykazał, że wiek ciążowy wśród pacjentek z rozpoznaniem chorioamnionitis był znacznie niższy w porównaniu z pacjentkami bez tego rozpoznania. U 13% pacjentek z pPROM pomiędzy 24+0 a 36+6 tygodniem ciąży postawiono rozpoznanie chorioamnionitis. Poważną zachorowalność definiowano m.in. jako: posocznica u noworodka, zapalenie opon-mózgowo-rdzeniowych, RDS, krwawienia dokomorowe 3 i 4 stopnia czy też zapalenie płuc. Dzieci pacjentek z chorioamnionitis w porównaniu z pacjentkami bez chorioamnionitis cechowały się mniejszą masą urodzeniową (średnia 1661 g  $\pm$  749 vs 2135 g  $\pm$  736 g;  $p > 0,0001$ ), niższą punktacją w skali Apgar w 1 minucie (średnia 5,8  $\pm$  2,7 vs 6,9  $\pm$  2,3;  $p=0,001$ ), częstszym występowaniem poważnych powikłań noworodkowych wymienionych wyżej (55,4% vs 18,2%;  $p<0,0001$ )[83]. Oshima i wsp. przeprowadził badanie u pacjentek powyżej 22 tygodnia ciąży z podejrzeniem zakażenia wewnątrzowodniowego. U 9/200 noworodków rozpoznano zakażenie wrodzone. U wszystkich matek, u których dzieci rozpoznano zakażenie wrodzone, potwierdzono zakażenie wewnątrzowodniowe na podstawie badania histopatologicznego popłodu. Wśród tych pacjentek mediana stężenia Il-6 w płynie owodniowym była znacząco wyższa w porównaniu do pacjentek rodzących dzieci bez infekcji wrodzonej (129,5 ng/ml vs 7,4 ng/ml;  $p<0,0001$ ) [84].

## 6. Wnioski

1. 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.
2. Oznaczanie Il-6 i PCT w wydzielinie pochwowej można uznać za metodę pomocną w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzrodniowego. Prostota pobrania materiału i krótki czas potrzebny do uzyskania wyniku, dają możliwość wielokrotnego powtarzania oznaczeń, co może okazać się istotne w podejmowaniu bardzo trudnych klinicznie decyzji o zakończeniu ciąży niedonoszonej.
3. Oznaczanie 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.
4. Oznaczenie stężenia glukozy w płynie owodniowym jest pomocną 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.
5. Rozpoznanie zakażenia wewnątrzrodniowego prawie zawsze wiąże się z wystąpieniem wrodzonego zakażenia u noworodka.
6. 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 wewnątrzrodniowego. Uzyskanie wyników ujemnych wcale nie wyklucza zakażenia.

## 7. Bibliografia

1. GUS Rocznik Demograficzny 2021 Available online: <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/roczniki-statystyczne/roczniki-statystyczne/rocznik-demograficzny-2021,3,15.html> (accessed on 6 May 2023).
2. Hauth, J.C.; Gilstrap, L.C.; Hankins, G.D.; Connor, K.D. Term Maternal and Neonatal Complications of Acute Chorioamnionitis. *Obstet. Gynecol.* **1985**, *66*, 59–62.
3. Rouse, D.J.; Landon, M.; Leveno, K.J.; Leindecker, S.; Varner, M.W.; Caritis, S.N.; O'Sullivan, M.J.; Wapner, R.J.; Meis, P.J.; Miodovnik, M.; et al. The Maternal-Fetal Medicine Units Cesarean Registry: Chorioamnionitis at Term and Its Duration-Relationship to Outcomes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2004**, *191*, 211–216, doi:10.1016/j.ajog.2004.03.003.
4. Gibbs, R.S.; Duff, P. Progress in Pathogenesis and Management of Clinical Intraamniotic Infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1991**, *164*, 1317–1326, doi:10.1016/0002-9378(91)90707-X.
5. Newton, E.R. Chorioamnionitis and Intraamniotic Infection. *Clin. Obstet. Gynecol.* **1993**, *36*, 795–808, doi:10.1097/00003081-199312000-00004.
6. Goldenberg, R.L.; Hauth, J.C.; Andrews, W.W. Intrauterine Infection and Preterm Delivery. *N. Engl. J. Med.* **2000**, *342*, 1500–1507, doi:10.1056/NEJM200005183422007.
7. Mueller-Heubach, E.; Rubinstein, D.N.; Schwarz, S.S. Histologic Chorioamnionitis and Preterm Delivery in Different Patient Populations. *Obstet. Gynecol.* **1990**, *75*, 622–626.
8. Zakażenia w Ciąży i Okołoporodowe Postępowanie z Matką i Noworodkiem - Agnieszka Kordek, Andrzej Torbe Available online: <https://www.medicon.pl/zakazenia-w-ciazy-i-okoloporodowe-postepowanie-z-matka-i-noworodkiem/28489> (accessed on 6 May 2023).
9. Krohn, M.A.; Hillier, S.L.; Nugent, R.P.; Cotch, M.F.; Carey, J.C.; Gibbs, R.S.; Eschenbach, D.A. The Genital Flora of Women with Intraamniotic Infection. Vaginal Infection and Prematurity Study Group. *J. Infect. Dis.* **1995**, *171*, 1475–1480, doi:10.1093/infdis/171.6.1475.
10. Donders, G.G.G. Definition and Classification of Abnormal Vaginal Flora. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* **2007**, *21*, 355–373, doi:10.1016/j.bpobgyn.2007.01.002.
11. Wielgoś, M.; Pietrzak, B. Bacterial Vaginosis: Diagnosis and Treatment. *Menopause Rev. Menopauzalny* **2012**, *11*, 356–363, doi:10.5114/pm.2012.31459.
12. Taj, N.; Alam, M.S.U.; Bajwa, Z.; Waheed, A.; Ullah, E. Bacterial Vaginosis in Pregnant Women and Its Diagnosis Using Amsel's Clinical Criteria and Nugent's Method.
13. Andrzejczak-Grządka, S.; Dolińska, I. Wykrywanie mykoplazm urogenitalnych w próbkach klinicznych. *Postępy Biochem.* **2019**, *65*, 299–305, doi:10.18388/pb.2019\_273.
14. Matasariu, D.R.; Ursache, A.; Agache, A.; Mandici, C.E.; Boiculese, V.L.; Bujor, I.E.; Rudisteanu, D.; Dumitrascu, I.; Schaas, C.M. Genital Infection with *Ureaplasma Urealyticum* and Its Effect on Pregnancy. *Exp. Ther. Med.* **2022**, *23*, 89, doi:10.3892/etm.2021.11012.
15. Kacerovsky, M.; Pliskova, L.; Menon, R.; Kutova, R.; Musilova, I.; Maly, J.; Andrys, C. Microbial Load of Umbilical Cord Blood *Ureaplasma* Species and *Mycoplasma Hominis* in Preterm Prelabor Rupture of Membranes. *J. Matern.-Fetal Neonatal Med. Off. J. Eur. Assoc. Perinat. Med. Fed. Asia Ocean. Perinat. Soc. Int. Soc. Perinat. Obstet.* **2014**, *27*, 1627–1632, doi:10.3109/14767058.2014.887068.
16. Yoon, B.H.; Romero, R.; Lim, J.-H.; Shim, S.-S.; Hong, J.-S.; Shim, J.-Y.; Jun, J.K. The Clinical Significance of Detecting *Ureaplasma Urealyticum* by the Polymerase Chain

- Reaction in the Amniotic Fluid of Patients with Preterm Labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2003**, *189*, 919–924, doi:10.1067/s0002-9378(03)00839-1.
17. Gibbs, R.S.; Blanco, J.D.; St.Clair, P.J.; Castaneda, Y.S. Quantitative Bacteriology of Amniotic Fluid from Women with Clinical Intraamniotic Infection at Term. *J. Infect. Dis.* **1982**, *145*, 1–8.
  18. Sung, J.-H.; Choi, S.-J.; Oh, S.-Y.; Roh, C.-R. Should the Diagnostic Criteria for Suspected Clinical Chorioamnionitis Be Changed? *J. Matern.-Fetal Neonatal Med. Off. J. Eur. Assoc. Perinat. Med. Fed. Asia Ocean. Perinat. Soc. Int. Soc. Perinat. Obstet.* **2021**, *34*, 824–833, doi:10.1080/14767058.2019.1618822.
  19. Peng, C.-C.; Chang, J.-H.; Lin, H.-Y.; Cheng, P.-J.; Su, B.-H. Intrauterine Inflammation, Infection, or Both (Triple I): A New Concept for Chorioamnionitis. *Pediatr. Neonatol.* **2018**, *59*, 231–237, doi:10.1016/j.pedneo.2017.09.001.
  20. Romero, R.; Miranda, J.; Kusanovic, J.P.; Chaiworapongsa, T.; Chaemsaihong, P.; Martinez, A.; Gotsch, F.; Dong, Z.; Ahmed, A.I.; Shaman, M.; et al. Clinical Chorioamnionitis at Term I: Microbiology of the Amniotic Cavity Using Cultivation and Molecular Techniques. *J. Perinat. Med.* **2015**, *43*, 19–36, doi:10.1515/jpm-2014-0249.
  21. Romero, R.; Chaemsaihong, P.; Korzeniewski, S.J.; Kusanovic, J.P.; Docheva, N.; Martinez-Varea, A.; Ahmed, A.I.; Yoon, B.H.; Hassan, S.S.; Chaiworapongsa, T.; et al. Clinical Chorioamnionitis at Term III: How Well Do Clinical Criteria Perform in the Identification of Proven Intra-Amniotic Infection? *J. Perinat. Med.* **2016**, *44*, 23–32, doi:10.1515/jpm-2015-0044.
  22. Tita, A.T.N.; Andrews, W.W. Diagnosis and Management of Clinical Chorioamnionitis. *Clin. Perinatol.* **2010**, *37*, 339–354, doi:10.1016/j.clp.2010.02.003.
  23. Kopyra, P.; Seremak-Mrozikiewicz, A.; Drews, K. Usefulness of PCT, IL-6, CRP Measurement in the Prediction of Intraamniotic Infection and Newborn Status in Pregnant Women with Premature Rupture of Membranes. *Ginekol. Pol.* **2010**, *81*.
  24. Combs, C.A.; Garite, T.J.; Lapidus, J.A.; Lapointe, J.P.; Gravett, M.; Rael, J.; Amon, E.; Baxter, J.K.; Brady, K.; Clewell, W.; et al. Detection of Microbial Invasion of the Amniotic Cavity by Analysis of Cervicovaginal Proteins in Women with Preterm Labor and Intact Membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2015**, *212*, 482.e1-482.e12, doi:10.1016/j.ajog.2015.02.007.
  25. Di Naro, E.; Ghezzi, F.; Raio, L.; Romano, F.; Mueller, M.D.; McDougall, J.; Cicinelli, E. C-Reactive Protein in Vaginal Fluid of Patients with Preterm Premature Rupture of Membranes. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **2003**, *82*, 1072–1079, doi:10.1046/j.1600-0412.2003.00223.x.
  26. Drews, K.; Pieńkowski, W. Zakażenie wewnątrzrodniowe — nadal więcej pytań niż odpowiedzi. *Ginekol. Perinatol. Prakt.* **2016**, *1*, 141–151.
  27. Yoon, B.H.; Jun, J.K.; Park, K.H.; Syn, H.C.; Gomez, R.; Romero, R. Serum C-Reactive Protein, White Blood Cell Count, and Amniotic Fluid White Blood Cell Count in Women with Preterm Premature Rupture of Membranes. *Obstet. Gynecol.* **1996**, *88*, 1034–1040, doi:10.1016/s0029-7844(96)00339-0.
  28. Romero, R.; Yoon, B.H.; Mazor, M.; Gomez, R.; Gonzalez, R.; Diamond, M.P.; Baumann, P.; Araneda, H.; Kenney, J.S.; Cotton, D.B. A Comparative Study of the Diagnostic Performance of Amniotic Fluid Glucose, White Blood Cell Count, Interleukin-6, and Gram Stain in the Detection of Microbial Invasion in Patients with Preterm Premature Rupture of Membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1993**, *169*, 839–851, doi:10.1016/0002-9378(93)90014-a.
  29. Hillier, S.L.; Witkin, S.S.; Krohn, M.A.; Watts, D.H.; Kiviat, N.B.; Eschenbach, D.A. The Relationship of Amniotic Fluid Cytokines and Preterm Delivery, Amniotic Fluid

- Infection, Histologic Chorioamnionitis, and Chorioamnion Infection. *Obstet. Gynecol.* **1993**, *81*, 941–948.
30. Rekomendacje-Kompendium\_20150504.Pdf.
  31. Rekomendacje Zespołu Ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego Dotyczące Opieki Okołoporodowej i Prowadzenia Porodu. Available online: <https://nauka-polska.pl/#/profile/publication?id=1836754&k=d50lfh> (accessed on 6 May 2023).
  32. Keelan, J.A.; Payne, M.S.; Kemp, M.W.; Ireland, D.J.; Newnham, J.P. A New, Potent, and Placenta-Permeable Macrolide Antibiotic, Solithromycin, for the Prevention and Treatment of Bacterial Infections in Pregnancy. *Front. Immunol.* **2016**, *7*, 111, doi:10.3389/fimmu.2016.00111.
  33. Lee, M.Y.; Kim, M.H.; Lee, W.I.; Kang, S.Y.; Jeon, Y.L. Prevalence and Antibiotic Susceptibility of Mycoplasma Hominis and Ureaplasma Urealyticum in Pregnant Women. *Yonsei Med. J.* **2016**, *57*, 1271–1275, doi:10.3349/ymj.2016.57.5.1271.
  34. McDonald, H.M.; Brocklehurst, P.; Gordon, A. Antibiotics for Treating Bacterial Vaginosis in Pregnancy. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2007**, CD000262, doi:10.1002/14651858.CD000262.pub3.
  35. Yudin, M.H.; Money, D.M. No. 211-Screening and Management of Bacterial Vaginosis in Pregnancy. *J. Obstet. Gynaecol. Can. JOGC J. Obstet. Gynecol. Can. JOGC* **2017**, *39*, e184–e191, doi:10.1016/j.jogc.2017.04.018.
  36. Rekomendacjaopiekaprzedporodowa.Pdf.
  37. Położnictwo. Tom 2. Medycyna Matczyno-Płodowa - (EBook) - Księgarnia Medyczna PZWL Available online: <https://pzwl.pl/Poloznictwo.-Tom-2.-Medycyna-matczyno-plodowa,160473302,p.html> (accessed on 6 May 2023).
  38. Plucińska, A.; Hajduczenia, M.; Pastusiak, M.; Kowalik, M.; Miechowicz, I.; Szymankiewicz, M. The Impact of Premature Rupture of Membranes (PROM) on Neonatal Outcome. *Ginekol. Pol.* **2010**, *81*.
  39. Test, G.; Levy, A.; Wiznitzer, A.; Mazor, M.; Holcberg, G.; Zlotnik, A.; Sheiner, E. Factors Affecting the Latency Period in Patients with Preterm Premature Rupture of Membranes. *Arch. Gynecol. Obstet.* **2011**, *283*, 707–710, doi:10.1007/s00404-010-1448-7.
  40. Navathe, R.; Schoen, C.N.; Heidari, P.; Bachilova, S.; Ward, A.; Tepper, J.; Visintainer, P.; Hoffman, M.K.; Smith, S.; Berghella, V.; et al. Azithromycin vs Erythromycin for the Management of Preterm Premature Rupture of Membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2019**, *221*, 144.e1–144.e8, doi:10.1016/j.ajog.2019.03.009.
  41. Rekomendacje-Diagnostyki-Terapii\_2021.03.02.Pdf.
  42. 02.2008 - W TRAKCIE AKTUALIZACJI - Wykrywanie Nosicielstwa GBS u Kobiet w Cięży i Zapobiegania Zakażeniom u Noworodków.Pdf.
  43. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z Dnia 16 Sierpnia 2018 r. w Sprawie Standardu Organizacyjnego Opieki Okołoporodowej Available online: <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=WDU20180001756> (accessed on 6 May 2023).
  44. Velaphi, S.; Siegel, J.D.; Wendel, G.D.; Cushion, N.; Eid, W.M.; Sánchez, P.J. Early-Onset Group B Streptococcal Infection after a Combined Maternal and Neonatal Group B Streptococcal Chemoprophylaxis Strategy. *Pediatrics* **2003**, *111*, 541–547, doi:10.1542/peds.111.3.541.
  45. Kociszewska-Najman, B.; Oslislo, A.; Szymusik, I.; Pietrzak, B.; Jabiry-Zieniewicz, Z. [Intrapartum prophylaxis against group B Streptococcus infection--own experience]. *Ginekol. Pol.* **2010**, *81*, 913–917.

46. J, C.; M, R.; F, B.; A, T.-G.; F, A.-M.; L, D.; C, B.-G.; Ij, H.; P, G.; M, C.; et al. Accuracy of Several Maternal Seric Markers for Predicting Histological Chorioamnionitis after Preterm Premature Rupture of Membranes: A Prospective and Multicentric Study. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **2016**, *205*, doi:10.1016/j.ejogrb.2016.08.022.
47. Yoon, B.H.; Yang, S.H.; Jun, J.K.; Park, K.H.; Kim, C.J.; Romero, R. Maternal Blood C-Reactive Protein, White Blood Cell Count, and Temperature in Preterm Labor: A Comparison with Amniotic Fluid White Blood Cell Count. *Obstet. Gynecol.* **1996**, *87*, 231–237, doi:10.1016/0029-7844(95)00380-0.
48. A, T.; K, K. Maternal Serum and Vaginal Fluid C-Reactive Protein Levels Do Not Predict Early-Onset Neonatal Infection in Preterm Premature Rupture of Membranes. *J. Perinatol. Off. J. Calif. Perinat. Assoc.* **2010**, *30*, doi:10.1038/jp.2010.22.
49. Martius, J.A.; Roos, T.; Gora, B.; Oehler, M.K.; Schrod, L.; Papadopoulos, T.; Gross, U. Risk Factors Associated with Early-Onset Sepsis in Premature Infants. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **1999**, *85*, 151–158, doi:10.1016/s0301-2115(99)00018-4.
50. Rola Biologiczna IL-1, IL-6 i CRP Oraz Ich Zastosowanie w Diagnostyce Proce Available online: <https://diagnostykalaboratoryjna.eu/resources/html/article/details?id=233723&language=pl> (accessed on 23 May 2023).
51. Park, H.; Park, K.H.; Kim, Y.M.; Kook, S.Y.; Jeon, S.J.; Yoo, H.-N. Plasma Inflammatory and Immune Proteins as Predictors of Intra-Amniotic Infection and Spontaneous Preterm Delivery in Women with Preterm Labor: A Retrospective Study. *BMC Pregnancy Childbirth* **2018**, *18*, 146, doi:10.1186/s12884-018-1780-7.
52. Cobo, T.; Tsiartas, P.; Kacerovsky, M.; Holst, R.-M.; Hougaard, D.M.; Skogstrand, K.; Wennerholm, U.-B.; Hagberg, H.; Jacobsson, B. Maternal Inflammatory Response to Microbial Invasion of the Amniotic Cavity: Analyses of Multiple Proteins in the Maternal Serum. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **2013**, *92*, 61–68, doi:10.1111/aogs.12028.
53. Martinez-Portilla, R.J.; Hawkins-Villarreal, A.; Alvarez-Ponce, P.; Chinolla-Arellano, Z.L.; Moreno-Espinosa, A.L.; Sandoval-Mejia, A.L.; Moreno-Uribe, N. Maternal Serum Interleukin-6: A Non-Invasive Predictor of Histological Chorioamnionitis in Women with Preterm-Prelabor Rupture of Membranes. *Fetal Diagn. Ther.* **2019**, *45*, 168–175, doi:10.1159/000488080.
54. Murtha, A.P.; Greig, P.C.; Jimmerson, C.E.; Herbert, W.N. Maternal Serum Interleukin-6 Concentration as a Marker for Impending Preterm Delivery. *Obstet. Gynecol.* **1998**, *91*, 161–164, doi:10.1016/s0029-7844(97)00602-9.
55. Torbé, A.; Czajka, R.; Kordek, A.; Rzepka, R.; Kwiatkowski, S.; Rudnicki, J. Value of Vaginal Fluid Proinflammatory Cytokines for the Prediction of Early-Onset Neonatal Infection in Preterm Premature Rupture of the Membranes. *J. Interferon Cytokine Res. Off. J. Int. Soc. Interferon Cytokine Res.* **2007**, *27*, 393–398, doi:10.1089/jir.2006.0127.
56. Combs, C.A.; Garite, T.J.; Lapidus, J.A.; Lapointe, J.P.; Gravett, M.; Rael, J.; Amon, E.; Baxter, J.K.; Brady, K.; Clewell, W.; et al. Detection of Microbial Invasion of the Amniotic Cavity by Analysis of Cervicovaginal Proteins in Women with Preterm Labor and Intact Membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2015**, *212*, 482.e1-482.e12, doi:10.1016/j.ajog.2015.02.007.
57. El-Ghazaly, T.E.; Abdelazim, I.A.; Elshabrawy, A. Interleukin-6 Bedside Test in Detecting Chorioamnionitis in Women with Preterm Premature Rupture of Fetal Membranes. *Ginekol. Pol.* **2022**, *93*, 835–841, doi:10.5603/GP.a2022.0027.
58. Romero, R.; Yoon, B.H.; Mazor, M.; Gomez, R.; Diamond, M.P.; Kenney, J.S.; Ramirez, M.; Fidel, P.L.; Sorokin, Y.; Cotton, D. The Diagnostic and Prognostic Value

- of Amniotic Fluid White Blood Cell Count, Glucose, Interleukin-6, and Gram Stain in Patients with Preterm Labor and Intact Membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1993**, *169*, 805–816, doi:10.1016/0002-9378(93)90009-8.
59. Hsu, C.D.; Meaddough, E.; Aversa, K.; Hong, S.F.; Lu, L.C.; Jones, D.C.; Copel, J.A. Elevated Amniotic Fluid Levels of Leukemia Inhibitory Factor, Interleukin 6, and Interleukin 8 in Intra-Amniotic Infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1998**, *179*, 1267–1270, doi:10.1016/s0002-9378(98)70144-9.
  60. Harirah, H.; Donia, S.E.; Hsu, C.D. Amniotic Fluid Matrix Metalloproteinase-9 and Interleukin-6 in Predicting Intra-Amniotic Infection. *Obstet. Gynecol.* **2002**, *99*, 80–84, doi:10.1016/s0029-7844(01)01632-5.
  61. Diagnostyka Laboratoryjna - Ingo Besenthal, Bohm Bernhard Otto, Birgid Neumeister (Książka) - Księgarnia Medyczna PZWL Available online: <https://pzwl.pl/Diagnostyka-laboratoryjna,4948941,p.html> (accessed on 24 May 2023).
  62. Oludag, T.; Gode, F.; Caglayan, E.; Saatli, B.; Okyay, R.E.; Altunyurt, S. Value of Maternal Procalcitonin Levels for Predicting Subclinical Intra-Amniotic Infection in Preterm Premature Rupture of Membranes: Procalcitonin Levels in PPRM. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* **2014**, *40*, 954–960, doi:10.1111/jog.12273.
  63. Torbé, A. Maternal Plasma Procalcitonin Concentrations in Pregnancy Complicated by Preterm Premature Rupture of Membranes. *Mediators Inflamm.* **2007**, *2007*, 35782, doi:10.1155/2007/35782.
  64. Torbé, A.; Czajka, R. Are Vaginal Fluid Procalcitonin Levels Useful for the Prediction of Subclinical Infection in Patients with Preterm Premature Rupture of Membranes? *J. Obstet. Gynaecol. Res.* **2005**, *31*, 464–470, doi:10.1111/j.1447-0756.2005.00321.x.
  65. Horinouchi, T.; Yoshizato, T.; Kozuma, Y.; Shinagawa, T.; Muto, M.; Yamasaki, T.; Hori, D.; Ushijima, K. Prediction of Histological Chorioamnionitis and Neonatal and Infantile Outcomes Using Procalcitonin in the Umbilical Cord Blood and Amniotic Fluid at Birth. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* **2018**, *44*, 630–636, doi:10.1111/jog.13573.
  66. Bilinski, R.T.; Williams, S.F.; Apuzzio, J.J. Procalcitonin in Amniotic Fluid at the Time of Genetic Amniocentesis and Preterm Delivery. *J. Matern.-Fetal Neonatal Med. Off. J. Eur. Assoc. Perinat. Med. Fed. Asia Ocean. Perinat. Soc. Int. Soc. Perinat. Obstet.* **2018**, *31*, 2705–2708, doi:10.1080/14767058.2017.1353969.
  67. Romero, R.; Jimenez, C.; Lohda, A.K.; Nores, J.; Hanaoka, S.; Avila, C.; Callahan, R.; Mazar, M.; Hobbins, J.C.; Diamond, M.P. Amniotic Fluid Glucose Concentration: A Rapid and Simple Method for the Detection of Intraamniotic Infection in Preterm Labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1990**, *163*, 968–974, doi:10.1016/0002-9378(90)91106-m.
  68. Kacerovsky, M.; Holeckova, M.; Stepan, M.; Gregor, M.; Vescicik, P.; Lesko, D.; Burckova, H.; Pliskova, L.; Bolehovska, R.; Andrys, C.; et al. Amniotic Fluid Glucose Level in PPRM Pregnancies: A Glance at the Old Friend. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* **2022**, *35*, 2247–2259, doi:10.1080/14767058.2020.1783232.
  69. Odibo, A.O.; Rodis, J.F.; Sanders, M.M.; Borgida, A.F.; Wilson, M.; Egan, J.F.; Campbell, W.A. Relationship of Amniotic Fluid Markers of Intra-Amniotic Infection with Histopathology in Cases of Preterm Labor with Intact Membranes. *J. Perinatol. Off. J. Calif. Perinat. Assoc.* **1999**, *19*, 407–412, doi:10.1038/sj.jp.7200210.
  70. Bretz, G.; Mauer, A.M. Glucose Consumption by Polymorphonuclear Leukocytes in the Cerebrospinal Fluid of Patients with Bacterial Meningitis. *J. Pediatr.* **1967**, *70*, 767–771, doi:10.1016/s0022-3476(67)80328-7.
  71. Zdrodowska-Stefanow, B.; Kłosowska, W.M.; Ostaszewska-Puchalska, I.; Bułhak-Kozioł, V.; Kotowicz, B. Ureaplasma Urealyticum and Mycoplasma Hominis Infection in Women with Urogenital Diseases. *Adv. Med. Sci.* **2006**, *51*, 250–253.

72. Kacerovsky, M.; Stranik, J.; Kukla, R.; Bolehovska, R.; Bostik, P.; Matulova, J.; Stepan, M.; Hladky, J.; Jacobsson, B.; Musilova, I. Intra-Amniotic Infection and Sterile Intra-Amniotic Inflammation in Women with Preterm Labor with Intact Membranes Are Associated with a Higher Rate of Ureaplasma Species DNA Presence in the Cervical Fluid. *J. Matern.-Fetal Neonatal Med. Off. J. Eur. Assoc. Perinat. Med. Fed. Asia Ocean. Perinat. Soc. Int. Soc. Perinat. Obstet.* **2022**, *35*, 7344–7352, doi:10.1080/14767058.2021.1947231.
73. Stosowanie-Antybiotykw.Pdf.
74. CHARAKTERYSTYKA PRODUKTU LECZNICZEGO.
75. Fiore Mitchell, T.; Pearlman, M.D.; Chapman, R.L.; Bhatt-Mehta, V.; Faix, R.G. Maternal and Transplacental Pharmacokinetics of Cefazolin. *Obstet. Gynecol.* **2001**, *98*, 1075–1079, doi:10.1016/s0029-7844(01)01629-5.
76. Brown, C.E.; Christmas, J.T.; Bawdon, R.E. Placental Transfer of Cefazolin and Piperacillin in Pregnancies Remote from Term Complicated by Rh Isoimmunization. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1990**, *163*, 938–943, doi:10.1016/0002-9378(90)91101-h.
77. Musilova, I.; Pliskova, L.; Gerychova, R.; Janku, P.; Simetka, O.; Matlak, P.; Jacobsson, B.; Kacerovsky, M. Maternal White Blood Cell Count Cannot Identify the Presence of Microbial Invasion of the Amniotic Cavity or Intra-Amniotic Inflammation in Women with Preterm Prelabor Rupture of Membranes. *PloS One* **2017**, *12*, e0189394, doi:10.1371/journal.pone.0189394.
78. Gerber, S.; Vial, Y.; Hohlfeld, P.; Witkin, S.S. Detection of Ureaplasma Urealyticum in Second-Trimester Amniotic Fluid by Polymerase Chain Reaction Correlates with Subsequent Preterm Labor and Delivery. *J. Infect. Dis.* **2003**, *187*, 518–521, doi:10.1086/368205.
79. Caloone, J.; Rabilloud, M.; Boutitie, F.; Traverse-Glehen, A.; Allias-Montmayeur, F.; Denis, L.; Boisson-Gaudin, C.; Hot, I.J.; Guerre, P.; Cortet, M.; et al. Accuracy of Several Maternal Seric Markers for Predicting Histological Chorioamnionitis after Preterm Premature Rupture of Membranes: A Prospective and Multicentric Study. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* **2016**, *205*, 133–140, doi:10.1016/j.ejogrb.2016.08.022.
80. Wu, H.-C.; Shen, C.-M.; Wu, Y.-Y.; Yuh, Y.-S.; Kua, K.-E. Subclinical Histologic Chorioamnionitis and Related Clinical and Laboratory Parameters in Preterm Deliveries. *Pediatr. Neonatol.* **2009**, *50*, 217–221, doi:10.1016/S1875-9572(09)60066-8.
81. Katz, N.; Schreiber, L.; Oron, A.; Halachmi, S.; Kohelet, D. Inflammatory Response in Preterm Newborns Born after Prolonged Premature Rupture of Membranes: Is There a Correlation with Placental Histological Findings? *Isr. Med. Assoc. J. IMAJ* **2017**, *19*, 610–613.
82. Romero, R.; Sirtori, M.; Oyarzun, E.; Avila, C.; Mazor, M.; Callahan, R.; Sabo, V.; Athanassiadis, A.P.; Hobbins, J.C. Infection and Labor. V. Prevalence, Microbiology, and Clinical Significance of Intraamniotic Infection in Women with Preterm Labor and Intact Membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **1989**, *161*, 817–824, doi:10.1016/0002-9378(89)90409-2.
83. Ramsey, P.S.; Lieman, J.M.; Brumfield, C.G.; Carlo, W. Chorioamnionitis Increases Neonatal Morbidity in Pregnancies Complicated by Preterm Premature Rupture of Membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2005**, *192*, 1162–1166, doi:10.1016/j.ajog.2004.11.035.
84. Oshima, Y.; Tanaka, S.; Tsumura, K.; Tsuda, S.; So, K.; Shinagawa, T.; Yamasaki, F.; Kawaguchi, A.; Nomiyama, M.; Yokoyama, M. Amniotic Fluid Gram Stain and Interleukin-6 Can Predict Early-Onset Neonatal Sepsis. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* **2020**, doi:10.1111/jog.14595.



## 8. 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 wcześniaczą (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 we-

wewnątrzmacicznego; analizie związku rozpoznania zakażenia wewnątrzmacicznego z wystąpieniem zakażenia wrodzonego u noworodka.

## **Materialy 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 wewnątrzowodniowym
- grupę kontrolną stanowiło 36 pacjentek bez zakażenia wewnątrzowodniowego

Celem oceny zgodności rozpoznania zakażenia wewnątrzowodniowego 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 oznaczone 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 pomocną 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.

## 9. Summary

### Introduction

One of the problems of modern obstetrics is intrauterine infection, which is the primary cause of perinatal morbidity, maternal, fetal and neonatal mortality. Intrauterine infection often results in preterm labor, followed by complications of prematurity. These include bronchopulmonary dysplasia, intracranial hemorrhages, respiratory distress syndrome (RDS), necrotizing enterocolitis (NEC), retinopathy of prematurity (ROP), cerebral palsy and delayed psychomotor development. Intrauterine infection is a significant medical problem due to complications that can also occur in the mother, among them are sepsis, septic shock, puerperal infections, postpartum hemorrhage, termination of pregnancy by cesarean section due to abnormal labor function, surgical wound infection, postpartum endometrial infection, respiratory distress syndrome and coagulopathies. The incidence of intrauterine infection has not changed for many years despite medical advances. It is estimated that it complicates 2-4% of term pregnancies and 40-70% of pregnancies ending prematurely. The etopathogenesis of intrauterine infection is multifactorial. Development occurs most often by ascending infection from the vagina and cervix, by the blood route - transplacental, by the descending route (from the peritoneal cavity through the fallopian tubes into the uterine cavity) and as a complication of invasive procedures such as amniocentesis, cordocentesis, placement of a circular suture on the cervix. The most common of the above-mentioned mechanisms for the development of infection is the ascending route, due to the presence of numerous bacteria in vaginal discharge. Due to the importance of the problem of intrauterine infection, methods are still being sought to facilitate the identification of patients with ongoing infection.

The purpose of this study was to evaluate the detection of intraamniotic infections based on available diagnostic methods. Accomplishment of this task consisted of: analyzing the usefulness of assessing the concentrations of biochemical inflammatory parameters (CRP, PCT, IL-6) in peripheral blood, ( IL-6 and PCT) amniotic fluid and vaginal discharge in the diagnosis of intrauterine infection; analyzing the usefulness of glucose determination in amniotic fluid in the diagnosis of intrauterine infection; analysis of the usefulness of microbiological tests (cultures, PCR) in the diagnosis of intrauterine infection; analysis of the usefulness of histopathological tests in the diagnosis of intrauterine infection; analysis of the association of the diagnosis of intrauterine infection with the occurrence of congenital infection in the newborn.

## **Materials and methodology**

The study included 46 patients giving birth by cesarean section in the Department of Obstetrics and Gynecology of the Pomeranian Medical University in Szczecin in the period 1.12.2018 - 30.06.2020 and 1.11.2020 - 31.12.2021. Patients whose pregnancy was terminated by cesarean section were randomly qualified to participate in the study. Division into groups was made after the results of histopathological examinations, which were considered to confirm and verify the presence of intrauterine infection.

Pregnant patients were divided into two groups:

- the study group consisted of 12 patients with intrauterine infection
- the control group consisted of 36 patients without intrauterine infection

In order to assess the concordance of the diagnosis of intraamniotic infection with the diagnosis of early-onset infection in the neonate, an analysis of the neonate's medical records was carried out, including clinical status, use of antibiotic therapy and length of hospitalization.

On the day of cesarean section, the following were collected:

- venous blood of the patient for determination of concentrations of CRP, IL-6, PCT,
- vaginal discharge for determination of IL-6, PCT concentrations,
- smear from the cervical canal to perform cultures for aerobic and anaerobic bacteria and atypical bacteria (*Ureaplasma* spp., *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*), fungi, PCR for *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* and *Chlamydia trachomatis*,
- amniotic fluid to perform culture for aerobic bacteria, anaerobic bacteria and PCR for atypical pathogens: *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, and to determine concentrations of glucose, IL-6, PCT.
- A section of the placenta and fetal membranes for histopathological evaluation of the inflammatory infiltrate.

Peripheral blood leukocytosis was performed using Abbott's Cell-Dyn 3500 instrument. C-reactive protein concentration in peripheral blood was assessed using a COBAS INTEGRA 800 C-Reactive Protein (Latex CRPLX) cassette-based assay. The electrochemiluminescence method using the COBAS 801 cassette was used to assess interleukin-6 and procalcitonin levels. The concentration of interleukin-6 in vaginal secretions was determined using the

Atellica IM IL6 assay, a chemiluminescence technique, while the concentration of procalcitonin in vaginal secretions was determined using the Atellica IM BRAHMS PCT assay, using direct chemiluminescence technology and 3 PCT-specific mouse monoclonal antibodies. Cultures were performed for aerobic bacteria and fungi, anaerobic bacteria, and for atypical pathogens: *Ureaplasma* spp, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* from a cervical canal swab. Solid media were used to culture cervical canal secretions for aerobic bacteria, anaerobic bacteria and fungi. On the other hand, testing for atypical pathogens was performed using the MYCOPLASMA IST 3 test from Biomerieux, and for *Chlamydia trachomatis* was performed using the NADAL Chlamydia Cassette Test from nal von minden GmbH. Also performed, molecular testing of cervical canal smear by Real-Time PCR for *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* and *Chlamydia trachomatis* . Amniotic fluid culture was performed for aerobic bacteria and fungi and anaerobic bacteria, and molecular testing by Real-Time PCR for atypical pathogens. The concentration of IL-6 in amniotic fluid was also determined using the Atellica IM IL6 assay, the concentration of PCT in using the Atellica IM BRAHMS PCT assay, and the concentration of glucose was determined using the Atellica CH Glucose Hexokinase\_3 assay. The fetus was evaluated for inflammatory infiltration within the fetal membranes and placenta.

## **Results**

All patients in the study group had an undelivered pregnancy on the day of termination. In the control group, 26.5% were patients with pregnancies below 37 t.c. All patients participating in the study were delivered by cesarean section. Congenital infection was diagnosed in 91.66% (11/12) of the newborns of patients in the group with intraamniotic infection. The median concentration of IL-6 in blood was 6.3 pg/ml in the study group vs 2.6 pg/ml in the control group (  $p= 0.008$  ) , vaginal discharge 9.65 pg/ml vs 2.7 pg/ml (  $p<0.0001$  ) and amniotic fluid 920 pg/ml vs 221.8 pg/ml (  $p=0.04$  ). The median concentration of PCT in blood was 0.06 ng/ml vs 0.05 ng/ml (  $p=0.19$  ) , in vaginal discharge 0.04 ng/ml vs 0.03 ng/ml (  $p< 0.0001$  ) , in amniotic fluid 0.07 ng/ml vs 0.06 ng/ml (  $p=0.02$  ). Median CRP in blood was 7.36 mg/l vs 2.99 mg/l (  $p=0.15$  ) . The median amniotic fluid glucose level was 16 mg/dl vs 25 mg/dl (  $p=0.002$  ) in the control group .The most common type of infection in the cervical smear was fungal infection and aerobic bacterial growth, which affected 11% of patients, while 5% of patients suffered from mixed infection associated with fungal flora and aerobic bacterial growth. In the case of amniotic fluid culture, aerobic bacteria were the most common pathogens, and this problem affected 5% of all patients. The presence of *Ureaplasma* spp. was



detected in 26% of cervical swab specimens made by culture and more than 30% made by PCR. In the case of amniotic fluid, the presence of *Ureaplasma urealyticum* was detected in less than 5% of preparations. No atypical pathogens such as *Mycoplasma hominis* and *Chlamydia trachomatis* were detected in amniotic fluid, and *Ureaplasma urealyticum* infection was present in only 5% of the specimens examined. The results of statistical analysis showed that there were no statistically significant differences between the culture and PCR methods ( $p=0.13$ ). Histopathological examination of the afterbirths showed that in almost 65% of the patients, no significant inflammatory changes were found, while such changes were detected in 26% of the patients. In all cases, the inflammatory changes involved only the fetal membranes. In the analyzed material in the study group, only 3 positive amniotic fluid cultures were obtained (3/12, i.e. 25%). Therefore, the difference between the diagnosis of intrauterine infection by amniotic fluid culture and histopathological examination was significant ( $p = 0.03$ ). The results of logistic regression analysis showed that an increase in the concentration of Il-6 in blood, vaginal discharge, amniotic fluid, and PCT in vaginal discharge and amniotic fluid was associated with an increase in the risk of intrauterine infection. In contrast, an increase in glucose in amniotic fluid was associated with a decrease in the risk of intrauterine infection. ROC curve analysis showed for CRP in blood AUC 0.63; sensitivity 58%, specificity 89%, for Il-6 in blood AUC 0.72; sensitivity 75% and specificity 85%, for Il-6 in vaginal secretions AUC 0.95; sensitivity 92%, specificity 96%, for Il-6 in amniotic fluid AUC 0.88; sensitivity 83%, specificity 97%. ROC analysis showed for PCT in blood AUC 0.66; sensitivity 67%, specificity 70%, for PCT in vaginal secretions AUC 0.83; sensitivity 73%, specificity 96%, for PCT in amniotic fluid AUC 0.79; sensitivity 67%, specificity 87%, for glucose in amniotic fluid AUC 0.93; sensitivity 100% and specificity 80%.

## **Conclusions**

Determination of Il-6 in a patient's blood is very useful in detecting intrauterine infection. It is a method available in most clinical centers, so it can be widely used, and the determinations can be repeated many times. Determination of Il-6 and PCT in vaginal secretions can be considered a helpful method for diagnosing intrauterine infection. The simplicity of collecting the material and the short time needed to obtain the result, provides the possibility of multiple repeat determinations, which may prove important in making very difficult clinical decisions about the termination of an undelivered pregnancy. Determination of Il-6 and PCT in amniotic fluid collected during cesarean section, provides information about the ongoing inflammatory process, which translates directly into the management of the newborn.

Determination of glucose concentration in amniotic fluid is a helpful method in diagnosing intrauterine infection. It is of much greater value to obtain the result during pregnancy rather than at the time of termination. However, it involves the need for amniocentesis, which carries the risk of complications for both mother and fetus. The diagnosis of intrauterine infection is almost always associated with congenital infection in the newborn. The results of microbiological examination of amniotic fluid collected during cesarean section are subject to too much error to consider this method as useful in diagnosing intrauterine infection. Obtaining negative results does not exclude infection at all.

## 10. Spis tabel, rycin, wykresów oraz rysunków

Tabela 1. Charakterystyka pacjentek.....	30
Tabela 2. Charakterystyka kliniczna grup.....	31
Tabela 3. Charakterystyka noworodków obu grup.....	31
Tabela 4. Liczba zakażeń wrodzonych u noworodków.....	32
Tabela 5. Wartości stężeń parametrów stanu zapalnego w poszczególnych płynach ustrojowych. ....	33
Tabela 6. Stężenie Il-6 i PCT w różnych materiałach badawczych w grupie badanej.....	36
Tabela 7. Stężenie Il-6 i PCT w różnych materiałach badawczych w grupie kontrolnej.....	36
Tabela 8. Stężenie glukozy w płynie owodniowym w grupie badanej i kontrolnej.....	37
Tabela 9. Wyniki analizy regresji logistycznej ryzyka wystąpienia zakażenia wewnątrzmacicznego .	48
Tabela 10. Analiza ROC dla badanych parametrów: AUC, cut of point, SE, SP. ....	49
Rycina 1. Stężenie Il-6 w różnych płynach ustrojowych w grupie z zakażeniem wewnątrzmacicznym (B) oraz w grupie bez zakażenia (K).....	34
Rycina 2. Stężenie PCT w różnych płynach ustrojowych w grupie z zakażeniem wewnątrzmacicznym (B) oraz w grupie bez zakażenia (K).....	35
Wykres 1. Wyniki posiewów mikrobiologicznych z wymazu z szyjki macicy i płynu owodniowego	38
Wykres 2. Wyniki badań mikrobiologicznych w kierunku patogenów atypowych z rodzaju Ureaplasma, Mycoplasma, Chlamydia.....	39
Wykres 3. Posiew z kanału szyjki macicy w kierunku Ureaplasma spp. w grupie badanej.....	39
Wykres 4. Posiew z kanału szyjki macicy w kierunku Ureaplasma spp. w grupie kontrolnej.....	40
Wykres 5. PCR z wymazu z kanału szyjki macicy w kierunku Ureaplasma urealyticum w grupie badanej.....	40
Wykres 6. PCR z wymazu z kanału szyjki macicy w kierunku Ureaplasma urealyticum w grupie kontrolnej.....	41
Wykres 7. Posiew z kanału szyjki macicy w kierunku Mycoplasma hominis w grupie badanej.....	41
Wykres 8. Posiew wymazu z kanału szyjki macicy w kierunku Mycoplasma hominis w grupie kontrolnej.....	42

Wykres 9. PCR z wymazu z kanału szyjki macicy w kierunku <i>Mycoplasma hominis</i> w grupie kontrolnej .....	42
Wykres 10. Posiew wymazu z kanału szyjki macicy w kierunku <i>Chlamydia trachomatis</i> w grupie kontrolnej .....	43
Wykres 11. PCR z wymazu z kanału szyjki macicy w kierunku <i>Chlamydia trachomatis</i> w grupie kontrolnej .....	43
Wykres 12. PCR z płynu owodniowego w kierunku <i>Ureaplasma urealyticum</i> w grupie badanej .....	44
Wykres 13. Wyniki badania histopatologicznego .....	45
Rysunek 1. Kosmki łożyskowe bez zmian patologicznych (HE, x100).....	46
Rysunek 2. Błony płodowe bez zmian patologicznych. (HE, x100) .....	46
Rysunek 3. Ropne zapalenie błon płodowych. W nacieku zapalnym widoczne liczne neutrofile (HE, x2000).....	47

## **Załącznik nr 1 : Informacja dla pacjentki**