



**II DEPARTMENT OF GYNECOLOGY
MEDICAL UNIVERSITY IN LUBLIN**
Chairman of Department: *Professor Tomasz Rechberger, M.D, Ph.D.*
20-954 Lublin, 8 Jaczewski St., POLAND, tel. +48/81 72 44 268,
72 44 688, 72 44 686; fax + 48/81 72 44 849

Lublin, dnia 09.11.2023 r.

**Szanowna Pani
Prof. dr hab. n. med. Edyta Paczkowska
PRZEWODNICZĄCA
Rady Naukowej
Dyscypliny Nauki Medyczne
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego
ul. Rybacka 1
70-204 Szczecin**

Recenzja

dysertacji doktorskiej **lek med. Magdy Nawceniak-Balczerskiej** pt:
**„Ocena wykrywalności zakażeń wewnątrzrodniowych na podstawie dostępnych
metod diagnostycznych”.**

Infekcje podczas ciąży grożą bardzo poważnymi konsekwencjami zarówno dla ciężarnej jak też rozwijającego się płodu. Transmisja wertykalna, definiowana jako zakażenie płodu przez matkę jest główną przyczyną zachorowalności i śmiertelności w ciąży. W niektórych przypadkach infekcje bakteryjne, wirusowe i pasożytnicze wywołują tragiczne skutki u płodu. Następstwa zakażeń w ciąży obejmują działanie teratogenne, które powoduje wady wrodzone; ograniczenie wzrostu, poród martwego płodu, poronienie i śmierć noworodka; wcześniactwo; i chorobowość matek. Pionowe przenoszenie patogenów przez maczyno-płodową barierę łożyskową może powodować infekcję płodu, co z kolei może zakłócić organogenezę i w konsekwencji wrodzone anomaliami rozwojowe. Wrodzone nieprawidłowości rozwojowe dotyczą około 3% żywych urodzeń, ale kwestia ewentualnych infekcji wewnątrzmacicznych jako czynnika sprawczego jest słabo poznana.

Utrata ciąży w wyniku poronienia lub urodzenia martwego płodu (zdefiniowana jako wewnątrzmaciczna śmierć płodu po 20 tygodniu) może być również spowodowana infekcją. Około 10-30% martwych urodzeń ma etiologię infekcyjną, chociaż stosunkowo niska czułość i specyficzność badań diagnostycznych w kierunku infekcji w ciąży może skutkować niedoszacowaniem tej wartości. Wskaźnik utraty ciąży jest zmienny w zależności od wieku ciążowego w momencie zakażenia i konkretnego patogenu. Na przykład, zakażenie *Treponema pallidum* powoduje utratę ciąży lub śmierć płodu nawet w 50% przypadków, podczas gdy zakażenie *parwowirusem B19* powoduje utratę ciąży lub martwe urodzenie u poniżej <3% zainfekowanych ciężarnych. Inne potencjalne skutki zakażeń wewnątrzrodniowych to utrata słuchu, opóźnienia rozwojowe czy też ślepotą. Uogólniona infekcja u ciężarnej jest również znaną przyczyną porodu przedwczesnego z wszystkimi niekorzystnymi następstwami wcześniactwa.

Wczesna, szczególnie zbyt późno rozpoznana infekcja wewnątrzmaciczna, to ważna przyczyna zachorowalności i śmiertelności noworodków, a szczególnie wcześniaków i dlatego jej wczesne rozpoznanie ma kolosalne znaczenie prognostyczne. Z tego punktu widzenia badania wyjaśniające złożoność interakcji między tkankami matki i płodu oraz w jaki sposób te interakcje są modulowane przez patogeny, mają kluczowe znaczenie dla rozwoju ukierunkowanych terapii. Chociaż złożoność ciąży i obecne luki w zrozumieniu wielu podstawowych aspektów infekcji na styku matka-płód stanowią niewątpliwe wyzwanie poznawcze to dalsze badania nad tym kluczowym aspektem ludzkiego zdrowia prokreacyjnego powinny doprowadzić do opracowania strategii, które mogą znacznie poprawić wyniki perinatalne.

Dlatego uważam że dysertacja doktorska **lek med. Magdy Nawceniak-Balczerskiej** doskonale wpisuje się w ten właśnie trend badawczy i jest niezwykle interesująca zarówno z badawczego jak też czysto klinicznego punktu widzenia.

Przedstawiona mi do oceny dysertacja doktorska pt. „**Ocena wykrywalności zakażeń wewnątrzrodniowych na podstawie dostępnych metod diagnostycznych**”. ma układ typowy dla tego typu opracowań i zawarta jest na 85 stronach bardzo starannie opracowanego maszynopisu. W bardzo dobrze napisanym wstępie Autorka omawia epidemiologię występowania zakażenia wewnątrzrodniowego w zależności od zastosowanych kryteriów diagnostycznych. Następnie szczegółowo skupia się na etiopatogenezie tego bardzo niebezpiecznego powikłania ciążowego, omawiając dokładnie jego potencjalnie negatywne konsekwencje dla noworodka.

Kolejny akapit wstępu poświęcony jest rozpoznawaniu czynników ryzyka tego powikłania ze szczególnym uwzględnieniem diagnostyki bakteryjnej waginozy, jak również naruszenia równowagi ekosystemu pochwy patogenami *Ureoplasma urealitycum* oraz *Mycoplasma hominis*. Jest to o tyle ważne, że wg. wiarygodnych danych z piśmiennictwa nawet 90% kobiet aktywnych seksualnie może być nosicielkami ureoplazm, natomiast nosicielstwo *Mycoplasma hominis* może dotyczyć nawet 50% kobiet.

W dalszej części wstępu Doktorantka omawia charakterystycznym objawy kliniczne zakażenia wewnątrzrodniowego, ze szczególnym uwzględnieniem pacjentek z grup wysokiego ryzyka, z wykorzystaniem kryteriów Gibbisa oraz kryteriów Lencki.

W kolejnym akapicie Autorka skupia się na diagnostyce zakażenia wewnątrzrodniowego z uwzględnieniem nie tylko objawów klinicznych, ale również wyników badań laboratoryjnych, mikrobiologicznych oraz oceny histopatologicznej łożyska. Jest to istotne z klinicznego punktu widzenia, ponieważ trudności diagnostyczne w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego, zwłaszcza na jego wczesnym etapie, skłaniają do poszukiwania wiarygodnych biomarkerów tego schorzenia.

W chwili obecnej najczęściej stosowanymi markerami zakażenia wewnątrzrodniowego są: leukocytoza, białko C-reaktywne, interleukina 6, prokalcytonina oraz stężenie glukozy w płynie owodniowym. Postawienie właściwego rozpoznania umożliwi wprowadzenie odpowiedniego leczenia antybiotykowego według rekomendowanych schematów.

W kolejnym akapicie wprowadzenie Autorka skupia się na możliwości ewentualnej profilaktyki zakażenia wewnątrzrodniowego, ale jest to oczywiście związane z szybkim wykryciem i odpowiednim leczeniem czynników ryzyka infekcji wewnątrzmacicznej.

Doktorantka szczegółowo omawia zasady profilaktyki zakażenia wewnątrzrodniowego w przedwczesnym pęknięciu pęcherza płodowego przed 37 tygodniem ciąży oraz zasady profilaktyki zakażenia paciorkowcami grypy B.

W mojej opinii wstęp odzwierciedla doskonałą znajomość tematu dysertacji i świadczy o dojrzałości naukowej Doktorantki.

Cel pracy jest jasno sformułowany i dotyczy oceny wykrywalności zakażeń wewnątrzrodniowych na podstawie dostępnych metod diagnostycznych w oparciu o ocenę stężeń biochemicznych parametrów zapalnych (CRP, PCT oraz interleukina 6) we krwi obwodowej, płynie owodniowym oraz wydzielinie pochwowej.

Kolejnym analizowanym przez Doktorantkę parametrem było stężenie glukozy w płynie owodniowym oraz przydatność badań mikrobiologicznych (posiewy i PCR) w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego.

Kolejnym celem szczegółowym dysertacji była analiza przydatności badań histopatologicznych płodu oraz szczegółowa analiza związku zakażenia wewnątrzmacicznego z wystąpieniem zakażenia wrodzonego u noworodka.

Materiał i metodyka nie budzi żadnych zastrzeżeń, podobnie jak zastosowane metody analizy statystycznej, umożliwiające wyciągnięcie wniosków jednoznacznie wynikających z przeprowadzonych badań.

W bardzo dobrze napisanej dyskusji Doktorantka konfrontuje uzyskane przez siebie wyniki z dostępną, odpowiednio dobraną literaturą przedmiotu.

Z czysto klinicznego punktu widzenia szczególnie istotny jest fragment dyskusji dotyczący stężeń interleukiny 6 we krwi, w wydzielinie pochwowej oraz płynie owodniowym w aspekcie możliwości wczesnego wykrywania zagrożenia zakażeniem wewnątrzmacicznym. Autorka pokusiła się o wyznaczenie punktów odcięcia stężeń interleukiny 6 w przewidywaniu zakażenia błon płodowych.

Szczególnie interesującą obserwacją Doktorantki była analiza regresji logistycznej wykazująca, że wzrost stężenia interleukiny 6 w wydzielinie pochwowej wiązał się z bardzo istotnym wzrostem ryzyka zakażenia wewnątrzowodniowego.

Ponadto Autorka w bardzo interesujący sposób przedstawiła potencjalną rolę oznaczania interleukiny 6 w przewidywaniu ryzyka porodu przedwczesnego, a także możliwość przeprowadzania oceny jej stężenia za pomocą szybkiego testu przyłóżkowego, który cechuje się bardzo dużą czułością, swoistością oraz wartością predykcyjną.

Z badań przeprowadzonych przez Autorkę jednoznacznie wynika, że w przypadku podwyższenia stężenia interleukiny 6 w płynie owodniowym ryzyko zakażenia wewnątrzowodniowego w sposób istotny wzrasta i było to skojarzone w 25% przypadków z dodatnim wynikiem posiewu płynu owodniowego.

Doktorantka w sposób świadczący o dojrzałości naukowej konfrontuje uzyskane przez siebie wyniki z dostępnymi danymi literaturowymi.

Kolejną substancją, analizowaną przez Doktorantkę, mogącą mieć znaczenie w diagnostyce zakażenia wewnątrzmacicznego była prokalcytonina.

Wyniki regresji logistycznej wykonanej na potrzeby dysertacji wykazały, że wzrost stężenia prokalcytoniny w wydzielinie pochwowej zwiększał ryzyko infekcji wewnątrzowodniowej, jakkolwiek nie korelowało to z obecnością subklinicznego zakażenia wewnątrzowodniowego.

Dodatkowo badania własne Doktorantki wykazały, że poziom glukozy w płynie owodniowym ma związek z wystąpieniem zakażenia wewnątrzowodniowego. Wyniki analizy regresji logistycznej wykazały, że wzrost wartości glukozy w płynie owodniowym zmniejsza

ryzyko wystąpienia zakażenia wewnątrzowodniowego, co potwierdza fakt, że pacjentki z dodatnim posiewem płynu owodniowego miały znacząco niższy poziom glukozy w płynie.

W kolejnym akapicie dyskusji Doktorantka oceniła przydatność badań mikrobiologicznych w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzowodniowego i skonfrontowała wyniki badań własnych z dostępnymi danymi literaturowymi.

Dr Magda Nawceniak-Balczerska wykazała, że spośród pacjentek z grupy badanej aż 42% miało dodatni posiew z kanału szyjki w kierunku *Ureoplasma spp*, a metoda PCR potwierdziła obecność tego patogenu aż u 50% pacjentek z grupy badanej, podczas gdy odpowiednie wartości w grupie kontrolnej wynosiły 21% i 23%. Z kolei posiewy w kierunku *Mycoplasma hominis* były dodatnie u 17% pacjentek z grupy badanej i tylko u 3% z grupy kontrolnej.

Z kolei w badaniach własnych Autorka wykazała u 26% pacjentek zmiany zapalne w badaniu histopatologicznym płodu, co jeszcze raz jednoznacznie potwierdza fakt, jak trudno jest przy pomocy dostępnych badań biochemicznych oraz oceny stanu klinicznego pacjentki przewidzieć wystąpienie zakażenia wewnątrzowodniowego i jak ważne są w tym przypadku odpowiednio dobrane markery.

Ponadto Autorka wykazała, że wśród grupy badanej z histopatologicznym potwierdzeniem zakażenia wewnątrzowodniowego aż u 91% badanych potwierdzono zakażenie wrodzone u noworodka.

Na podstawie przeprowadzonych badań Doktorantka wyciągnęła 6 wniosków jednoznacznie wynikających z uzyskanych wyników.

Pracę uzupełnia 84 pozycje umiejętnie dobranych i cytowanych prac naukowych.

Ponadto pracę kończy streszczenie w języku polskim i angielskim doskonale ilustrujące meritum dysertacji.

Uwagi szczegółowe:

Analiza statystyczna i zastosowane testy nie budzą żadnych zastrzeżeń, ale przy dość niedużej grupie pacjentek należałoby wspomnieć jak obliczano wiarygodność statystyczną badania (power of the study) bazując oczywiście na dostępnej literaturze przedmiotu i zakładając nawet czysto teoretycznie potencjalne różnice w występowaniu zakażeń wewnątrzowodniowych.

Ponadto wydaje mi się, że z czysto naukowego punktu widzenia należałoby w sposób szczegółowy np. w **Tabeli** przedstawić wszystkie kliniczne cechy pacjentek z grupy badanej (temperatura ciała, wartość leukocytozy, odpływanie bądź nie płynu owodniowego, obecność tkliwości mięśnia macicy w badaniu palpacyjnym oraz wartości tętna matki oraz obecności lub

braku tachykardii u płodu (KTG). Myślę, że wszystkie te dane kliniczne są dostępne i ich dołączenie nie będzie szczególnie kłopotliwe w ostatecznej redakcji pracy.

Nie do końca rozumiem dlaczego pacjentki z grupy kontrolnej mające wskazania do planowego cięcia cesarskiego nie posiadały wyniku nosicielstwa GBS, pomimo że większość z nich znajdowała się w ciąży powyżej 37 tygodnia – proszę o wyjaśnienie

Wykaz skrótów należy uzupełnić o następujące pozycje występujące w tekście dysertacji

- SP specificity - specyficzność
- VF vaginal fluis – wydzielina pochwowa
- AF amniotic fluid – płyn owodniowy

Str. 50 – jest ...stężenie CRP we krwi u pacjentek zapaleniem – powinno być ..z zapaleniem

Str. 52 – jest ...i dodatnim płynem owodniowym.. – powinno być ..i dodatnim wynikiem posiewu płynu owodniowego.

Str. 60 – jest ...w przypadku sterylnego zapalenia wenwątrowodniowego.. – proszę o wyjaśnienie co to jest sterylne zapalenie wewnątrzowodniowe?

Str. 61 – jest ...z ujemnym płynem owodniowym. – powinno być z ujemnym posiewem płynu owodniowego

Te drobne uwagi, głównie natury redakcyjnej, nie wpływają oczywiście na generalnie wysoce pozytywną opinię o przedstawionej mi do recenzji pracy zatytułowanej „***Ocena wykrywalności zakażeń wewnątrzowodniowych na podstawie dostępnych metod diagnostycznych***”.

Dlatego też uważam, że recenzowana przeze mnie powyższa rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (*Dz.U. nr 65, poz. 595 z późn. zm.*) w związku z art. 179 ust. 1 ustawy z dnia 3 lipca 2018r. *Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018r. poz. 1669 z późn. zm.)*, i dlatego wnoszę do Rady Naukowej Dyscyplin Nauk Medycznych Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie o dopuszczenie **lek. med. Magdy Nawceniak-Balczerskiej** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. zw. dr hab. n med. Tomasz Rechberger