UNIWERSYTET MEDYCZNY
IM. K. MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU
WYDZIAŁ LEKARSKI II

mgr Anna Blacha
lek. Mariusz Machczyński

Ocena wybranych wykładników stanu zapalnego u kobiet ciężarnych w kontekście czystości mikrobiologicznej pochwy

Rozprawa doktorska wspólna

zrealizowana

w Zakładzie Biochemii Klinicznej i Medycyny Laboratoryjnej

Katedry Chemii i Biochemii Klinicznej

Promotorzy:

Prof. dr hab. n. med. Maria Pioruńska-Stolzmann

Prof. dr hab. med. Lech Torliński

Poznań 2015

Składamy serdeczne podziękowania promotorom pracy

Prof. dr hab. n. med. Marii Pioruńskiej-Stolzmann

Prof. dr hab. med. Lechowi Torlińskiemu

Za opiekę i nieocenioną pomoc, bez której praca ta nie powstałaby

Panu prof. dr hab. med. Andrzejowi Szkaradkiewiczowi

Kierownikowi Katedry i Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

serdeczne podziękowania za umożliwienie przeprowadzenia badań i okazaną pomoc w interpretacji wyników

Pani dr n. med. Barbarze Zwoździak

Z Katedry i Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

serdecznie dziękujemy za pomoc w przeprowadzeniu badań

Koleżankom i Kolegom

z Katedry i Zakładu Chemii i Biochemii Klinicznej

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

pragniemy podziękować

za życzliwość i wsparcie w trakcie realizacji tej pracy

Naszym Rodzinom

za dar serca DZIĘKUJEMY

Spis treści

1. Wstęp 9

1.1. Czystość mikrobiologiczna pochwy (Biocenoza pochwy)(A.B.) 9

1.1.1. Bakteryjne zapalenie pochwy (waginoza bakteryjna, BV) 12

1.1.2. Rodzina Streptoccaceae 16

1.1.3. Rodzaj *Streptococcus* 17

1.1.3.1. Ogólna charakterystyka *Streptocooccus agalactiae* 17

1.1.3.2. Czynniki zjadliwości *Streptocooccus agalactiae* 18

1.1.3.3. Czynniki ryzyka zakażeń i patogenność *Streptocooccus agalactiae* 21

1.1.3.4. Diagnostyka nosicielstwa *Streptocooccus agalactiae* 25

1.1.3.5. Wykonanie posiewu w kierunku GBS 25

1.1.3.6. Antybiotykoterapia okołoporodowa 26

1.1.3.7. Immunoprofilaktyka zakażeń GBS 27

1.2. Cytokiny (A.B.) 28

1.2.1. Interleukina-6 28

1.2.2. Interleunina-17 29

1.2.3. Czynnik martwicy nowotworów TNF-α 31

2. Cel pracy (A.B., M.M.) 36

3. Podział zadań badawczych rozprawy doktorskiej (A.B., M.M.) 37

3.1. lek. Mariusz MACHCZYŃSKI 37

3.2. mgr Anna BLACHA 37

3.3. Zadania badawcze wspólne mgr Anny BLACHA i lek. Mariusza MACHCZYŃSKIEGO 37

4. Materiał i metody (A.B., M.M.) 38

4.1. Charakterystyka grupy badanej 38

4.2. Pobranie materiału do badań mikrobiologicznych i ich wykonanie 47

4.2.1. Test aminowy 47

4.2.2. Określenie wartości pH treści pochwy 47

4.2.3. Wykonanie materiału treści pochwowej barwionego metodą Grama 48

4.2.4. Diagnostyka *Trichomonas vaginalis* (preparat bezpośredni) 48

4.2.5. Wykrywanie i identyfikacja drobnoustrojów dróg moczowo- płciowych 49

4.2.6. Ocena stopnia czystości pochwy– klasyfikacja wg Pawlaczyka 49

4.3. Metody badań biochemicznych 51

4.3.1. Oznaczenia stężenia hsCRP 51

4.3.2. Oznaczenia stężenia IL-6 i TNF-α 52

4.3.3. Oznaczenia stężenia IL-17 54

4.3.4. Oznaczanie aktywności oksydazowej ceruloplazminy (CP_{OA}) 56

4.3.5. Oznaczanie stężenia grup tiolowych (gr-SH) 56

4.3.6. Oznaczenie całkowitej zdolności antyoksydacyjnej w oparciu o redukcję jonów żelaza (III) (FRAP) 57

4.3.7. Oznaczanie stężenia substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) 58

4.3.8. Oznaczanie parametrów hematologicznych 58

4.4. Analiza statystyczna wyników 59

4.5. Krytyka metody 59

5. Wyniki i ich omówienie (A.B., M.M.) 61

5.1. Wyniki badań kliniczno-laboratoryjnych u kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży, z uwzględnieniem sposobu zakończenia ciąży (M.M.) 61

5.1.1. Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka u kobiet ciężarnych, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* i sposobu zakończenia ciąży 62

5.1.2. Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* (M.M) 69

5.1.3. Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych (M.M.) 75

5.1.4. Statystyczna analiza wyników kliniczno-mikrobiologicznej oceny czystości pochwy w aspekcie nosicielstwa GBS u kobiet w ciąży (M.M.) 81

5.1.5. Statystyczna analiza wyników mikrobiologicznej oceny biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych (M.M.) 82

5.1.6. Statystyczna analiza wyników laboratoryjnej oceny ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania *Streptococcus agalactiae* u kobiet ciężarnych (M.M.) 87

5.1.7. Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka u kobiet ciężarnych z uwzględnieniem sposobu zakończenia ciąży (M.M.) 96

5.2. Biochemiczne wyniki stanu zapalnego we krwi u kobiet ciężarnych (A.B.) 99

5.2.1. Biochemiczne wykładniki stanu zapalnego u kobiet ciężarnych z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptoccocus agalactiae* (A.B.) 99

5.2.2. Biochemiczne wykładniki stanu zapalnego u kobiet ciężarnych z uwzględnieniem trzystopniowej skali czystości pochwy wg. Pawlaczyka (A.B.) 109

5.2.3. Ocena zależności pomiędzy badanymi markerami procesu zapalnego i stresu oksydacyjnego w badanych grupach, a wynikami badań klinicznych i mikrobiologicznych (A.B.). 119

6. Dyskusja 124

7. Wnioski (A.B.,M.M.) 141

8. Streszczenie w języku polskim i angielskim 142

9. Piśmiennictwo 146

10. Załączniki 155

11. Spis tabel i rycin 163

Wykaz stosowanych skrótów

A.B. -	zadania badawcze Anny Blacha
AP-1-	kompleks białkowy-1, zbudowany z dimerów białek z rodzin Fos, Jun, ATF i Maf, który działa jako czynnik transkrypcyjny, activator protein 1)
AROC-	Area under Receive Operating Characteristic)- pole pod krzywą ROC
B H/C-	β-hemolizyna / cytolizyna
BV-	(bacterial vaginosis)- waginoza bakteryjna
CDC-	(Centers for Disease Control and Prevention) – Centra Kontroli i Zapobiegania Chorobom
CC -	poród przez cięcie cesarskie
CP -	ceruloplazmina
CP_{OA} -	aktywność ceruloplazminy
CPS -	(capsular polysaccharides)– otoczka polisacharydowa
CRP -	(C-reactive protein) – białko C-reaktywne
ELISA-	(enzyme-linked immunosorbet assy)- test immunoenzymatyczny/immunoenzymosorbcyjny
EOD-	(early onset disease) – choroba o wczesnym początku
EOS-	(early onset sepsis) – sepsa o wczesnym początku
Forceps -	poród pochwowy z użyciem kleszczy
G + -	gram– dodatnich
GBS -	(group B Streptococcus) – Streptococcus grupy B
GSSG -	glutation utleniony
Hbd -	(hebdomas)– tydzień ciąży
IAP -	(intrapartum antibiotic prophylaxis) – okołoporodowa profilaktyka antybiotykowa
Il -	(interleukin) interleukina
ICAM-1 -	(intercellular cell adhe- sion molecule 1) cząsteczka adhezji międzykomórkowej
INF-γ-	interferon γ
LBW -	(low birth weight) – niska masa urodzeniowa
LOD -	(late onset disease) – choroba o późnym początku

LPS -	lipopolisacharyd
MDA -	dialdehyd malonowy
MIAC -	przedwczesna inwazja drobnoustrojów jamy owodniowej
MLSB -	macrolide, lincosamide, streptogramin B type) – typ oporny na makrolidy i Linkomycynę
M.M. -	zadania badawcze Mariusza Machczyńskiego
NF-κB -	jądrowy czynnik kappa- wzmacniacz z aktywowanych limfocytów B (ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)
NCCLS -	(National Committee for Clinical Laboratory Standards) – Narodowy Komitet ds. Klinicznych Standardów Laboratoryjnych
PCR -	(polymerase chain reaction) – rekcja łańcuchowej polimerazy
PROM -	(premature rupture of membranes) – przedwczesne pęknięcie błon płodowych w ciąży donoszonej
PPROM -	(preterm premature rupture of membranes)- przedwczesne pęknięcie błon płodowych
PSN -	poród siłami natury
PTG -	Polskie Towarzystwo Ginekologiczne
RFT -	reaktywne formy tlenu
sIL-6R -	(soluble interleukin- 6 receptor) rozpuszczalny receptor IL-6
TBARS -	substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym
TNF-α -	(TNF- tumor necrosis factor, TNF-α kachektyna) czynnik martwicy nowotworów
WBC -	(white blood cells) – leukocyty
Vacuum -	poród pochwowy z użyciem próżnociągu

1. Wstęp

1.1. Czystość mikrobiologiczna pochwy (Biocenoza pochwy)(A.B.)

W stanie fizjologicznym górne części układu płciowego kobiety: jajniki, jajowody i macica są pozbawione drobnoustrojów, natomiast dolna część układu moczowo-płciowego jest miejscem bytowania licznych drobnoustrojów. Czop śluzowy umiejscowiony w kanale szyjki macicy stanowi barierę ochronną przed mikroorganizmami obecnymi na błonach śluzowych pochwy.

W ciągu życia kobiety skład mikroflory pochwy ulega zmianie i jest ściśle powiązany z aktywnością hormonalną ustroju, głównie estrogenów. W trakcie życia wewnątrzłonowego płód jest pozbawiony drobnoustrojów, ale podczas przechodzenia przez kanał rodny zostaje skolonizowany przez mikroflorę pochwy matki. Wysokie stężenie estrogenów w pierwszych 2-3 tygodniach życia dziecka pochodzi od matki i jest czynnikiem sprzyjającym do zasiedlenia pochwy dziewczynki przez drobnoustroje z rodzaju *Lactobacillus* nazywanych pałeczkami Döederleina. Pałeczki te zaliczamy do gram– dodatnich (G+), nie zarodnikujących oraz katalazoujemnych bakterii. Pałeczki te metabolizują glikogen zmagazynowany w nabłonku pochwy do kwasu mlekowego, który powoduje obniżenie pH wydzieliny pochwy do wartości 3,7-4,0. Wytwarzanie kwasów obniżających pH środowiska pochwy nie jest jednak podstawowym mechanizmem ograniczającym wzrost innych mikroorganizmów. Istotne działanie antagonistyczne pałeczek z rodzaju *Lactobacillus spp.* wobec innych drobnoustrojów polega również na wytwarzaniu nadtlenku wodoru (H_2O_2) i bakteriocyn (laktacyna, acydolina), współzawodniczeniu o składniki odżywcze i miejsca receptorowe na powierzchni nabłonka, oraz pobudzaniu komórek układu odpornościowego do wytwarzania przeciwciał [Szewczyk E.M.2007, Kasprowicz A.2008, Verani J.2010, Wielgoś M.2012]. Najczęściej występującymi gatunkami *Lactobaciillus* są*: Lactobacillus crispatus, Lactobacillus jensenii i Lactobacillus gasseri* [Kuczyńska K. 2003, Żabicka D. 2008, , Kasprowicz A. 2013].

W okresie niemowlęcym i wczesnego dzieciństwa wraz z ustąpieniem wpływu hormonów matki (tzw. okres ciszy estrogenowej) ściany pochwy stają się gładkie, nabłonek jest cienki i ubogi w glikogen. Powoduje to zmianę pH pochwy na

obojętne [Verani J. 2010, Wielgoś M. 2012,]. Florę fizjologiczną pochwy w tym okresie tworzą: *Staphylococcus epidermidis, Enterococcus spp., Corynebacterium spp., Bacterioides spp., Peptococcus spp., Porphtromonas spp., Gardnerella vaginalis* [Romanik M. 2004, Verani J. 2010, Niziurski P. 2012].

W okresie pokwitania zaczyna się ponowny wzrost stężenia estrogenów, nabłonek pochwy przekształca się w wielowarstwowy, a warstwa pośrednia zawiera glikogen, co sprzyja zasiedlaniu pochwy pałeczkami *Lactobacillu ssp i* pojawieniu się zmian, które zależą od stężenia estrogenów. W czasie dojrzewania i pojawiania się cyklów owulacyjnych środowisko pochwy jest różne w poszczególnych fazach cyklu miesiączkowego. Estrogeny wytwarzane przez jajniki powodują wzrost, dojrzewanie oraz złuszczanie komórek nabłonka pochwy z jednoczesnym zwiększaniem liczby dojrzałych komórek warstw powierzchniowych. Obserwuje się także zwiększanie ilości glikogenu w komórkach nabłonkowych pochwy i pojawianie się znacznej ilości pałeczek z rodzaju *Lactobacillus* zmieniających odczyn pochwy na kwaśny. Progesteron wydzielany w fazie sekrecyjnej cyklu miesiączkowego wywołuje przemiany w nabłonku pochwy polegające na przeroście komórek warstwy pośredniej i zwiększeniu liczby pałeczek *Lactobacillus spp.* Jest ona największa w fazie wydzielniczej, natomiast liczba innych bakterii wzrasta w fazie proliferacyjnej, a stężenie grzybów z rodzaju *Candida* jest zwykle największe przed miesiączką [Kuczyńska K. 2003, Mączyńska B. 2008, Wielgoś M. 2012].

W skład prawidłowej biocenozy pochwy kobiet dojrzałych wchodzi ok. 100 rodzajów bakterii tlenowych i beztlenowych. W 1 ml wydzieliny pochwowej znajduje się 10^2-10^{11} bakterii. Flora beztlenowa i tlenowa równoważą się, ulegając zmianom ilościowym i jakościowym, a stosunek bakterii tlenowych do beztlenowych wynosi 2:5 [Wilamowska A. 2011]. W okresie dojrzałości płciowej pałeczki *Lactobacillus* stanowią 96% prawidłowej flory bakteryjnej pochwy [Wielgoś M. 2012]. W dalszej kolejności w skład ekosystemu pochwy wchodzą bakterie z rodzaju: *Corynebacterium, Streptococcus, Escherichia, Staphylococcus, Mobiluncus, Prevotella, Peptostreptococcus, Bacterioides, Porphyromonas, Eubacterium, Gardnerella, Bifidobacterium, Klebsiella, Fusobacterium, Sarcina, Listeria, Mycoplasma, Ureaplasma* [Verani J. 2010, Wilamowska A. 2011, Dobrowolska-Redo A. 2013].

W okresie pomenopauzalnym w dolnym odcinku moczowo- płciowym z powodu niedoborów estrogenów pojawiają się zmiany zanikowe, nazwane atrofią

urogenitalną. W tym okresie liczba bakterii *Lactobacillus spp.* zmniejsza się, a pH staje się obojętne i zwiększa się podatność na zakażenia pochwy [Verani J. 2010, Wilamowska A. 2011, Wielgoś M. 2012].

Skład mikroflory pochwy może zmieniać się także pod wpływem stosowanych antybiotyków lub środków o aktywności endokrynogennej lub immunologicznej oraz w ciąży [Romanik M. 2004, Wielgoś M. 2012].

Schorzenia nabyte przez kobietę w okresie poprzedzającym ciążę lub w czasie jej trwania stanowią duże ryzyko zakażenia dziecka w każdym okresie życia płodowego oraz podczas porodu.

Transmisja drobnoustrojów matka- dziecko może odbywać się trzema drogami:

- krwionośną– przez łożyskowo
- wstępującą– najczęściej w wyniku wczesnego pęknięcia błon płodowych
- przez bezpośredni kontakt z drobnoustrojem w drogach rodnych w czasie porodu

Okres ciąży wiąże się nie tylko ze zmianą aktywności hormonalnej, ale także z osłabieniem mechanizmów obrony, co może być przyczyną poważnych zaburzeń ginekologicznych i położniczych [Kuczyńska K. 2003, Mączyńska B. 2008, Kiekrzakowska M. 2012]. Często dochodzi do bakteryjnych i grzybiczych zakażeń pochwy. Należy też zwrócić uwagę na prawdopodobny udział mikoplazm (*Mycoplasma hominis, Mycoplasma genitalium* i *Ureaplasma urealyticum*) w procesie osłabiania funkcji ochronnych błon płodowych. Drobnoustroje te mają zdolność penetrowania tych błon. Zmienione zapalnie błony płodowe mogą przedwcześnie pękać i stanowią wtedy wrota zakażenia dla innych drobnoustrojów zasiedlających w okresie ciąży drogi rodne. Może dochodzić w takim przypadku do zakażenia wód płodowych oraz płodu i infekcji, które określa się jako wstępujące, wywoływanych przez wiele bakterii zarówno Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych. Najważniejsze z nich to paciorkowce β- hemolizujące grupy B (*Streptococcus agalactiae*) oraz pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* (głównie *Escherichia coli*).

Obecność na błonach śluzowych dróg rodnych kobiety ciężarnej drobnoustrojów patogennych stanowi bardzo duże prawdopodobieństwo przeniesienia ich bezpośrednio na rodzące się dziecko. Taki mechanizm transmisji mikroorganizmów matka- noworodek występuje najczęściej w przypadku obecności

w kanale rodnym paciorkowców z grupy B, w dalszej kolejności dwoinek rzeżączki, chlamydii, pałeczek listeriozy i beztlenowych pałeczek gram ujemnych.

Opisane wyżej zakażenia i wynikające z nich choroby mają ściśle powiązanie matka- dziecko. Odrębnym problemem są zakażenia noworodków i matek w okresie poporodowym drobnoustrojami pochodzącymi ze środowiska szpitalnego [Szewczyk E.M. 2007, Kiekrzakowska M. 2012].

1.1.1 Bakteryjne zapalenie pochwy (waginoza bakteryjna, BV)

Zaburzenie ekosystemu pochwy, zanik lub zmniejszenie się liczby bakterii z rodzaju *Lactobacillus spp.*, przede wszystkim szczepów produkujących nadtlenek wodoru, może inicjować procesy chorobowe nazwane waginozą bakteryjną lub bakteryjnym zakażeniem pochwy (bacterial vaginosis– BV). Do czynników sprzyjających rozwojowi bakteryjnego zapalenia pochwy należą: zaburzenia hormonalne, rasa czarna, palenie papierosów, wczesna inicjacja seksualna, promiskuityzm lub nowy partner seksualny, seks oralny, seks lesbijski, irygacja pochwy, a także stosowanie wkładki wewnątrzmacicznej oraz uprawiane seksu podczas miesiączki [Romanik M. 2004, Wielgoś M. 2012]. Bakteryjne zapalenie pochwy rzadziej stwierdza się u kobiet stosujących antykoncepcję hormonalną, prezerwatywy, mających obrzezanego partnera.

W BV najczęściej nie obserwuje się cech stanu zapalnego, ale dochodzi do nadmiernego rozwoju bakterii*: Gardnerella vaginalis, Mobiluncus muliris, Mobiluncusus curtisi, Prevotella disiens, Prevotella bivia, Peptosterptococcus spp. Veilonella parvula, Eubacterium lentum, Fusobacterium spp., Clostrydium spp., Bacterioides fragilis* [Romanik M. 2004, Żabicka D.2008, Wielgoś M. 2012, Kasprowicz A. 2013]. Nadmierny rozwój bakterii z rodzaju *Mobiluncus* i *Prevotella* wytwarzających enzymy (aminopeptydazę i dekarboksylazę) rozkładające białka z wytworzeniem różnych amin biogennych (trimetylaminy, putrescyny, kadaweryny), a także *G. vaginalis*, prowadzi do wzrostu pH treści pochwowej powyżej 4,5 i powstanie „rybiego zapachu”. W preparatach mikroskopowych z wymazów z pochwy widoczne są tzw. komórki jeżowe (clue cells)– złuszczone komórki nabłonka pochwy o zatartych obrzeżach wskutek opłaszczenia bakteriami

beztlenowymi. Wydzielina pochwowa jest obfita, jednorodna, szarobiała [Mączyńska B. 2008, Kasprowicz A. 2013].

Bakteryjne zapalenie pochwy rozpoznaje się najczęściej wg kryteriów Amsela, Nugenta, Haya i Isona [Romanik M. 2004, Żabicka D. 2008, Wielgoś M. 2012]. Rozpoznanie BV wg kryteriów Amsela polega na stwierdzeniu obecności 3 z 4 charakterystycznych objawów umieszczonych w tabeli poniżej (tab. 1.1.).

Tab. 1.1. Kryteria rozpoznania bakteryjnego zakażenia pochwy wg Amsela

Kryterium	Opis
Wydzielina z pochwy	Szarobiała, jednorodna
pH	≥4,5
Test aminowy po dodaniu 10% KOH	Dodatni
Clue cells	Obecność w ilości > 20%

Badanie to jest tanie, łatwe do przeprowadzenia w praktycznie każdym gabinecie ginekologicznym. Wadą jest subiektywna ocena i mniejszy wskaźnik powtarzalności zależny od doświadczenia lekarza. Rozpoznanie BV wg tych kryteriów napotyka na wiele trudności diagnostycznych związanych z występowaniem czynników, które powodują wzrost pH wydzieliny pochwowej lub maskują zapach amin biogennych [Romanik M. 2004, Kasprowicz A. 2008, Żabicka D. 2008, Wielgoś M. 2012].

Skala Nugenta, preferowana przez Polskie Towarzystwo Mikrobiologów jest stosowana dość często. Charakteryzuje się ona wyższą czułością i swoistością niż opisywana powyżej metoda Amsela. Zaletą tej metody jest możliwość uzyskania powtarzalnych wyników oceny BV zarówno w badaniach przeprowadzonych przez różnych klinicystów, jak i przez tę samą osobę w różnych odstępach czasowych. Skala Nugenta pozwala na rozpoznanie BV na podstawie oceny ilościowego stosunku czterech form bakterii: Gram- dodatnich pałeczek *Lactobacillus spp.*, Gram- ujemnych pałeczek *Prevotella* i *G. vaginalis oraz* zakrzywionych pałeczek

Mobiluncus w preparatach bezpośrednich z wymazów z pochwy barwionych metodą Grama (tab. 1.2.).

Całkowitą liczbę punktów oblicza się, sumując stwierdzoną liczbę morfotypów *Lactobacillus spp.*, *Mobiluncus spp. oraz G. vaginalis i Bacteroides spp.* Wynik od 0-3 punktów oznacza stan prawidłowy, od 4- 6 stan pośredni, od 7-10 BV [Romanik M. 2004, Kasprowicz A. 2008, Żabicka D. 2008, Wielgoś M. 2012].

Tab. 1.2. Kryteria rozpoznania bakteryjnego zakażenia pochwy wg Nugenta

Obecność morfotypów	**Liczba drobnoustrojów**	**Liczba punktów**
Lactobacillus spp.	>30	0
	5-30	1
	1-4	2
	<1	3
	0	4
Mobiluncus spp.	≥5	2
	1-4	1
	0	0
G. vaginalis i Bacterioides spp.	>30	4
	5-30	3
	1-4	2
	<1	1
	0	0

W literaturze spotyka się również skalę Haya i Isona, która klasyfikuje rozmazy pochwowe barwione metodą Grama, na podstawie identyfikacji tych samych morfotypów co skala Nugenta. Do oceny bakteryjnego zapalenia pochwy można stosować także szybki test BV Blue, który umożliwia określenie w wydzielinie pochwowej aktywności enzymatycznej sialidaz bakteryjnych

rozkładających glikoproteiny, obecnych w dużej ilości w BV [Romanik M. 2004, Żabicka D. 2008, Wielgoś M. 2012].

W piśmiennictwie możemy też spotkać rozszerzoną skalę oceny stopnia czystości pochwy według Kuczyńskiej w uzupełnieniu Kasprowicza [Kasprowicz A. 2012]. Metoda ta opiera się na ocenie ilościowej pałeczek *Lactobacillus* oraz określeniu wartości pH treści pochwowej, stwierdzeniu obecności *clue cells* oraz obecności *T.vaginalis.* Elementy morfotyczne treści pochwowej oceniano w oparciu o skalę liczebności w zakresie od 0-3 (0- brak, 1- pojedyncze, 2-nieliczne, 3-liczne). Podział ten obejmuje stopnie podstawowe 0,I,II,III,IV oraz stopnie pośrednie 0/I, I/II, II/III, III/IV, 0/IV.

Tab. 1.3. Klasyfikacja stopni czystości pochwy według Kuczyńskiej w uzupełnieniu Kasprowicza

Stopnie	Leukocyty	*Lactobacillus* spp.	Inne bakteriei/lub grzyby drożdżopodobne	pH
I (fizjologiczny)	brak	Liczne	Brak	3,5-4,5
I/II (fizjologiczny)	brak/pojedyncze	liczne polimorfizm	Brak	3,5-4,5
II (fizjologiczny)	pojedyncze/ nieliczne/liczne	nieliczne/liczne	brak/pojedyncze/nieliczne	3,5-4,5
II/III	pojedyncze/ nieliczne/liczne	nieliczne/liczne	nieliczne/liczne	3,5-5,0
III (niefizjologiczny)	pojedyncze/ nieliczne/liczne	pojedyncze/nieliczne	Liczne	powyżej 4,5
III/IV (niefizjologiczny)	pojedyncze/ nieliczne/liczne	Pojedyncza	Liczne	powyżej 4,5
IV (niefizjologiczny)	brak/pojedyncze/ nieliczne/liczne	Brak	Liczne	powyżej 5,5
0/IV (niefizjologiczny)	brak/pojedyncze/ nieliczne/liczne	Brak	Pojedyncze	powyżej 5,5
0 (niefizjologiczny)	brak/pojedyncze/ nieliczne/liczne	Brak	Brak	powyżej 5,5
0/I (fizjologiczny)	brak/pojedyncze	Pojedyncze	Brak	powyżej 4,5

Pomimo różnorodności obrazów makroskopowych podział biocenozy pochwy można przedstawić za pomocą trzystopniowej klasyfikacji wg Pawlaczyka [Pawlaczyk M. 2003, Słomko Z. 2008]. W klasyfikacji tej zwraca się uwagę na proporcje pomiędzy poszczególnymi morfotypami mikroorganizmów. Według trójstopniowej skali wyróżniamy prawidłowa biocenozę pochwy, pośrednią i nieprawidłową. Biocenoza prawidłowa pochwy charakteryzuje się obecnością

prawidłowych morfotypów *Lactobacillus spp.*, brakiem leukocytów lub nielicznymi leukocytami, dopuszcza się obecność niewielkiej liczby blastospor. Biocenozę nieprawidłową obserwujemy w zapaleniu z obecnością licznych leukocytów i bakterii, złuszczonych komórek głębszych warstw nabłonka pochwy, grzybni, *T. vaginalis* (odrębna diagnostyka) i gonokoków (z szyjki macicy) oraz występowaniem nielicznych *Lactobacillus spp.* lub ich brakiem (waginoza bakteryjna (wg porównań liczebności morfotypów). Biocenoza pośrednia określana jest gdy obserwujemy nieliczne *Lactobacillus spp.* lub ich brak, brak leukocytów, nieliczna flora, liczne blastospory, obecność *Lactobacillus spp.* w różnej liczbie, obfita flora mieszana, obecność *Lactobacillus* niewielka liczba leukocytów, lactobacillosis (dominacja morfotypów *Lactobacillus*). Zdaniem klinicystów w grupie pacjentek z nieprawidłową czystością pochwy konieczne jest wdrożenie leczenia w bakteryjnej waginozie (fakultatywnie). W pośrednim stanie czystości pochwy leczenie w zasadzie jest przeciwwskazane. Terapia wdrażana jest w razie odczuwania subiektywnych dolegliwości, popartych badaniem klinicznym. W przypadku kobiet w ciąży lekarz podchodzi inwidualnie do interpretacji wyniku badań mikrobiologicznych Przy stanie prawidłowej biocenozy pochwy terapia jest przeciwwskazana [Pawlaczyk M. 2003, Słomko Z. 2008].

Bakteryjne zapalenie pochwy uważa się za jeden z czynników etiologicznych poronień samoistnych, porodów przedwczesnych, zakażeń wewnątrzmacicznych, przedwczesnego odpływania płynu owodniowego, hipotrofii wewnątrzmacicznej, zapaleń błony śluzowej macicy i narządów miednicy mniejszej [Wielgoś M. 2012]. U kobiet ciężarnych częstość występowania BV waha od 1,6% u kobiet z prawidłowo przebiegającą ciążą do 14,2% u kobiet z zagrażającym porodem przedwczesnym [Romanik M. 2004, Żabicka D. 2008].

1.1.2 Rodzina Streptoccaceae

Rodzina ta obejmuje drobnoustroje, które maja kształt kulisty lub owalny o średnicy 0,5-2 μm. Układają się w postaci dwoinek, łańcuszków lub czworaczków. Nie wytwarzają zarodników i przeważnie nie wykazują ruchu. Są gram-dodatnie, rosną w warunkach tlenowych lub względnie beztlenowych. Do rodziny *Streptoccaceae* zalicza się rodzaj *Streptococcus*.

1.1.3 Rodzaj *Streptococcus*

Ziarenkowce tego rodzaju są nazywane paciorkowcami ze względu na charakterystyczny układ komórek, które dzieląc się w jednej płaszczyźnie, nie rozłączają się całkowicie i tworzą długie łańcuszki jak i paciorki. Barwią się gram-dodatnio, zazwyczaj są nieurzęsione [Zaręba M. 2001, Matynia B. 2007, Wolny K. 2010, Sobol L. 2012].

Paciorkowce nie wytwarzają katalazy i cecha ta różni je od katalazo-dodatnich gronkowców. Podobnie jak gronkowce charakteryzują się metabolizmem fermentacyjnym z kwasem mlekowym jako głównym metabolitem.

Rodzaj *Sterptococcus* obejmuje kilkadziesiąt gatunków. Badania filogenetyczne oparte na analizie rRNA pozwoliły na wyróżnienie sześciu grup na podstawie różnic w sekwencji podjednostki 16 S rRNA. [Jabłoński L. 1979, Zaremba M. 2001, Murray P.R. 2011, Łysakowska M. 2013]

Inny, niezwykle ułatwiający identyfikację, podział paciorkowców na grupy serologiczne opiera się na budowie antygenowej składników ich ściany komórkowej; wielocukru swoistego C (grupa A,B,C,F,G) lub kwasu lipotejchojowego (grupy D i N). System podziału opierający się na różnicach w budowie stworzyła Lancefield w celu identyfikacji tzw. paciorkowców β-hemolizujących- grupy gatunków, których szczepy mogą wywoływać na agarze z krwią hemolizę typu β [Zaremba M. 2001, Gospodarek E. 2009, Murray P.R. 2011, M, Łysakowska M. 2013].

1.1.3.1 Ogólna charakterystyka *Streptocooccus agalactiae*

Streptocooccus agalactiae jest bakterią Gram– dodatnią, β- hemolizujacą, zaliczaną według schematu Lancefield do paciorkowców grupy B (Group B Streptococcus, GBS). *S. agalactiae* jest bezrzęstnym ziarenkowcem, katalazoujemnym, o średnicy od 0,6 do 1,2 µm, który nie wytwarza przetrwalników. Posiada wielocukrową otoczkę, jest względnym beztlenowcem, wzrastającym na podłożach wzbogaconych. [Gospodarek E. 2009, Murray P.R. 2011]. Na agarze

z krwią daje kolonie barwy kremowej, płaskie, o średnicy 1 mm i regularnym brzegu. Kolonie otacza wąska strefa hemolizy typu β. Dość rzadko spotyka się kolonie o hemolizie α lub szczepy nie hemolizujące. Na pożywce płynnej Todd-Hawitta wzrasta w postaci grudkowatego osadu na dnie i na ściankach probówki [Zaremba M. 2001, Gospodarek E. 2009].

Streptocooccus agalactiae jest drobnoustrojem komensalnym kolonizującym dystalne części układu pokarmowego i moczowo-płciowego zdrowych ludzi. Często zasiedla również środowisko pochwy [Murray P.R. 2011, Bigos M. 2012].

1.1.3.2 Czynniki zjadliwości *Streptocooccus agalactiae*

Do najistotniejszych czynników wirulencji *S. agalactiae* należą: otoczka, białka o aktywności enzymatycznej, cytolizyny oraz adhezyny bakteryjne. Szczepy GBS mogą posiadać geny dla białek wiążących fibrynę FbsA i FbsB. FbsA chroni drobnoustrój przed opsonizacją i fagocytozą oraz ułatwia adhezję do komórek nabłonka naczyń włosowatych mózgu. Dzięki tej właściwości bakterie mogą przekraczać barierę krew-mózg [Murray P.R. 2011].

Na podstawie składu wielocukrów wchodzących w skład otoczki oraz obecności białkowego antygenu C wyróżnia się kilka typów serologicznych GBS: Ia, Ib, II-IX [Murray P.R. 2011]. Serotypy te są ważnym znacznikiem wykorzystywanym w dochodzeniach epidemiologicznych. Metodę klasyfikacji serologicznej paciorkowców zaproponował w 1934 roku Rebeka Lancefield. W skład wielocukrów otoczki *S. agalactiae* wchodzą D-galaktoza, D-glukoza, N-acetylo-D-glukozoamina, kwas sjalowy oraz krótkie powtarzające się sekwencje 4-7 cukrów prostych. Trudności z oznaczaniem serotypu występują w przypadku ok. 7% szczepów GBS jednak ich odsetek może sięgać nawet 32% [Zaremba M. 2001, Bigos M.2012, Murray P.R. 2011].

Częstość występowania poszczególnych serotypów otoczkowych *Streptocooccus agalactiae* zależy od miejsca i czasu. W Europie i Ameryce Północnej dominują serotypy I, II, III i V, w Japonii I, III, V. Serotypy Ia, II, III, V są ważnym czynnikiem etiologicznym infekcji głównie u noworodków oraz u kobiet ciężarnych, często też izoluje się je z zakażeń inwazyjnych u osób w wieku

podeszłym [Matynia B. 2007, Murray P.R.2011, Bigos M. 2012, Brzychcy- Włoch M. 2012, Wolny- Koładka K. 2014]

Istotnym czynnikiem zjadliwości paciorkowca są polimerazy otoczkowe. Choć skład tej polisacharydowej struktury jest nieco odmienny u różnych szczepów, to jest ona obecna u szczepów odpowiedzialnych za zakażenie. Ich wirulencja wynika głównie z obecności kwasu sjalowego, który utrudnia prawidłowe zajście procesu fagocytozy poprzez hamowanie opsonizacji komórek bakteryjnych składową C3 układu dopełniacza. GBS są jedynymi, opisanymi dotychczas, Gram-dodatnimi producentami kwasu sjalowego. Hydroliza otoczki zbudowanej z polimerów kwasu sjalowego przy użyciu neuraminidazy prowadzi do aktywacji układu dopełniacza na drodze alternatywnej, opsonizacji, fagocytozy i wewnątrzkomórkowego zabicia bakterii. Dowodem na patogenną rolę otoczki bakteryjnej jest obecność przeciwciał opsonizujących skierowanych przeciwko wielocukrom otoczki *S agalactiae*. Przeciwciała te są serotypowo specyficzne. Brak matczynych immunoglobulin jest potwierdzonym czynnikiem ryzyka zakażeń o etiologii GBS u noworodków.

Za wirulencję paciorkowców odpowiadają również enzymy liaza kwasu hialuronowego oraz peptydaza białka C5a układu dopełniacza. Peptydaza C5a jest białkiem otoczkowym (kodowana przez gen *scpB*), które poprzez rozkład chemotaktycznego składnika komplementu C5a osłabia mobilizację leukocytów i ich migracje do miejsca zakażenia. Aktywność enzymu zależy od obecności grupowo swoistego otoczkowego antygenu B. Peptydaza C5a jest produkowana także przez szczepy grupy A i G paciorkowców β-hemolizujących. Liaza kwasu hialuronowego (kodowana przez gen *HlyB*) poprzez rozkład kwasu hialuronowego obecnego w szczególnie dużym stężeniu w tkankach łożyskowych, płodowych i w płynie owodniowym ułatwia rozprzestrzenianie się zakażenia o etiologii GBS. Najczęściej jest ona wykrywana u serotypu III. Jej poziom jest wyraźnie wyższy u szczepów wyizolowanych od noworodków z posocznicą paciorkowcową niż u tych, które powodują kolonizację. Rola proteaz i nukleaz w patogenezie zakażeń paciorkowcowych, nie została jeszcze dokładnie poznana.

Innym z poznanych czynników zjadliwości GBS jest białkowy czynnik CAMP (kodowany przez gen *cfb*), którego obecność stwierdza się testem synergistycznej hemolizy, na podłożu z krwią baranią lub bydlęcą gdy posiany jest *S. agalactiae* i prostopadle do niego *S. aureusa* wytwarzający β-hemolizę (charakterystyczny trójkąt strefy hemolizy). Czynnik CAMP zalicza się do toksyn

i określa się jako Co-cytolizyna B. Jest to białko tworzące kanały w błonie komórek gospodarza ułatwiając ich niszczenie. Czynnik ten ulega połączeniu z odcinkiem Fc immunoglobuliny klasy IgM i IgG. Mechanizm jego działania nie został jeszcze dokładnie poznany.

Na powierzchni komórek GBS wykryto obecność struktur podobnych do fimbrii, umożliwiają one adhezję do nabłonka drobnych naczyń krwionośnych mózgu oraz pneumocytów.

β-hemolizyny/ cytolizyny (β-H/C) wydzielane przez GBS mają zdolność do przenikania porów w komórkach nabłonka i śródbłonka pęcherzyków płucnych in vitro, co wskazuje na ich znacząca rolę w rozwoju zapalenia płuc u noworodków. Działanie ich ułatwia także przenikanie przez drobnoustrój bariery krew- mózg, przyczynia się do rozwoju niewydolności wątroby oraz indukcje odpowiedzi zapalnej. Wykazano, że synteza βH/C jest związana z produkcją pigmentu o zabarwieniu pomarańczowym, który odpowiada za oporność bakterii na reaktywne formy tlenu (RFT).

Kolonizacja tkanek człowieka przez GBS jest możliwa dzięki obecności licznych adhezyn obecnych na powierzchni komórek bakteryjnych, procesowi temu sprzyja niskie pH pochwy. Między innymi rolę adhezyn pełnią kwasy lipotejchojowe (LTA) ściany komórkowej *S. agalactiae*, wykazujące także cytotoksyczność w stosunku do ludzkich embrionalnych komórek mózgowych oraz komórek owodniowych w hodowlach tkankowych. Do powierzchniowych białek adhezyjnych należą: Cα, Cβ, Alp1, Alp2, Alp3 oraz Rib. Cechują się one silnymi właściwościami antygenowymi, stymulują produkcję swoistych przeciwciał. Antygen C może odgrywać szczególną rolę we wnikaniu patogenów do komórek nabłonka szyjki macicy, poprzez wiązanie się z ich powierzchniowymi glukozoaminoglikanami w mechanizmie zależnym od aktyny [Bigos M. 2012].

S. agalactiae nie posiada zdolności syntezy hemu, dlatego pobiera go z krwi w trakcie toczącego się zakażenia. Hem jest dla drobnoustroju źródłem żelaza wykorzystywanego w procesie oddychania. Dzięki tej zdolności GBS może w pełni ujawnić swoja wirulencję [Łysakowska M. 2013].

1.1.3.3. Czynniki ryzyka zakażeń i patogenność *Streptocooccus agalactiae*

Szacuje się, że 10-30% zdrowych kobiet bez objawów toczącego się procesu zapalnego jest nosicielkami *Streptocooccus agalactiae*. Drobnoustrój ten najczęściej kolonizuje pochwę, kanał szyjki macicy, odbytnicę i skórę. Podstawowym rezerwuarem GBS jest dolny odcinek przewodu pokarmowego, a jego obecność w pochwie może świadczyć o zanieczyszczeniu pochodzącym z odbytu. Kolonizacja pochwy może mieć przebieg okresowy, stały lub nawracający. Bogato objawowe zapalenie pochwy, wymagające leczenia skierowanego przeciw GBS, występują dość rzadko. Potwierdzono również horyzontalną transmisję GBS drogą seksualną. Bakterie izolowano także z gardła oraz układu moczowo-płciowego mężczyzn [Kuczyńska K. 2003, Mączyńska B. 2008, Murray P. 2011, Bigos M. 2012, Sobol L. 2012, Dobrowolska-Redo A. 2013, Michalska M. 2013, Szymusik I. 2014].

W okresie ciąży istnieją sprzyjające warunki dla namnażania się bakterii w pochwie. Kolonizacja dróg rodnych kobiet ciężarnych jest istotnym czynnikiem etiologicznym okołoporodowego zakażenia noworodków. GBS to najczęstszy czynnik etiologiczny u noworodków w okresie okołoporodowym. Należy jednak wspomnieć, że wykrycie GBS we wczesnej ciąży nie jest uznawane za czynnik predykcyjny posocznicy noworodków [Kovavisarach E. 2007, Bigos M. 2012].

Wśród czynników predysponujących do kolonizacji dróg moczowo-płciowych paciorkowcami grupy B u kobiet ciężarnych wymienia się wysoki wskaźnik BMI (Body Mass Index), kolonizacja występuje również częściej u kobiet rasy czarnej, a także u kobiet pracujących w służbach medycznych. Według niektórych autorów ryzyko kolonizacji GBS wzrasta wraz z wiekiem kobiety ciężarnej [Kovavisarach E. 2007, Bigos M. 2012].

W Europie odsetek skolonizowanych kobiet paciorkowcem grupy B wynosi odpowiednio: 6,6% w Grecji, 7% W Hiszpanii, ok 16 % w Niemczech. Częstość zakażeń paciorkowcem grupy B wśród noworodków (na 1000 żywych urodzeń) wynosi 0,2-0,3 w Niemczech, 0,76 w Finlandii, 4,5 we Francji, 5,4 w Australii, 0,4-1,42 w Wielkiej Brytanii, 0,54 Norwegii, a w Hiszpanii 0,4-9 [Fraile M. R. 2003, Tsolia M. 2003, Brimil N. 2006, Sobol. M. 2012].

Na podstawie danych epidemiologicznych zebranych z kilku ośrodków Polski obserwuje się również wyraźny wzrost liczby kobiet skolonizowanych GBS, a także

odnotowuje się wzrost liczby noworodków z obecną kolonizacją paciorkowcem grupy B. W oparciu o badania przeprowadzone w województwie mazowieckim częstość kolonizacji ciężarnych przez GBS wynosiła 19,7%, w województwie małopolskim 18%, a w województwie śląskim 3,3%. U dzieci matek z potwierdzoną kolonizacją GBS częstość kolonizacji wynosiła 9,5- 35,4% [Kotarski J. 2008].

Do czynników ryzyka zakażenia płodu zalicza się dodatni wynik (lub brak wyniku) posiewu w kierunku GBS z pochwy i odbytu, poród przed 37 tygodniem ciąży, niską masę urodzeniową (<2500g), zakażenie układu moczowego o etiologii GBS w ciąży, podwyższoną temperaturę ciała u rodzącej powyżej 38^0 C oraz urodzone w przeszłości dziecko z zakażeniem GBS [Murray P. 2011, Sieroszewski P. 2012].

Do zakażenia GBS u płodu i noworodka może dochodzić poprzez krew przy istniejącym zakażeniu matki, ale jest to rzadsza droga zakażenia [Niemiec T. 2011]. Najczęstszą drogą zakażenia jest droga wstępująca- przy pęknięciu błon płodowych (na ponad 18 godzin przed porodem) lub w przypadku kiedy ciągłość błon płodowych jest zachowana [Gospodarek E. 2003, Verani J. 2010, Murray P. 2011, Niemiec T. 2011, Sobol L. 2012].

Bakteria może zostać zaaspirowania do dróg oddechowych płodu, a to z kolei pociąga za sobą ryzyko wystąpienia bakteriemii i zapalenia płuc. Dodatkowymi czynnikami ryzyka są: wiek matki poniżej 20 roku życia, wystąpienie cukrzycy ciężarnych oraz barak opieki lekarskiej podczas ciąży.

Do infekcji może również dojść w wyniku, kiedy pęcherz płodowy ma zachowaną ciągłość. W trakcie porodu siłami natury dziecko narażone jest na bezpośredni kontakt z GBS i w takim wypadku dochodzi do kolonizacji błon śluzowych przewodu pokarmowego i układu oddechowego, a dzieci najczęściej pozostają zdrowe bez objawów ogólnych zakażenia [Szwabowicz K. 2012].

Przytaczane w literaturze ryzyko przeniesienia zakażenia na płód wynosi 20-30%, a ryzyko zachorowania noworodka 1%. Ciężkie zakażenie pod postacią posocznicy występuje u 0,1% noworodków [Kociszewska- Najman B. 2010]. Noworodek może ulec zakażeniu tą bakterią również po porodzie, w wyniku bezpośredniego kontaktu z osobami zakażonymi (nosicielami). Możliwe jest również skolonizowanie noworodka urodzonego drogą cięcia cesarskiego (przy zachowaniu ciągłości błon płodowych) od matki, która jest nosicielką. W pierwszym tygodniu

życia 3-12% noworodków ulega kolonizacji przez GBS [Verani J. 2010, Bigos M. 2012].

U kobiet ciężarnych GBS może powodować zapalenie błon płodowych, przedwczesne ich pęknięcie, wcześniactwo, niską masę urodzeniową noworodka, zakażenie dróg moczowych, gorączkę, złe samopoczucie, a także wewnątrzmaciczne obumarcie płodu. Rzadko może wystąpić posocznica czy zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Notowano sporadycznie przypadki zgonu ciężarnej w wyniku zakażenia GBS. W połogu GBS może być przyczyną zapalenia endometrium czy poporodowego zakażenia rany, bardzo rzadko może wystąpić nagły wzrost temperatury i posocznica (0,15%) [Bigos M. 2012].

U noworodków zakażenie GBS może mieć przebieg bezobjawowy, ale wymaga szczególnej uwagi ze względu na fakt, iż jest to jeden z najważniejszych czynników wystąpienia posocznicy i zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych w pierwszych dwóch miesiącach życia. Wyjątkowo niebezpieczne dla zdrowia i życia noworodka jest zakażenie nierozpoznane lub rozpoznane zbyt późno. Ocenia się, że kolonizacja GBS u ciężarnej w okresie okołoporodowym zwiększa 25- krotnie ryzyko wystąpienia wczesnej posocznicy noworodków [Sieroszewski P. 2012].

Infekcje spowodowane paciorkowcem β-hemolizującym grupy B są głównym czynnikiem etiologicznym zakażeń u noworodków i niemowląt. Mogą one przybierać postać wczesną lub późną [Gospodarek E. 2009, Murray P. 2011, Bigos M. 2012].

W postaci wczesnej (EOD –early onset disease) objawy pojawiają się poniżej 7 doby życia noworodka (najczęściej w pierwszych dwóch dobach). Częstość zakażenia wynosi 1- 4/1000 żywych urodzeń). Objawia się najczęściej szybko narastającą niewydolnością oddechową w wyniku infekcji dróg oddechowych (50%), posocznicą (30%), zapaleniem opon mózgowo- rdzeniowych (10-20%), zaburzeniami układu pokarmowego. Cechuje ją wysoka śmiertelność ok. 5-10% [Słomko Z. 2001, Romanik M. 2004, Kociszewska- Najman B. 2010, Niemiec T. 2011, Sieroszewski P. 2012, Szwabowicz K. 2012]. U noworodków z zakażeniem wczesno- objawowym bez zapalenia opon mózgowo– rdzeniowych najczęściej izoluje się serotypy I, II, III *S. agalactiae.* W przypadku przebiegu zakażenia wczesno- objawowego dominuje serotyp V [Sobol L. 2012, Brzychcy- Włoch M. 2012, Michalska M.M. 2013].

Zakażenie o późnym początku (LOD- late onset disease) rozpoznawane jest w przypadku wystąpienia objawów zakażenia u noworodka między 7 dniem a 3 miesiącem życia (1,3-1,6/1000 na żywych urodzeń). Przyczyna zakażenia może być związana z zakażeniem wertykalnym oraz z zakażeniem od osób będących nosicielami GBS. Odnotowuje się również przypadki transmisji inwazyjnych szczepów GBS z mlekiem matki. Kliniczne objawy infekcji to głównie bakteriemia z towarzyszącym zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych (40-80%), posocznica (40-50%), zakażenie układu moczowego (7%), zakażenie dróg oddechowych (4%), zapalenie stawów i tkanki łącznej, zmiany skórne (4%), zapalenie spojówek, zapalenie ucha środkowego. Śmiertelność z powodu zakażenia późnego sięga 2-6%. U 50% dzieci występują późne powikłania neurologiczne takie jak upośledzenie rozwoju umysłowego, słuchu, wzroku [Szewczyk E. 2004, Romanik M. 2007, Kociszewska- Najman B. 2010, Sieroszewski P. 2012, Szwabowicz K. 2012, Dobrowolska-Redo A. 2013, Michalska M.M. 2013]. Za większość zakażeń późnych odpowiedzialny jest serotyp III [Murray P. 2011, Sobol L. 2012, Brzychczy-Włoch M. 2012].

Obecnie stwierdza się zakażenia *S. agalactiae* nie tylko u kobiet ciężarnych lecz także w innych grupach wiekowych. Dotyczy to przede wszystkim osób starszych, chorych na cukrzycę, chorych na nowotwory, czy po leczeniu operacyjnym. Najczęściej obserwuje się zakażenia tkanek miękkich, ran pooperacyjnych, owrzodzeń w przebiegu cukrzycy czy miażdżycy. Mogą one wywoływać również zapalenia kości i stawów. Rzadziej obserwuje się bakteriemię, zakażenia dróg moczowych, zapalenie otrzewnej, zakażenia w przebiegu leczenia chirurgicznego, czy też będące wynikiem znacznego obniżenia odporności np. w przebiegu niewydolności wątroby. Jeszcze rzadziej mogą być czynnikiem etiologicznym zapalenia wsierdzia, zapalenia opon mózgowo- rdzeniowych, czy zakażenia dróg oddechowych. Często zakażenie GBS występuje u osób zakażonych HIV [Gospodarek E. 2009, Murray P. 2011, Sobol L. 2012].

1.1.3.4. Diagnostyka nosicielstwa *Streptocooccus agalactiae*

Noworodki urodzone przez kobiety skolonizowane GBS są bardziej narażone na wystąpienie infekcji o wczesnym początku, niż noworodki matek nie będących nosicielkami GBS-, zwłaszcza jeśli liczebność bakterii S. agalactiae w przedsionku pochwy jest wysoka. Istnieje podwyższone ryzyko zakażenia GBS jeśli do organizmu noworodka trafia większa liczba komórek patogenu. Próby eradykacji nosicielstwa podczas ciąży są nieskuteczne. Dochodzi do częstych nawrotów kolonizacji drobnoustrojów. Dlatego też tego typu praktyka jest niewskazana [Sobol L. 2012].

Podstawowym narzędziem zapobiegawczym w walce z zakażeniami *S. agalactiae* u noworodków jest identyfikacja nosicielek GBS wśród kobiet ciężarnych i zastosowanie u nich antybiotykowej profilaktyki okołoporodowej. Obowiązujące w tym zakresie wytyczne zostały opracowane w latach 90 ubiegłego stulecia przez Centra Kontroli i Zapobiegania Chorobom (CDC, Centers for Disease Control and Prevention), a następnie wiele razy aktualizowane [Murray P. 2011, Sobol L. 2012].

Stan kolonizacji GBS może się zmieniać w takcie ciąży i w związku z tym zaleca się przeprowadzenie badań przesiewowych u każdej kobiety ciężarnej w 35-37 tygodniu ciąży. W tym celu należy pobrać wymazy z dolnej części pochwy (przedsionka pochwy), a następnie z odbytnicy (po pokonaniu oporu zwieracza odbytu), wykorzystując dwie jałowe wymazówki. Nie jest konieczne stosowanie jednorazowego wziernika. Można użyć jednej wymazówki, przestrzegając kolejność wymazu. Jeśli nie ma możliwości bezpośredniego posiewu pobranego materiału, należy umieścić wymazówkę/ wymazówki w podłożu transportowym typu Amiesa lub Stuart. GBS ma zdolność przeżywania w podłożu transportowym przez wiele dni [Verani J. 2010, Sobol L. 2012, Brzychcy- Włoch M. 2012, Michalska M. M. 2013].

1.1.3.5. Wykonanie posiewu w kierunku GBS

Materiał badany należy przenieść do wybiórczego podłoża bulionowego Todda i Hewitta z dodatkiem gentamycyny (8 μg/ml) i kwasu nalidyksowego (15 μg/ml), a następnie inkubować przez 18-24 godzin w temperaturze 35–37°C w atmosferze powietrza lub w atmosferze wzbogaconej 5% CO_2. Po inkubacji, niewielką ilość hodowli na płynnym podłożu wybiórczym należy przenieść na

wzbogacone podłoże stałe (np. Columbia Blood Agar lub Blood Agar Base) z 5% odwłóknioną krwią baranią i inkubować do 48 godzin, z zachowaniem opisanych wcześniej warunków inkubacji.

Wstępna identyfikacja opiera się na ocenie cech morfologicznych GBS (zwykle występuje hemoliza typu β), morfologii komórkowej (stwierdzenie obecności ziarniaków Gram- dodatnich w preparacie mikroskopowym) oraz na wynikach podstawowych testów biochemicznych (ujemny test na katalazę, dodatni test CAMP, hydroliza hipuranu). W trakcie identyfikacji szczepów można korzystać z komercyjnych testów biochemicznych [Szewczyk E. M. 2007, Verani J. 2010].

Potwierdzenie przynależności wyizolowanych paciorkowców do grupy serologicznej B przeprowadza się za pomocą lateksowego testu aglutynacyjnego do oznaczania grup serologicznych paciorkowców, stosując metodykę wskazaną przez producenta.

W wątpliwych przypadkach należy przeprowadzić identyfikację gatunkową wyizolowanego szczepu za pomocą komercyjnych, biochemicznych zestawów identyfikacyjnych dla paciorkowców lub metody łańcuchowej reakcji polimerazy z użyciem gatunkowo specyficznych starterów Sag59 i Sag190. Wśród pozostałych technik biologii molekularnej, które wykorzystuje się w badaniach nad szczepami GBS wymienia się fluorescencyjną hybrydyzację in situ, metodę losowej amplifikacji polimorficznych fragmentów DNA, technikę multipleks-PCR oraz metodę elektroforezy w zmiennym polu elektrycznym. Jeśli laboratorium nie dysponuje możliwościami wykonania takich badań, powinno przekazać szczep do jednostki mogącej je przeprowadzić [Verani J. 2010, Murray P. 2011]

1.1.3.6. Antybiotykoterapia okołoporodowa

Zaleca się wdrożyć okołoporodową profilaktykę antybiotykową przed porodem u kobiet ciężarnych będących nosicielkami GBS w pochwie i/lub odbycie; w grupie pacjentek u których w ciąży zdiagnozowano bakteriurię o etiologii GBS lub jeśli doszło do okołoporodowego zakażenia bakteriami S. *agalactiae* u dzieci z wcześniejszych ciąż pacjentki.

Wskazaniem do zastosowania profilaktyki około porodowej są również: poród przed 35-37 tygodniem ciąży (gdy jeszcze nie wykonano posiewu w kierunku GBS), zgłoszenie się rodzącej ciężarnej do szpitala po ponad 18 godzinach od

przerwania błon płodowych oraz w przypadku wystąpienia gorączki śródporodowej (≥38 ^{0}C). Rekomendowanymi antybiotykami β-laktamowymi są penicylina G oraz ampicylina, podawane dożylnie. W przypadku alergii na penicyliny, zaleca się dożylną terapię z zastosowaniem cefazoliny, w dalszej kolejności rozpatruje się podanie klindamycyny, erytromycyny lub wankomycyny. Aby profilaktyka była pełna i skuteczna, od podania antybiotyku do porodu musi minąć co najmniej 4 godziny [Sobol L. 2012].

Noworodki urodzone przez kobiety, u których wdrożono okołoporodową profilaktykę antybiotykową przeciw *S. agalactiae*, należy poddać co najmniej 24-godzinnej obserwacji, a w przypadku wystąpienia objawów infekcji należy przeprowadzić diagnostykę mikrobiologiczną w kierunku GBS oraz zastosować antybiotykoterapię [Bigos M. 2012, Szymusik I. 2014, Michalska M. M. 2013]. Wprowadzenie profilaktyki okołoporodowej zakażeń GBS zmniejsza istotnie zachorowania u noworodków, jednak może wpłynąć na zachwianie równowagi flory fizjologicznej dziecka [Sobol L. 1012].

1.1.3.7. Immunoprofilaktyka zakażeń GBS

Nadal brak jest szczepionki przeciw zakażeniom o etiologii GBS. Problemem w opracowaniu skutecznej szczepionki przeciw zakażeniom GBS jest występowanie ze zróżnicowaną częstotliwością kilku stereotypów bakterii, które mogą reagować ze sobą krzyżowo. Dodatkowo opracowanie szczepionki utrudnia fakt obecności szczepów, które nie poddają się serotypowaniu.

Wśród potencjalnych składników konstruowanej szczepionki wymienia się wielocukry otoczkowe peptydazę C55a, komponentę β białka C oraz białka LmbP, Sip, LrrG. Badania nad przydatnością podjednostki α i β białka C oraz Rib do opracowania szczepionki przeciwpaciorkowcowej potwierdzają immunogenność wymienionych antygenów *S. agalalactiae*. Nie występują jednak wśród szczepów GBS na tyle powszechnie, by mogły zapewnić odpowiednio wysoką skuteczność.
Klasyczne podejście do stworzenia szczepionki przeciw zakażeniom GBS nie przynosiło dotychczas oczekiwanych efektów, dlatego tez próbuje się wykorzystać także narzędzia z zakresu genomiki i proteomiki [Murray P. 2010, Niemiec T. 2011, Michalska M.M. 2013, Szymusik I. 2014].

1.2. Cytokiny (A.B.)

1.2.1. Interleukina-6

Interleukina-6 (IL-6) jest glikoproteiną zbudowaną z 184 aminokwasów o masie cząsteczkowej 26 kDa. Dzięki wielokierunkowemu działaniu można ją uważać za jeden z głównych czynników regulujących mechanizmy obronne organizmu. Il-6 bierze udział w odpowiedzi immunologicznej, krwiotworzeniu i reakcji zapalnej. IL-6 ma identyczną strukturę jak czynnik stymulujący hepatocyty, który indukuje syntezę białek ostrej fazy [Kishimoto T. 2006, Łukaszewicz M. 2007]. Gen kodujący dla IL-6 jest zlokalizowany na chromosomie 7p15-p21 i ma podobną budowę do genu czynnika stymulującego kolonie granulocytarne, co tłumaczy podobieństwo funkcjonalne obu tych cytokin [Łukaszewicz M. 2007].

Interleukina- 6 działa na komórki docelowe za pośrednictwem receptora klasy I, będącego typem receptorów dla hematopoetyn, należącym do podklasy gp130, obecnego na komórkach szeregu limfoidalnego i nielimfoidalnego. Składa się on z różnych łańcuchów α (80 kDa) i identycznych łańcuchów β (130kDa) [Kishimoto T. 2006, Łukaszewicz M. 2007, Gołąb J. 2013]. Poznano dwa rodzaje receptorów dla tej cytokiny: IL-6R o małym powinowactwie oraz rozpuszczalną postać receptora sIL-6R (sIL-6R- soluble interleukina- 6 receptor). IL-6R po związaniu z IL-6 tworzy kompleks z gp130 i zapoczątkowuje aktywację kinazy tyrozynowej natomiast sIl-6R wiąże się z IL-6, a następnie z obecnym w błonie komórkowej łańcuchem β– gp130, co prowadzi do transdukcji sygnału i przeniesienia go do wnętrza komórki [Łukaszewicz M. 2007, Kishimoto T. 2006].

Interleukina-6 jest wytwarzana głównie przez monocyty i makrofagi oraz przez fibroblasty, komórki śródbłonka, limfoctyt T i B, keratynocyty, chondrocyty oraz komórki owodni. Czynnikiem indukującym wydzielanie IL-6 jest interleukina-1 i interferony, czynnik martwicy nowotworów, lipopolisacharydy wirusy DNA i RNA [Tchórzewski H. 1998, Łukaszewicz M. 2007, Gołąb J. 2013]. IL-6 natomiast hamuje zwrotnie wytwarzanie TNF i IL-1. Indukuje ona także uwalnianie antagonisty receptora dla IL-1 (IL-1RA) [Gołąb J. 2013].

Interleukina- 6 jest cytokiną wywierającą różnorodne efekty biologiczne. Działa na limfocyty B stymulując je do wytwarzania immunoglobulin, wpływa także na limfocyty T pobudzając je do produkcji interleukiny- 2 i syntezy jej receptora.

Wraz z IL-1 aktywuje także limfocyty T rozpoznające antygeny oraz stymuluje powstawanie i różnicowanie limfocytów cytotoksycznych Tc w obecności IL-2 [Kishimoto T. 2006, Łukaszewicz M. 2007, Gołąb J. 2013].

IL-6 łącznie z interleukiną- 3 pobudza proliferację i różnicowanie pluripotencjalnych komórek macierzystych i komórek progenitorowych wielu szeregów, przede wszystkim megakariocytarnego oraz erytroidalnego i granulocytarno-makrofagowego [Tchórzewski H. 1998, Gołąb J. 2013]. Zaobserwowano także wpływ IL- 6 na wzrost keratynocytów, różnicowanie się komórek nerwowych oraz regulację wydzielania naczyniowego czynnika wzrostu [Łukaszewicz M. 2007, Gołąb J. 2013].

W stanach zapalnych stężenie IL-6 w surowicy może wzrosnąć nawet 100-krotnie [Łukaszewicz M. 2007]. Wydaje się, że jest ona wczesnym, czułym, ale niespecyficzny wskaźnikiem reakcji zapalnych toczących się w organizmie [Tchórzewski H.1998, Kishimoto T. 2006, Łukaszewicz M. 2007]. Cytokina ta jest stymulatorem syntezy białek ostrej fazy w wątrobie, zwłaszcza białka CRP, uczestniczy również w regulacji stężenia transferyny, ceruloplazminy i haptoglbiny, wpływając przez to na transport jonów żelaza i miedzi w organizmie. Zaobserwowano pirogenne działanie IL-6, która łącznie z IL-1, TNF i INF może podwyższać temperaturę ciała, stymulując produkcję prostaglandyn. Uczestniczy ona również w syntezie glikokortykosteroidów poprzez wydzielanie kortykotropiny i hormonu adenokortykotropowego [Łukaszewicz M. 2007, Gołąb J. 2013]. Stężenie IL- 6 zwiększa się w przypadku ciężkich oparzeń, posocznicy i chorób tkanki łącznej, może być także wykładnikiem stopienia i rozległości zmian [Łukaszewicz M. 2007]. Wskazuje się na możliwość zastosowania IL-6 jako markera przydatnego w diagnostyce zakażeń bakteryjnych i posocznicy [Łukaszewicz M. 2007].

1.2.2. Interleunina-17

Interleukina 17 (IL-17) jest rodziną ściśle powiązanych 6 cytokin o zróżnicowanej homologii i funkcji: IL-17 (zwanej również IL-17A), IL-17-B, IL-17-C, IL-17-D, IL-17-E (znaną jako IL-25) oraz IL-17-F [Wróbel T. 2005, Hus I. 2010, Jutel M. 2012, Reiko M. 2012, JIn W. 2013]. Najlepiej poznano funkcje biologiczną i regulacyjną IL-17A i IL-17F. Pośredniczą one w reakcjach prozapalnych. IL-25 działa przeciw zakażeniom pasożytniczym i robaczycą oraz

bierze udział w odpowiedzi alergicznej. IL-17-B, IL-17-C, IL-17-D indukują produkcję cytokin prozapalnych, ale ich funkcja nie została jeszcze w pełni poznana. IL-17-C uczestniczy w odporności śluzówki i reakcjach autoimmunologicznych [Wei J. 2013].

Gen IL-17 zidentyfikowano na chromosomie 2 (2q31) oraz 6 (6p12). Jest glikoproteiną zawierającą 155 aminokwasów, o masie cząsteczkowej ok 20 kDa [Wróbel T. 2005]. Działanie IL-17 odbywa się za pomocą receptorów powierzchniowych komórek docelowych.

Receptor IL-17 jest transbłonową proteiną typu I, obecną na wszystkich rodzajach komórek, ze szczególną ekspresją na komórkach śledziony i nerek [Wróbel T. 2005]. Zdefiniowano kilka typów tego receptora. Jako jeden z pierwszy opisany zastał receptor IL-17-RA, w późniejszym czasie opasano receptory IL-17-RB, IL-17-RC, IL-17-RD, IL-17-RE [Wróbel T. 2005, Wei J. 2013].

Głównym źródłem wydzielania IL-17 są limfocyty Th-17 wywodzące się z linii limfocytów T $CD4^{+}$). IL-17 wytwarzana jest również przez monocyty, neutrofile, komórki NK, limfocyty T, $CD8^{+}$ oraz limfoctyty Tγδ [Wróbel T. 2005, Hus I. 2010, Szulc-Dąbrowska L. 2015]. U osób chorujących na stwardnienie rozsiane wydzielana jest przez astrocyty i oligodendrocyty. W chorobach pasożytniczych limfocyty B mają zdolność do wytwarzania IL-17 [Onishi R. 2010, Wei J. 2013, Szulc-Dąbrowska L. 2015].

IL-17 stymuluje ekspresję innych cytokin za pośrednictwem jądrowego czynnika κB. Komórki jednojądrzaste krwi obwodowej mają zdolność nasilania wydzielania interleukiny-17 za pośrednictwem IL-2 i Il-15 [Wróbel T. 2005].

Interleukina 17 odgrywa bardzo ważną rolę w przeciwbakteryjnej obronie organizmu (głównie przed wpływem drobnoustrojów zewnątrzkomórkowych) oraz przeciwgrzybiczą [Wróbel T. 2005, Piekarski R. 2011, Szulc-Dąbrowska L. 2015] Wiele doniesień w literaturze potwierdza korelację pomiędzy zakażeniem *Helicobacter pylori*, a wzrostem wydzielania IL-17. Eradykacja *H. pylori* wiąże się ze znaczącym spadkiem stężenia IL-17 w analizowanych próbkach. Wykazano, że IL-17 odgrywa istotną rolę w patogenezie chorób autoimminologicznych, zapalnych i alergicznych [Wróbel T. 2005, Reiko M. 2010, Jutel M. 2012, Szulc-Dąbrowska L. 2015]. Wzrost stężenia cytokiny obserwuje się w surowicy osób chorujących na reumatoidalne zapalenie stawów (rzs), łuszczycy, stwardnieniu rozsianym, toczniu trzewnym układowym oraz astmie oskrzelowej. Podwyższony poziom IL-17

obserwowany jest również w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL) oraz w plwocinie u osób chorujących na astmę oskrzelową. Podwyższone stężenie IL-17 wykazano także w płynie stawowym u chorych na rzs [Reiko M. 2010]. Prace przeprowadzone na modelach zwierzęcych i ludzkich wskazują także na związek zwiększonego stężenia interleukiny w surowicy pacjentów z cukrzycą typu 1 [Piekarski R. 2011].

IL-17 jako cytokina o plejotropowym działaniu może działać stymulująco lub hamująco na proces nowotworowy. Mechanizmem istotnie indukującym rozwój nowotworu jest jej działanie prozapalne i proangiogenne, a także nasilanie działania innych cytokin działających stymulująco na angiogenezę. Działanie hamujące rozwój nowotworu jest wynikiem nasilenia wydzielania IL-6, której właściwości przeciwnowotworowe wynikają ze zdolności aktywacji cytolitycznych limfocytów T, swoistych dla nowotworu [Wróbel T. 2005]. Wpływ IL-17 na proces nowotworzenia może zależeć od immunogenności i typu komórek nowotworowych. IL-17 jest związana z reakcjami odrzucania przeszczepu narządów. Prawdopodobnie cytokina pobudza nabłonek nerek do wydzielania mediatorów stanu zapalnego. Obecność IL-17 jest wykazywana w bioptatach przeszczepionej tkanki pacjentów z subkliniczną postacią reakcji odrzucenia, oraz próbkach ich moczu. Il-17 uczestniczy również w regulacji granulopoezy za pośrednictwem IL-6, GM-CSF (granulocyte colony stimulating factor) i czynnika stymulującego wzrost kolonii granulopoezy [Wróbel T. 2005, Jutel M. 2012].

Wielokierunkowe działanie IL-17 pozwala przypuszczać, iż pełni nadrzędną rolę w sieci cytokinowej regulującej reakcje odpornościowe, zapalne i angiogenezę [Wróbel T. 2005]. Wiele doniesień naukowych wskazuje na rolę IL-17 w patomechanizmie reakcji zapalnej o różnym podłożu lecz konieczne są dalsze badania, które pozwolą zrozumieć w pełni mechanizm reakcji nadwrażliwości, a tym samym otworzyć drogę do nowych strategii diagnostycznych i terapeutycznych.

1.2.3. Czynnik martwicy nowotworów TNF-α

Czynnik martwicy nowotworów (TNF- tumor necrosis factor, TNF-α kachektyna) należy do dużej nadrodziny białek regulujących proliferację aktywację i różnicowanie wielu komórek. TNF-α jest jedną z głównych cytokin odpowiedzi zapalnej i immunologicznej.

Gen kodujący TNF- α zlokalizowany jest na chromosomie 6 w segmencie 6p23-6q12, pomiędzy HLA-B a HLA-DR [Tchórzewski H. 1998, Badowska-Kozakiewicz A.M. 2013]. Region promotorowy genu dla TNF-α obejmuje sekwencje docelowe dla wielu czynników transkrypcyjnych, z których najważniejsze to NF-κB (wzmacniacz z aktywowanych limfocytów B nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) oraz AP-1 (kompleks białkowy zbudowany z dimerów białek z rodzin Fos, Jun, ATF i Maf, który działa jako czynnik transkrypcyjny, activator protein 1). TNF-α występuje w dwóch formach: pierwsza jako białko błonowe typu II o masie cząsteczkowej 26 kDa oraz w formie wydzielniczej, która powstaje po odłączeniu peptydu od formy błonowej. Pierwszorzędowa struktura dojrzałego TNF-α składa się z 157 aminokwasów, w obu formach TNF-α jest homotrimerem [Lubecka-Macura A. 2010, Puszkarska A. 2010, Gołąb J. 2013].

W komórkowym działaniu TNF–α uczestniczą dwa typy receptorów TNFR1 i TNFR2. Różnią się one budową, masą, stopniem glikozylacji oraz powinowactwem do ligandów, a także charakterem przekazywanego sygnału. Receptory dla TNF-α występują głównie na jądrzastych komórkach organizmu, nie obserwuje się korelacji miedzy liczbą receptorów obecnych na komórce, a odpowiedzią na TNF-α [Olszanecka-Glinianowicz M. 2005, Puszkarska A. 2010, Gołąb J. 2013, Badowska-Kozakiewicz A.M. 2013].

W ludzkiej krwi występują również rozpuszczalne zewnątrzkomórkowe fragmenty receptorów dla TNF, które w dużych stężeniach mogą działać jak inhibitor TNF-α [Olszanecka-Glinianowicz M. 2005, Lubecka-Macura A. 2010].

TNF-α jest wytwarzany głównie przez monocyty i makrofagi [Puszkarska A. 2010, Lubecka-Macura A. 2010, Badowska-Kozakiewicz A.M. 2013]. Najsilniejszym bodźcem do wytwarzania TNF– α jest lipopolisacharyd (LPS) ścian bakteryjnych. Lipopolisacharydy działają na makrofagi wzmacniając ekspresję genu dla TNF-α, poziom mRNA dla TNF-α wzrasta wówczas około 10- krotnie, natomiast wydzielanie białka aż 10000 krotnie. Czynnikiem wzmagającym działanie TNF-α jest także INF-γ, fosfolipaza A2, czynnik aktywujący płytki [Gołąb J. 2013, Badowska-Kozakiewicz A.M. 2013].

W przebiegu zakażeń bakteryjnych pod wpływem LPS dochodzi do gwałtownego wydzielania TNF-α, co może prowadzić do wstrząsu septycznego oraz niewydolności wielu narządów i śmierci. W chorobach przewlekłych długotrwałe

wydzielanie TNF-α może prowadzić do kacheksji [Puszkarska A. 2010, Badowska-Kozakiewicz A.M. 2013].

Patogenną rolę TNF-α wykazano również w schorzeniach autoimmunizacyjnych, odrzucaniu przeszczepów, reakcji przeszczep przeciwko gospodarzowi oraz w przebiegu AIDS [Lubecka-Macura A. 2010, Gołąb J. 2013]. Obserwuje się także wpływ TNF-α na przemianę materii, może także nasilać powstawanie insulinoooporności komórek w przebiegu cukrzycy [Olszanecka-Glinianowicz M. 2005, Badowska-Kozakiewicz A.M. 2013]. Powstawanie zmian miażdżycowych, niewydolność krążenia, zapalenie trzustki i wielu różnych nieprawidłowości to skutek negatywnego oddziaływania TNF-α. W mniejszych ilościach TNF-α wydzielany jest również przez keratynocyty, fiboblasty, neurofile, komórki tuczne oraz limfocyty T i B [Gołąb J. 2013, Badowska-Kozakiewicz A.M. 2013]. Inhibitorami wydzielania TNF-α są glikokortykosteroidy, cyklosporyna A, TGF-β, IL-4, IL-10, IL-13 i prostaglandyny, wielonienasycone kwasy tłuszczowe [Lubecka-Macura A. 2010].

Wewnątrzkomórkowa część TNFR1 zawiera około 70-aminokwasową domenę określaną jako domena śmierci. Domena ta jest odpowiedzialna za aktywację dwóch niezależnych przeciwstawnych szlaków w komórce. Jeden z nich prowadzi do apoptozy, a drugi do aktywacji czynnika jądrowego (NF-κB, necrosis factor kB), indukcji ekspresji kilkudziesięciu genów i przeżycia komórki. Z domeną śmierci wiąże się ok 20 białek cytopazmatyczych uczestniczących w przekazywaniu sygnałów [Lubecka-Macura A. 2010, Puszkarska A. 2010, Gołąb J. 2013].

Zwiększone stężenie rozpuszczalnych receptorów dla TNF-α obserwuje się u pacjentów z choroba nowotworową, w przebiegu niektórych chorób autoimmunizacyjnych, w reakcji ostrego odrzucania. Białka te wiążąc TNF- α mogą w małych stężeniach wzmagać jego działanie, w dużych stężeniach natomiast hamują działanie TNF-α uniemożliwiając wiązanie się z receptorami błonowymi [Gołąb J. 2013].

Mutacje domen bogatych w cysteiny dla receptorów TNF-α, które prowadzą do zmniejszenia wydzielania rozpuszczalnych receptorów są przyczyną nasilonego działania TNF-α, co może powodować wystąpienie wrodzonych chorób znanych jako okresowe zespoły gorączkowe związane z receptorami dla TNF (TNF receptor associated periodic syndroms- TRAPS).

TNF-α jest jedną z głównych cytokin biorących udział w reakcji zapalnej i immunologicznej. Efekt jej działania zależy od ilości i intensywności wydzielania TNF-α. Wydzielanie dużych ilości TNF- α prowadzi do wystąpienia objawów wstrząsu, wydzielania hormonów katabolicznych, zespołu przesiąkania włośniczkowego, ostrej niewydolności oddechowej, martwicy w obrębie przewodu pokarmowego, krwotoku w obrębie nadnerczy, rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego i wysokiej gorączki [Badowska-Kozakiewicz A.M. 2010, Gołąb J. 2013]. Przewlekłe wydzielanie niewielkich ilości TNF-α powoduje utratę masy ciała, jadłowstręt, katabolizm białek i lipidów oraz powiększenie śledziony. Cytokina ta pełni także istotną funkcję metaboliczną. Hamuje aktywność lipazy lipoproteinowej, karboksylazy acetylo-CoA w tkance tłuszczowej i zwiększa stężenie leptyny, co może prowadzić do powstania insulinooporności [Puszkarska A. 2010, Gołąb J. 2013]. Działanie TNF-α może być przyczyną maiżdżycopodobnych tetnic [Badowska-Kozakiewicz A.M. 2010, Gołąb J. 2013].

TNF-α współdziałając z innymi cytokinami może wzmagać proliferację i różnicowanie limfocytów, proliferację i cytotoksyczność komórek NK, a także powstawanie komórek LAC i limfocytów Tc [Lubecka-Macura A. 2010].

TNF-α oddziałuje na monocyty w sposób endo-, para- i autokrynnie. Działa chemotaktycznie na monocyty i neutrofile oraz aktywuje je podobnie jak makrofagi. Wzmaga cytotoksyczność monocytów i makrofagów. Zwiększa właściwości fagocytarne neutrofili oraz przyspiesza ich wydzielanie ze szpiku. TNF-α wykazuje także działanie przeciwwirusowe, indukując wewnątrzkomórkowe procesy związane z działaniem INF-γ, a także przeciwpasożytnicze poprzez aktywację makrofagów [Gołąb J. 2013, Puszkarska A. 2010, Lubecka-Macura A. 2010].

Działanie TNF-α na układ odpornościowy przejawia się także w sposób pośredni, indukuje uwalnianie wielu cytokin np. IFN-γ z limfocytów, a z makrofagów: IL-1, IL-6, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, PDGF, NGF, EGF, PAF, IFN- β oraz prostaglandyn i leukotrienów. Ważną funkcją TNF-α jest indukowanie ekspresji na komórkach cząsteczek MCH klasy II.

TNF-α wykazuje właściwości pro- i przeciwnowotworowe. Działanie pronowotworowe polega na pobudzaniu nowotworzenia poprzez stymulację proliferacji, transformacji komórek i wydłużenia ich przeżycia oraz angiogenezę, bierze udział w tworzeniu przerzutów [Lubecka-Macura A. 2010]. Właściwości przeciwnowotworowe wynikają z bezpośredniego oddziaływania na komórki

nowotworowe, indukcji zmian w naczyniach krwionośnych nowotworów (hamuje angiogenezę), pobudzaniu przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej oraz aktywacji wykrzepiania w obrębie naczyń guza [Gołąb J. 2013, Puszkarska A. 2013].

TNF-α hamuje działanie trombomoduliny i pobudza ekspresję czynnika tkankowego. Trombomodulina oddziaływując na aktywne białko C działa jak naturalny antykoagulant. TNF-α wykazuje wpływ na fibrynolizę obniżając ekspresję tkankowego aktywatora plazminogenu i wzmaga działanie jego inhibitorów. Zwiększa ekspresję cząsteczek adhezji międzykomórkowej (ICAM-1, intercellular cell adhe- sion molecule 1), cząsteczek adhezji śródbłonka naczyniowego (VCAM-1, vascular cell adhesion molecule-1) oraz selektyny [Puszkarska A. 2010, Badowska-Kozakiewicz A.M. 2013, Gołąb J. 2013].

2. Cel pracy (A.B., M.M.)

W okresie ciąży pod wpływem zmian hormonalnych, immunologicznych i anatomicznych dochodzi do częstych zmian składu mikroflory dróg rodnych kobiety. Zmiany te mogą stać się przyczyną licznych powikłań ginekologiczno-położniczych. Wśród drobnoustrojów, które powszechnie bytują w przewodzie pokarmowym i układzie moczowo- płciowym kobiet wymienia się paciorkowce grupy B (*Streptococcus agalactiae,* GBS). Kolonizacja przez *Streptococcus agalactiae* dróg rodnych stanowi istotny czynnik ryzyka okołoporodowego zakażenia noworodków, w tym przede wszystkim sepsy i zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych. Zakażenie to może przyjmować zarówno postać wczesną i późną, często też bywa zbyt późno rozpoznane.

Współcześnie antybiotykoterapii poddaje się okołoporodowo pacjentki będące nosicielkami GBS, jak i te które takiego wyniku badania nie posiadają lub też jest nieaktualny (powyżej 5 tygodni). Powoduje to narażenie znacznej populacji ciężarnych i ich płodów na nie potrzebną antybiotykoterapię.

Celem pracy była próba wytypowania wykładników stanu zapalnego i/lub stresu oksydacyjnego, które pozwoliłyby na uzupełniającą wobec mikrobiologii biochemiczną identyfikację pacjentek ciężarnych z nieprawidłową czystością pochwy, szczególnie zagrożonych nosicielstwem *Streptococcus agalactiae.*

Cel pracy realizowano w następujących etapach:

- Ocena czystości mikrobiologicznej pochwy kobiet w 35-37 tygodniu ciąży
- Oznaczenie stężenia wybranych parametrów procesu zapalnego i stresu oksydacyjnego
- Określenie zależności pomiędzy badanymi markerami procesu zapalnego i stresu oksydacyjnego w badanych grupach, a wynikami badań klinicznych i mikrobiologicznych.

3. Podział zadań badawczych rozprawy doktorskiej

3.1. lek. Mariusz MACHCZYŃSKI (M.M.)

1. Ocena kliniczna pacjentek, opieka nad kobietą w ciąży zgodnie ze szczegółowym kalendarzem badań, monitorowanie dobrostanu badanych kobiet po odbytych porodach.
2. Pobranie materiału i wykonanie badań bakteriologicznych: wymaz z pochwy i odbytnicy (materiał umieszczono na podłożu transportowym), wykonanie preparatów bezpośrednich w celu oceny stopnia czystości, ocena bakteryjnej waginozy testem aminowym z 10% KOH, oznaczenie pH pochwy, pobranie krwi żylnej do badań laboratoryjnych.
3. Opracowanie statystyczne wyników badań mikrobiologicznych i klinicznych.

3.2. mgr Anna BLACHA (A.B.)

1. Oznaczenie biochemicznych markerów stanu zapalnego (CRP, IL-6, IL-17, TNF-α).
2. Oznaczenie biochemicznych markerów stresu oksydacyjnego (FRAP, CP_{OA}, TBARS, grupy-SH).
3. Oznaczenie parametrów hematologicznych.
4. Analiza statystyczna wyników.

3.3. Zadania badawcze wspólne mgr Anny BLACHA i lek. Mariusza MACHCZYŃSKIEGO

1. Oszacowanie zależności pomiędzy wybranymi wykładnikami procesu zapalnego i stresu oksydacyjnego oraz wynikami hematologicznymi u kobiet ciężarnych GBS+ i GBS-.
2. Dyskusja i redakcja rozprawy doktorskiej.

4. Materiał i metody (A.B., M.M.)

4.1. Charakterystyka grupy badanej

Badania przeprowadzono zgodnie z zasadami zawartymi w Deklaracji Helsińskiej i uzyskały one akceptację Terenowej Komisji Etyki Badań Naukowych Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, uchwała nr 320/11 (załącznik nr1). Wszystkie badane pacjentki zostały poinformowane o celu i zakresie przeprowadzonych badań oraz wyraziły na nie świadomą, pisemną zgodę (załącznik nr 2 i nr 3).

Materiał do badań pochodził od kobiet w 35-37 tygodniu ciąży, pacjentek Przychodni Położniczo- Ginekologicznej w Poznaniu przy ul. Niegolewskich 29. W trakcie rutynowych badań kontrolnych (wynikających z kalendarza badań w ciąży) u kobiet ciężarnych wykonywano wymaz z pochwy i z odbytu oraz pobrano krew ze zgięcia łokciowego (około 4 ml). Zakwalifikowanie kobiet do odpowiednich grup następowało po zebraniu danych klinicznych oraz spełnienia kryteriów włączenia

i wyłączenia do grup badanych.

Kryteria włączenia do grupy badanej:

1. Przynależność do rasy kaukaskiej, narodowość polska, zamieszkanie na terenie województwa wielkopolskiego.
2. Brak infekcji ogólnoustrojowej i klinicznych wykładników porodu przedwczesnego.
3. Brak wad rozwojowych płodu.
4. Ciąża w 35-37 tygodniu.

Kryteriami wyłączenia pacjentek z grup badanych były wady macicy, obecność wad płodu, wielowodzie i małowodzie, tocząca się infekcja ogólnoustrojowa, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca.

Wiek ciążowy w grupie badanej został ustalony na podstawie daty ostatniej miesiączki, oceny regularności cykli miesiączkowych. Dodatkowo wiek ciążowy weryfikowano na podstawie badania ultrasonograficznego w pierwszym trymestrze ciąży. Na podstawie zabranych informacji o pacjentkach (dokumentacji medycznej oraz ankiety-załącznik nr 4) analizowane były również:

1. Dane kliniczne matki (wiek, tydzień ciąży, rodność)
2. Dane demograficzne (miejsce zamieszkania, wykształcenie)

3. Inne (przyjmowanie kwasu foliowego i suplementów diety, palenie tytoniu)
4. Dane mikrobiologiczne (pH wydzieliny z pochwy, test z 10 % KOH, nosicielstwo GBS w 35-37 tygodniu ciąży
5. Dane biochemiczne (obecność wykładników procesu zapalnego i stresu oksydacyjnego

Do badań zakwalifikowano grupę 118 kobiet. Na podstawie uzyskanych wyników badań mikrobiologicznych badaną populację podzielono na grupy według następującego schematu:

I/ Stopień czystości pochwy klasyfikacja wg Pawlaczyka

- Prawidłowy stopień czystości pochwy
- Pośredni stopień czystości pochwy
- Nieprawidłowy stopień czystości pochwy

II/ na podstawie nosicielstwa *Streptococcus agalactiae*

- GBS- kobiety nie będące nosicielkami *S. agalactiae*
- GBS+ kobiety będące nosicielkami *S. agalactiae*

Tab. 4.1. Charakterystyka opisowa grupy badanej kobiet w 35-37 tygodniu ciąży- podział na grupy zgodnie z klasyfikacją wg Pawlaczyka

Analizowane zmienne	**Prawidłowy n=±68**	**Pośredni n=11**	**Nieprawidłowy n=39**
wiek (lata)			
średnia (±SD)	28 (±5)	29 (±6)	29 (±5)
mediana (I/III kwartyl)	28 (25/31)	29 (26/32)	29 (24/34)
minimum/ maksimum	18/41	18/39	19/36
Tydzień wykonania badania			
Średnia (±SD)	36 (±1)	36 (±1)	35 (±1)
mediana (I/III kwartyl)	36 (35/37)	36 (35/37)	35 (35/36)
minimum/ maksimum	35/37	35/37	34/37
Pierwsza miesiączka (lata)			
Średnia (±SD)	14 (±1)	13 (±1)	13 (±1)
mediana (I/III kwartyl)	14 (13/15)	13 (12/14)	14 (13/14)
minimum/ maksimum	10/17	11/15	10/16

Tab. 4.2. Porównanie grupy badanej kobiet w 35-37 tygodniu ciąży- podział na grupy badane zgodnie z klasyfikacją wg Pawlaczyka.

Analizowane zmienne	**Stopnie czystości pochwy- klasyfikacja wg Pawlaczyka**		
	Prawidłowy **n=68**	**Pośredni** **n=11**	**Nieprawidłowy** **n=39**
wykształcenie			
podstawowe	7 (10,29%)	2 (18,18%)	2 (5,13%)
zawodowe	6 (8,82%)	1 (9,09%)	5 (12,82%)
średnie	20 (29,41%)	2 (18,18%)	7 (17,95%)
niepełne wyższe	6 (8,82%)	-	5 (12,82%)
wyższe	29 (42,65%)	6 (54,55%)	20 (51,28%)
Miejsce zamieszkania			
wieś	18 (26,47%)	1 (9,09%)	7 (17,95%)
miasto poniżej 50 tys.	10 (14,71%)	4 (36,36%)	5 (12,82%)
miasto od 50 tys. do 100 tys.	4 (5,88%)	1 (9,09%)	3 (7,69 %)
miasto od 100 tys. do 300tys.	3 (4,41%)	1 (9,09%)	4 (10,26 %)
miasto od 300 tys. do 600 tys.	7 (10,29%)	2 (18,18%)	7 (17,95 %)
miasto powyżej 600tys.	26 (38,24%)	2 (18,18%)	13 (33,33%)
Antykoncepcja przed zajściem w ciąże			
naturalna	8 (11,76%)	2 (18,18%)	4 (10,26%)
pigułki hormonalne	15 (22,06%)	4 (36,36%)	9 (23,08%)
inne (jakie?)…….	8 (11,76%)	3 (27,27%)	2 (5,13%)
nie stosowałam	37(54,41%)	2 (18,18%)	24 (61,53%)
Planowanie ciąży			
tak	55 (80,88%)	7 (63,64%)	22 (56,41%)
nie	13 (19,12%)	4 (36,36%)	17 (43,59%)
Przebieg ciąży			
bezproblemowo	50 (73,53%)	7 (63,64%)	20 (51,28%)
z drobnymi problemami	17 (25,00%)	4 (36,36%)	18 (46,15%)
z dużymi problemami	1 (1,47%)	-	1 (2.57%)

Rodność			
Pierwiastka	28 (41,18%)	1 (9,09%)	16 (41,03%)
Druga ciąża	28 (41,18%)	5 (45,45%)	17 (43,59%)
Trzecia ciąża	8 (11,76 %)	3 (27,27 %)	4 (10,26%)
Czwarta ciąża	4 (5,88%)	1 (9,09%)	1 (2,56%)
Piąta ciąża		1 (9,09%)	1 (2,56%)
Przyjmowanie kwasu foliowego			
przed ciążą	9 (13,24%)	2 (18,18%)	6 (15,38 %)
po rozpoznaniu, że jestem w ciąży	35 (51,47%)	4 (36,36%)	22 (56,41%)
odpowiedzi przed i w trakcie trwania ciąży	14 (20,59%)	2 (18,18%)	6 (15,38%)
nie stosowałam	10 (14,71%)	3 (27,27%)	5 (12,82%)
Suplementy soli mineralnych i witamin w ciąży			
tak	61 (89,71%)	8 (72,73%)	33 (84,62%)
nie	7 (10,29%)	3 (27,27%)	6 (15,38%)
Palenie papierosów podczas ciąży			
nie	50 (73,53%)	8 (72,73%)	32 (82,05%)
tak	13 (19,12%)	2 (18,18%)	3 (7,69%)
Zrezygnowałam z palenia papierosów jak tylko dowiedziałam się, że jestem w ciąży	5 (7,35%)	1 (9,09%)	4 (10,26 %)
Wizyty lekarskie w trakcie trwania ciąży			
tak	65 (95,59%)	11 (100%)	39 (100%)
nie	3 (4,41%)		
Przyjmowanie leków p/bólowych			
tak	6 (8,82%)	3 (27,27%)	2 (5,13%)
nie	62 (91,18%)	8 (72,73%)	37 (94,87%)

Tab. 4.3. Charakterystyka opisowa grupy badanej- podział ze względu na nosicielstwo *Streptococcus agalactiae* kobiet w 35-37 tygodniu ciąży (GBS- kobiety nie będące nosicielkami, GBS+ kobiety będące nosicielkami)

Analizowane zmienne	**Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae***	
	GBS- ujemny **n=95**	**GBS- dodatni** **n=23**
wiek (lata)		
średnia (±SD)	28 (±5)	29 (±6)
mediana (I/III kwartyl)	28 (24/31)	30 (25/33)
minimum/ maksimum	18/39	18/41
Tydzień wykonania badania		
Średnia (±SD)	36 (±1)	36 ±(1)
mediana (I/III kwartyl)	36 (35/37)	35 35/37)
minimum/ maksimum	35/37	35/37
Pierwsza miesiączka (lata)		
Średnia (±SD)	13 (±1)	14 (±2)
mediana (I/III kwartyl)	14 (13/14)	13 (12/14)
minimum/ maksimum	10/17	11/17

Tab. 4.4. Porównanie grupy badanej kobiet w 35-37 tygodniu ciąży podział ze względu na nosicielstwo *Streptococcus agalactiae* kobiet 35-37 tygodniu cięży GBS-ujemny- kobiety nie będące nosicielkami, GBS-dodatni- kobiety będące nosicielkami)

Analizowane zmienne	**Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae***	
	GBS-ujemny **n=95**	**GBS-dodatni** **n=23**
wykształcenie		
podstawowe	9 (9,47%)	2 (8,70%)
zawodowe	8 (8,42%)	3 (13,04%)
średnie	24 (25,26%)	5 (21,74%)
niepełne wyższe	7 (7,37%)	4 (17,39%)
wyższe	47 (49,47%)	9 (39,13%)
Miejsce zamieszkania		
wieś	19 (20%)	7 (30,43%)
miasto poniżej 50 tys.	17 (17,89%)	2 (8,70%)
miasto od 50 tys. do 100 tys.	6 (6,32%)	2 (8,70%)
miasto od 100 tys. do 300 tys.	6 (6,32%)	2 (8,70%)
miasto od 300 tys. do 600 tys.	14 (14,74%)	3 (13,05%)
miasto powyżej 600 tys.	33 (34,74%)	7 (30,43%)
Antykoncepcja przed zajściem w ciąże		
naturalna	10 (10,53%)	4 (17,39%)
pigułki hormonalne	25 (26,32%)	3 (13,04%)
inne (jakie?)…….	7 (7,37%)	5 (21,74%)
nie stosowałam	53 (55,79%)	11 (47,83 %)
Planowanie ciąży		
tak	70 (73,7%)	14 (60,9%)
nie	25 (26,3%)	9 (39,1%)

Przebieg ciąży		
bezproblemowo	61 (64,21%)	16 (69,57%)
z drobnymi problemami	32 (33,68%)	7 (30,43%)
z dużymi problemami	2 (2,11%)	-
Rodność		
Pierwiastka	32 (33,68%)	13 (56,52%)
Druga ciąża	42 (44,21%)	8 (34,78%)
Trzecia ciąża	14 (14,74%)	1 (4,35%)
Czwarta ciąża	5 (5,26)%	1 (4,35%)
Piąta ciąża	2 (2,11%)	-
Przyjmowanie kwasu foliowego		
przed ciążą	16 (16,84%)	1 (4,35%)
po rozpoznaniu, że jestem w ciąży	51 (53,68%)	10 (43,48%)
odpowiedzi przed i w trakcie trwania ciąży	14 (14,74%)	8 (34,78%)
nie stosowałam	14 (14,74%)	4 (17,39%)
Suplementy soli mineralnych i witamin w ciąży		
tak	82 (86,32%)	20 (86,96%)
nie	13 (13,68%)	3 (13,04%)
Palenie papierosów podczas ciąży		
nie	75 (78,95%)	15 (65,22%)
tak	13 (13,68%)	5 (21,74%)
Zrezygnowałam z palenia papierosów jak tylko dowiedziałam się, że jestem w ciąży	7 (7,37%)	3 (13,04%)

Wizyty lekarskie w trakcie trwania ciąży tak nie	92 (96,84%) 3 (3,16%)	23 (100%) -
Przyjmowanie leków p/bólowych tak nie	9 (9,47%) 86 (90,53%)	2 (8,7%) 21 91,3%)

4.2. Pobranie materiału do badań mikrobiologicznych i ich wykonanie

W okresie pobierania materiału do badań pacjentki nie były w trakcie antybiotykoterapii lub zaraz po jej zakończeniu. Pacjentki nie stosowały także preparatów dopochwowych oraz irygacji, w ciągu 48 godzin przed badaniem ograniczono także kontakty płciowe.

Materiał do badań pobierano od pacjentki leżącej na fotelu ginekologicznym po założeniu sterylnego wziernika. Przez wziernik wprowadzano dwie jałowe wymazówki i pobierano treść pochwową z tylnego sklepienia pochwy. Materiał z pierwszej wymazówki wykorzystano do wykonania preparatu mikroskopowego z treści pochwy. Drugą wymazówkę umieszczono na podłożu transportowym typu AMIES.

Przesłany materiał do pracowni mikrobiologicznej został wszechstronnie opracowany. W trakcie badania mikrobiologicznego wykonano test aminowy, preparat barwiony metodą Grama, preparat bezpośredni, oceniono aktywność pałeczek kwasu mlekowego przez analizę wartości pH, ocenę liczebności *Lactobacillus* spp. prawidłowości morfotypu pałeczek kwasu mlekowego. Wykonano także posiew na podłoża mikrobiologiczne i badanie w kierunku GBS.

4.2.1. Test aminowy

Wydzielinę pobraną bezpośrednio z pochwy naniesiono na szkiełko podstawowe a następnie dodano kroplę 10% KOH. Pojawienie się nieprzyjemnego rybiego zapachu świadczy o dodatnim wyniku testu.

4.2.2. Określenie wartości pH treści pochwy

Wydzielinę z pochwy naniesiono na pasek do pomiaru pH, następnie porównano barwę paska testowego ze skalą barwną dołączona do zestawu.

4.2.3. Wykonanie materiału treści pochwowej barwionego metodą Grama

Pobraną treść pochwową za pomocą wymazówki staranne rozprowadzono w postaci pojedynczej warstwy na szkiełku podstawowym. Preparat pozostawiono do wyschnięcia i utrwalono w płomieniu palnika, następnie barwiono metodą Grama.

Barwienie metodą Grama

Przygotowany preparat kolejno umieszczano w rynienkach z wcześniej przygotowanymi odczynnikami:

- Fioletem krystalicznym
- Płynem Lugola
- 70% alkoholem etylowym
- Fuksyną

Preparat analizowano pod mikroskopem przy powiększeniu 1000 razy. W preparacie oceniano liczbę i kształt komórek bakterii i grzybów, układ komórek bakterii względem siebie, rozróżniano bakterie Gram-ujemne od bakterii i Gram-dodatnich, określenie liczby komórek nabłonka, leukocytów, clue cells.

4.2.4. Diagnostyka *Trichomonas vaginalis* (preparat bezpośredni)

Na szkiełko podstawowe nanoszono 1-2 krople roztworu fizjologicznego NaCl a następnie zmieszano z badanym materiałem i przykryto szkiełkiem nakrywkowym. Preparat oceniano natychmiast po wykonaniu. Początkowo pod małym powiększeniem 200 lub 400 razy. W celu potwierdzenia rozpoznania używano powiększenia 600 razy.

T.vaginalis poszukiwano także w preparatach barwionych metodą Grama.

4.2.5. Wykrywanie i identyfikacja drobnoustrojów dróg moczowo- płciowych

Materiał do badań stanowiła wydzielina pochwowa oraz wymaz z pochwy. W ocenie wydzieliny z pochwy uwzględniono pH. Jednocześnie na podstawie rozmazu barwionego metoda Grama określano mikrobiologiczne stopnie czytsości pochwy, z uwzględnieniem obecności „clue cells". Ponadto w wydzielinie pochwowej przeprowadzono oznaczenia ilościowe IL-17A metodą ELISA przy użyciu zestawu Human IL-17 Platninum Immunoassay (eBioscience). Wymazy z pochwy w kierunku *Lactobacillus spp*. (Rogosa agar, Oxoid), *Streptococcus spp.* (hodowla na agarze z 5% krwią baranią), *Gardnerella vaginalis* (BD Gardnerella Selective Agar with 5% Human Blood), *Trichomonas vaginalis* (Trichomedium, Emapol) i *Candida spp.* (podłoże Sabouraud, SAB2-D BioMerieux) posiewano na podłoża diagnostyczne.

Identyfikacji izolowanych bakterii z rodzaju *Streptococcus spp*. dokonywano przy użyciu testu lateksowego (Slidex Strepto Plus B, BioMerieux) oraz biochemicznego API 20 Strep (BioMerieux).

4.2.6. Ocena stopnia czystości pochwy– klasyfikacja wg Pawlaczyka [Pawlaczyk M. 2003]

Oceniając stopień czystości pochwy posługiwano się klasyfikacją wg Pawlaczyka, biorąc pod uwagę proporcje ilościowe pomiędzy poszczególnymi morfotypami mikroorganizmów

- Biocenoza prawidłowa- obecność prawidłowych (nie defektywnych) morfotypów *Lactobacillus sp.,* brak leukocytów nieliczne leukocyty, dopuszczalna obecność niewielkiej liczby blastospor.

  - leczenie przeciwwskazane
- Biocenoza nieprawidłowa:

  - zapalenie charakteryzujące się obecnością licznych leukocytów i bakterii, złuszczonych komórek głębszych warstw nabłonka pochwy, grzybni, *T. vaginalis* (odrębna diagnostyka) i gonokoków (z szyjki

macicy) oraz występowania nielicznych *Lactobacillus spp.* lub ich brakiem

- waginoza bakteryjna (wg porównań liczebności morfotypów)
- leczenie konieczne (fakultatywnie w bakteryjnej waginozie)

➢ Biocenoza pośrednia

- nieliczne *Lactobacillus spp.* lub ich brak, brak leukocytów, nieliczna flora
- liczne blastospory, obecność *Lactobacillus sp.* w różnej liczbie
- obfita flora mieszana, obecność *Lactobacillus* niewielka liczba leukocytów
- *lactobacillosis* (dominacja morfotypów *Lactobacillus*)
- leczenie w zasadzie przeciwwskazane, potrzebne tylko w razie dolegliwości subiektywnych, popartych badaniem klinicznym (w przypadku ciąży interpretacja inwidualna).

Wynik badania przedstawiono za pomocą formularza badań załącznik nr 5.

4.3. Metody badań biochemicznych

4.3.1. Oznaczenia stężenia hsCRP

Stężenie białko C-reaktywnego wysokiej czułości (hsCRP) oznaczano za pomocą testów firmy DRG Diagnostics wykorzystując metodę immunoenzymatyczną ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) przy użyciu czytnika TECAN- SUNRISE. Zestaw wykorzystuje przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko determinatom antygenowym CRP. Oznaczane białko zostaje umieszczone pomiędzy dwoma przeciwciałami, jednym związanym z faza stałą (umieszczonym na powierzchni studzienek) oraz przeciwciałem kozim anyty- CRP znakowanym peroksydazą chrzanową (koniugatem). W kolejnym etapie reakcji dodawana jest tetrametylobenzydyna (TMB) w wyniku czego roztwór badany zmienia barwę na niebieską. Reakcja barwna hamowana jest przez dodanie 1M H_2SO_4. Absorbancję próby mierzono przy długości fali 450 nm. Stężenie hsCRP odczytywano z krzywej wzorcowej przygotowanej z szeregu rozcieńczeń wzorca o znanym stężeniu.

Sposób wykonania oznaczenia hsCRP

1. Odczynniki zawarte w zestawie przed przystąpieniem do oznaczeń ogrzano do temperatury pokojowej.
2. Badaną surowicę i kontrolę rozcieńczono 100-krotnie według zaleceń producenta testu (5 µl surowicy+ 495 µl medium do rozcieńczania).
3. Na płytkę naniesiono zawarte w zestawie standardy o stężeniu odpowiednio 0, 0,005, 0,010, 0,025, 0,050, 0,100 mg/L oraz przygotowane próby badane.
4. Następnie do każdej studzienki dodano roztwór koniugatu i mieszano przez 30 sekund.
5. Płytkę z naniesionymi próbami inkubowano w temperaturze pokojowej 45 min.
6. Po inkubacji płytkę przemywano pięć razy wodą dejonizowaną.
7. Do każdej studzienki następnie dodano 100 µl roztworu TMB, delikatnie mieszano przez 5 sekund.
8. Próby inkubowano w temperaturze pokojowej przez 20 min.
9. W celu zatrzymania reakcji do każdej studzienki dodano 100 µl roztworu zatrzymującego reakcję.

10. Absorbancję odczytano przy długości fali 450 nm.
11. Stężenie oznaczanego parametru odczytywano z krzywej wzorcowej, a następnie uzyskane wartości mnożono przez współczynnik rozcieńczenia 100. Wyniki stężenia hsCRP wyrażono w mg/L surowicy.

Wartością graniczną dla testu do oznaczania hsCRP było stężenie 0,1 mg/l. Współczynnik zmienności (CV) wewnątrzseryjnej i międzyseryjnej wynosił odpowiednio 3,2% i 4,4%.

4.3.2. Oznaczenia stężenia IL-6 i TNF-α

Stężenie IL-6 i TNFα oznaczano za pomocą testów R&D systems wykorzystując metodę immunoenzymatyczną ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) przy użyciu czytnika TECAN- SUNRISE.

Antygen obecny w próbie badanej (IL-6, TNFα) ulega połączeniu z poliklonalnym przeciwciałem zaabsorbowanym na powierzchni studzienek, następnie do oznaczanego antygenu przyłączany jest koniugat. Koniugat stanowi przeciwciało monoklonalne sprzężone z fosfatazą alkaliczną. W kolejnym etapie reakcji przyłączany jest NADPH, tworząc tak zwaną „kanapkę". W dalszym etapie dodano enzym wzmacniający reakcję, a następnie roztwór hamujący reakcję. Intensywność zabarwienia próby jest proporcjonalna do stężenia IL-6. Absorbancję mierzono przy długości fali 490 nm. Stężenie badanego parametru odczytywano z krzywej wzorcowej przygotowanej z szeregu rozcieńczeń wzorca o znanym stężeniu.

Sposób wykonania oznaczenia IL-6

1. Odczynniki przygotowano według instrukcji producenta testu. Wzorce służące do sporządzenia krzywej wzorcowej przygotowywano poprzez szereg rozcieńczeń standardu wyjściowego o stężeniu 10 pg/mL uzyskując odpowiednio stężenia: 5 pg/mL, 2,5 pg/mL, 0,625 pg/mL, 0,312 pg/mL, 0,156 pg/mL.
2. Na płytkę opłaszczoną przeciwciałami przeciwko IL-6 nałożono roztwór rozcieńczający (Assay Diluent RD1-75), a następnie odpowiednio do każdej studzienki naniesiono standardy i próby badane (każdą próbę wykonano w dwóch powtórzeniach).

3. Płytki inkubowano na wstrząsarce w temperaturze pokojowej przez 2 godziny.
4. Po inkubacji płytkę przemywano sześć razy buforem płuczącym (Wash Buffer).
5. Następnie do każdej studzienki dodano 200 µL przeciwciała przeciw IL-6 znakowanej fosfatazą alkaliczną (Conjugate).
6. Próby inkubowano na wstrząsarce przez 2 godziny
7. Po inkubacji całość przemywano sześć razy buforem płuczącym (Wash Buffer).
8. Do każdej studzienki dodano 50 µL roztworu substratu (Substrate Solution) przygotowanego tuż przed użyciem i inkubowano płytkę kolejne 60 min.
9. Następnie dodano 50 µL roztworu wzmacniającego reakcję (Amplifier Solution) i inkubowano dalsze 30 min.
10. W celu zatrzymania reakcji do każdej studzienki dodano 50 µL roztworu hamującego reakcję (Stop Solution).
11. Absorbancję odczytywano przy długości fali 490 nm w ciągu 30 min.

Czułość testu dla wykrywania IL-6 wynosi 0,016- 0,110 pg/mL. Średnia wartość detekcji wynosi 0,039 pg/mL. Współczynnik powtarzalności testu mieści się w granicach 87-99%. Współczynnik zmienności (CV) w obrębie testu wynosi CV=6,9%, natomiast współczynnik zmienności pomiędzy testami wynosi CV=9,6%.

Sposób wykonania oznaczenia TNF- α

1. Odczynniki przygotowano według instrukcji podanej przez producenta testu. Wzorce służące do sporządzenia krzywej wzorcowej wykonano poprzez szereg rozcieńczeń standardu wyjściowego o stężeniu 32 pg/dL uzyskując odpowiednio stężenia 16 pg/mL, 8 pg/mL, 4 pg/mL, 2 pg/mL, 1 pg/mL, 0,5 pg/mL.
2. Na płytkę opłaszczoną przeciwciałami przeciwko TNF-α nałożono roztwór rozcieńczający (Assay Diluent RD1F), a następnie odpowiednio do każdej studzienki naniesiono standardy i próby badane (200µL). Każdą próbę wykonano w dwóch powtórzeniach.
3. Płytki inkubowano w temperaturze pokojowej przez 3 godziny.

4. Po inkubacji płytkę przemywano sześć razy buforem płuczącym (Wash Buffer)
5. Następnie do każdej studzienki dodano 200 μL przeciwciała przeciw TNF-α znakowanego fosfatazą alkaliczną (Conjugate).
6. Próby inkubowano w temperaturze pokojowej 2 godziny.
7. Po inkubacji całość przemywano sześć razy buforem płuczącym (Wash Buffer).
8. Do każdej studzienki dodano 50 μL roztworu substratu (Substrate Solution) przygotowanego tuż przed użyciem i inkubowano płytkę kolejne 60 min w temperaturze pokojowej.
9. Następnie dodano 50 μL roztworu wzmacniającego reakcję (Amplifier Solution) i inkubowano dalsze 30 min.
10. W celu zatrzymania reakcji do każdej studzienki dodano 50 μL roztworu hamującego reakcję (Stop Solution).
11. Absorbancję odczytano przy długości fali 490 nm w ciągu 30 min.

Czułość testu dla wykrywania TNF-α wynosi 0,038-0,191 pg/mL. Średnia wartość detekcji wynosi 0,106 pg/mL. Współczynnik powtarzalności testu mieści się w granicach 85-98%. Współczynnik zmienności w obrębie testu wynosi CV 6,9%, natomiast współczynnik zmienności pomiędzy testami wynosi CV=8,5 %.

Producent podaje, że dla zestawów testowych do oznaczeń TNF-α i IL-6 zaobserwowano reakcje krzyżowe pomiędzy przeciwciałami znajdującymi się w surowicy badanej, a przeciwciałami znajdującymi się w teście. Aby zapobiegać powstawaniu reakcji krzyżowych test w swoim składzie zawiera „rozpuszczalnik” (Assay Diluent), którego skład jest tajemnicą firmy produkującej zestaw.

4.3.3. Oznaczenia stężenia IL-17

Stężenie IL-17 oznaczano za pomocą testu eBioscience wykorzystując metodę immunoenzymatyczną ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) przy użyciu czytnika TECAN- SUNRISE.

Antygen obecny w próbie badanej IL-17 ulega połączeniu z poliklonalnym przeciwciałem zaabsorbowanym na powierzchni studzienek. Do oznaczanego antygenu przyłączany jest koniugat biotyny z przeciwciałem przeciwko ludzkiej IL-17A. Nadmiar koniugatu usuwany jest podczas etapu płukania. W kolejnym etapie

reakcji przyłączana jest Streptaviadin-HRP. Po inkubacji niezwiązaną Streptavidin-HRP usuwana jest podczas płukania. W dalszym etapie oznaczenia dodany jest enzym wzmacniający reakcję a następnie roztwór hamujący reakcję. Intensywność zabarwienia próby jest proporcjonalna do stężenia IL-17. Absorbanję mierzono przy długości fali 450 nm. Stężenie badanego parametru odczytywano z krzywej wzorcowej przygotowanej z szeregu rozcieńczeń wzorca o znanym stężeniu**.**

Sposób wykonania oznaczenia IL-17

1. Odczynniki przygotowano według instrukcji załączonej do zestawu. Wzorce służące do sporządzenia krzywej wzorcowej wykonano poprzez szereg rozcieńczeń standardu wyjściowego o stężeniu 200 pg/mL .
2. Na płytkę opłaszczoną przeciwciałam przeciwko IL-17A nałożono roztwór rozcieńczający (Sample Diluent), a następnie odpowiednio do każdej studzienki naniesiono standardy i próby badane (każdą próbę wykonano w dwóch powtórzeniach).
3. Następie do wszystkich studzienek dodano 50 µL roztworu biotyny (Biotyn-Conjugate).
4. Płytki inkubowano na wstrząsarce w temperaturze pokojowej przez 2 godziny.
5. Po inkubacji płytkę przemywano cztery razy buforem płuczącym (Wash Buffer).
6. Do każdej studzienki dodano 100 µL roztwór Streptavidin-HRP.
7. Próby inkubowano godzinę w temperaturze pokojowej.
8. Po inkubacji całość przemywano cztery razy buforem płuczącym (Wash Buffer).
9. Do każdej studzienki dodano 100 µL roztworu substratu (Substrate Solution) przygotowanego tuż przed użyciem i inkubować płytkę kolejne 60 min.
10. Następnie dodano 100 µL TMB Substrate Solution i inkubowano 10 min.
11. W celu zatrzymania reakcji do każdej studzienki dodano 100 µL roztworu hamującego reakcję (Stop Solution).
12. Absorbancję odczytano przy długości fali 450 nm.

Czułość testu dla wykrywania IL-17 wynosi 0,5pg/mL. Współczynnik powtarzalności testu mieści się w granicach 87-99%.Współczynnik zmienności w

obrębie testu wynosi CV=7,1%, natomiast współczynnik zmienności pomiędzy testami wynosi CV=9,1%.

4.3.4. Oznaczanie aktywności oksydazowej ceruloplazminy (CP_{OA})

Aktywność oksydazową cerulpolazminy oznaczano metodą spektrofotometryczną wg Schosinsky'ego. W metodzie tej jako substrat wykorzystuje się chlorowodorek o-dianizydyny. Związek ten w obecności CP_{OA} w kwaśnym środowisku (pH=5) tworzy stabilny produkt o żółto- brązowej barwie. Zakwaszenie środowiska za pomocą 9M $H_2 SO_4$ hamuje reakcję enzymatyczną, a barwa zmienia się na ciemnoczerwoną z maksimum absorbancji przy długości fali 540 nm. Aktywność CP_{OA} wyrażono w międzynarodowych jednostkach aktywności U/L (jednostka ta wyraża ilość enzymu, która katalizuje przemianę 1 μmola substratu w czasie 1 min w temperaturze 30^0 C w optymalnych warunkach) [Schosinsky K.H i wsp 1974].

4.3.5. Oznaczanie stężenia grup tiolowych (gr-SH)

Oznaczenie wykonano metodą wg Miao-Lin Hu Methods in Enzymology vol 233 (1994): 308-382

Stężenie wolnych grup tiolowych w surowicy wykonano metodą Miao- Lin Hu. Metoda oparta jest na reakcji wolnych grup– SH z kwasem 5,5' ditiobis 2-nitrobenzoesowym (DTNB), co prowadzi do powstania barwnego kompleksu. Zmianę zabarwienia mierzono przy pomocy spektrofotometru HITACHI przy długości fali 412 nm.

Sposób wykonania oznaczenia:

1. Do 50 μl surowicy dodano 1 ml buforu TRIS (0,25 mM)- EDTA (20 mmol/L) o pH= 8,2 i dokonano pomiaru absorbancji badanej próby przy dł. fal 412 nm (A_1).
2. Do badanej mieszaniny następnie dodano 20 μl 10 mM roztworu DTNB.

Próbę badaną inkubowano 15 min i po raz drugi odczytywano absorbancję próby badanej (A_2).

3. Obliczono stężenie wolnych grup –SH na podstawie wzoru uwzględniającego współczynnik ekstynkcji powstałego kompleksu: (A_2-A_1) x (1,07/0,05/13,6)= (A_2-A_1) x 1,57 mM grup– SH.

4.3.6. Oznaczenie całkowitej zdolności antyoksydacyjnej w oparciu o redukcję jonów żelaza (III) (FRAP)

(Oznaczenie FRAP wykonano metodą wg Benzie i Strain)

Antyoksydanty obecne w surowicy redukują jony Fe^{3+} do Fe^{2+} w środowisku kwaśnym tworząc barwny kompleks z obecną w roztworze 2,4,6- tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ). Przyrost absorbancji kompleksu TPTZ- Fe^{2+}jest proporcjonalny do ilości antyoksydantów obecnych w próbce. Zmianę absorbancji mierzono przy długości fali 593 nm. Krzywą wzorcową wykonano wykorzystując roztwór (±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox) w alkoholu etylowym.

Do probówek zawierających mieszaninę reakcyjną składającą się z 0,3 molowego buforu octanowego, pH=3,6 10 mM roztwóru TPTZ w 40 mM roztworze HCl 20 mM roztworu $FeCl_6x6H_20$, dodano badaną surowicę (próba badana) lub wodę destylowaną (próba odnośnikowa). Całość dokładnie wymieszano i inkubowano przez 20 min w temperaturze pokojowej. Po inkubacji wykonano pomiar absorbancji przy długości fali 593 nm. Następnie obliczono przyrost absorbancji ΔA poszczególnych próbek w stosunku do absorbancji próby odniesienia.

Stężenie antyoksydantów zawartych w badanej próbie c_x wyznaczono z przygotowanej krzywej wzorcowej dla Troloxu i obliczono całkowitą zdolność antyoksydacyjną badanych prób (FRAP) (w jednoelektronowych równoważnikach Troloxu) według wzoru:

FRAP=2 x C_x x rozcieńczenie surowicy (np. 600 μL/20μL=30) [Yim Tong i wsp. 2002].

4.3.7. Oznaczanie stężenia substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS)

W pracy wykorzystano metodę w modyfikacji wg Yagi i wsp. Metoda oparta jest na reakcji kwasu tiobarbiturowego z dialdehydem malonowym, będącym produktem peroksydacji lipidów. Do probówki dodano 0,4 ml surowicy badanej oraz 2 ml mieszaniny reakcyjną zawierającą w swoim składzie: kwas trichlorooctowy 150 g/L, kwas tiobarbiturowy (TBA) -3,75 g/dL, stężony kwas solny (36-38% w/w) - 7,85 mL/L.

Całość dokładnie wymieszano i próbkę inkubowano w łaźni wodnej, w temperaturze 95^0 C przez 25 min. Po inkubacji i ochłodzeniu do temperatury pokojowej, próbki przelewano do próbówek wirówkowych. Probówki z mieszaniną badaną odwirowywano przy 1500x g (4000 obr./min.) przez 8 min w temperaturze $+4^0$ C. Ostrożnie zbierano nadsącz i odczytywano absorbancję przy długości fali 535 nm wobec próby odczynnikowej.

Krzywą standardową sporządzono dla roztworów 1,1,3,3- tetraethoxypropan-4-metylooksypropanu (TMP) w zakresie stężeń 0,195 -50 nmol/L.

Stężenia badanych substancji (TBARS) wyznaczone zostały z wykresu funkcji o równaniu y= ax + b, gdzie y- pomiar absorbancji, x- stężenie TBARS nmol/ml. Odczytano absorbancję próbki badanej i z równania funkcji wyliczano stężenie TBARS [Yagi A 1976].

4.3.8. Oznaczanie parametrów hematologicznych

Oznaczenia wykonywane były we krwi pełnej pobranej na EDTA przy użyciu analizatora ABX MICROS CRP firmy ABX Diagnostics.

Zliczanie i pomiar objętości krwinek czerwonych, białych i płytowych dokonywano konduktometrycznie w dwóch komorach pomiarowych. W metodzie tej komórki krwi, zawieszone w roztworze o wysokim przewodnictwie, przechodzą przez szczelinę znajdującą się pomiędzy dwiema elektrodami, powodują zmiany impedancji zależne od ilości i objętości krwinek. Przy pomiarach krwinek białych stosowano odczynnik lizujący erytrocyty oraz odczynnik obkurczający błonę komórkową krwinek białych na ich jądrze, zliczano jądra. Pozwoliło to ustalić

pewien próg detekcji eliminujący artefakty. W odniesieniu do krwinek białych metoda impedancyjna stanowi podstawę określenia 3-częściowego wzoru odsetkowego, tzw. metody 3-Diff.

Stężenie hemoglobiny oznaczano fotometrycznie po hemolizie erytrocytów z zastosowaniem metody cjanomethemoglobinowej.

4.4. Analiza statystyczna wyników

Uzyskane wyniki badań analizowano przy użyciu programu komputerowego STATISTICA 10 dla systemu operacyjnego Windows. Zgodność rozkładu badanych cech z rozkładem normalnym oceniano testem Shapiro-Wilka. W analizie statystycznej zastosowano testy nieparametryczne: dla oceny różnic między grupami stosowano test U Manna-Whithney' a oraz test Kruskala- Wallisa. Gdy test Kruskala-Wallisa wskazywał na istnienie istotnych różnic między badanymi zmiennymi zastosowano test post hock Dunn'a. Różnice uznawano za istotne statystyczne przy $p<0,05$.

Dla określenia zależności pomiędzy zmiennymi zastosowano wspłczynnik korelacji rang Spearmana uwzględniając współczynnik korelacji „R" istotny przy $p<0,05$, a następnie test Dunna.

4.5. Krytyka metody

Na potrzeby niniejszej pracy zebrano informacje od pacjentek za pomocą dobrowolnej i anonimowej ankiety. Tak przeprowadzony wywiad z pacjentem był korzystny ze względu na szczerość wypowiedzi, ale też pociąga za sobą ryzyko nieprawidłowo zaznaczonych odpowiedzi.

Trudności w interpretacji badań wynikają z braku informacji w piśmiennictwie na temat funkcji cytokin w organizmie kobiet ciężarnych. Dodatkowa trudnością było porównanie uzyskanych wyników z danymi już opublikowanymi w piśmiennictwie ze względu na różnorodność metod oznaczania. Praca zyskałaby na wartości gdyby w równym czasie oceniano stężenie parametrów w wydzielinie z pochwy. Cenne byłoby wykonanie analiz mikrobiologicznych i posiewów z dróg rodnych matki po przebytym porodzie oraz u noworodka. Oznaczenia te ze względów organizacyjnych i finansowych nie było możliwe do przeprowadzenia. Zaletą przeprowadzonych badań było zebranie jednorodnej grupy. Informacje na

potrzeby niniejszej pracy zostały zebrane od pacjentek przy użyciu anonimowych ankiet. To narzędzie badawcze pozwoliło zebrać prawdziwe, wartościowe dane, niestety minusem było zwiększone ryzyko wyboru błędnej (nieadekwatnej) odpowiedzi. Ubogie piśmiennictwo traktujące rolę cytokin w grupie kobiet ciężarnych znacząco utrudniło interpretację uzyskanych wyników trudnych do oceny ze względu na mnogość metod analitycznych stosowanych przez innych badaczy. Niewątpliwie wartość merytoryczną pracy podniosłyby jednoczesne wykonanie badanych parametrów w wydzielinie z pochwy, a także przeprowadzenie analiz mikrobiologicznych materiału z dróg rodnych kobiet po porodzie oraz materiałów pobranych od noworodka. Niestety ze względów finansowych było to niemożliwe, jednak dużą wartością jest jednorodność badanej grupy.

5. Wyniki i ich omówienie (A.B., M.M.)

5.1. Wyniki badań kliniczno-laboratoryjnych u kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży, z uwzględnieniem sposobu zakończenia ciąży (M.M.)

Grupę 118 kobiet w ciąży podzielono na siedem podgrup, w zależności od czystości mikrobiologicznej pochwy, liczby wcześniejszych porodów i miejsca zakończenia ciąży.

Symbole PR1, PR2 i PR3 oznaczają podgrupy z prawidłową czystością pochwy, symbole PO1 i PO2 oznaczają podgrupy z pośrednią czystością pochwy, a symbole NP1 i NP2 oznaczają podgrupy z nieprawidłową czystością pochwy (Pawlaczyk 2003)

Wszystkie 118 kobiet w okresie ciąży były pod opieką Szpitala Świętej Rodziny (M.M.), ale tylko 82 kobiety z podgrup PR1, PR2, PO1 i NP1 także rodziły w Szpitalu Świętej Rodziny. Sposób zakończenia ciąży oznaczono symbolami: PSN – poród siłami natury, CC – poród poprzez cesarskie cięcie, forceps– poród pochwowy z użyciem kleszczy, vacuum – poród pochwowy z użyciem próżnociągu.

Nosicielstwo paciorkowca grupy B (GBS) zaznaczono w tabelach wytłuszczonym drukiem.

5.1.1. Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka u kobiet ciężarnych, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* i sposobu zakończenia ciąży (M.M.)

Tab. 5.1 .PR1 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* i sposobu zakończenia ciąży u kobiet ciężarnych (nieródek) z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będący będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy, vacuum- poród pochwowy z użyciem próżnociągu]

Numer porzą-dkowy	Numer kodowy pacjentki	Wiek pacjentek	Czystość pochwy wg Pawlaczyka	Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae*	Liczba ciąż	Liczba porodów	Sposób zakończenia ciąży
1	**028/86**	**25**	**prawidłowy**	**dodatni**	**1**	**1**	**PSN**
2	**030/83**	**28**	**prawidłowy**	**dodatni**	**1**	**1**	**PSN**
3	**037/93**	**19**	**prawidłowy**	**dodatni**	**1**	**1**	**CC**
4	006/81	30	prawidłowy	ujemny	1	1	PSN
5	025/82	29	prawidłowy	ujemny	1	1	PSN
6	044/83	29	prawidłowy	ujemny	1	1	PSN
7	045/89	23	prawidłowy	ujemny	1	1	forceps
8	054/84	28	prawidłowy	ujemny	1	1	PSN
9	057/93	19	prawidłowy	ujemny	1	1	PSN
10	063/84	28	prawidłowy	ujemny	1	1	PSN
11	072/93	19	prawidłowy	ujemny	1	1	CC
12	075/82	30	prawidłowy	ujemny	1	1	PSN
13	077/85	27	prawidłowy	ujemny	1	1	PSN
14	080/88	24	prawidłowy	ujemny	1	1	CC
15	085/83	29	prawidłowy	ujemny	1	1	CC
16	092/82	31	prawidłowy	ujemny	2	1	forceps
17	095/93	20	prawidłowy	ujemny	1	1	vacuum
18	098/85	28	prawidłowy	ujemny	1	1	CC
19	099/83	30	prawidłowy	ujemny	1	1	CC
20	103/74	39	prawidłowy	ujemny	1	1	CC
21	105/77	36	prawidłowy	ujemny	1	1	PSN
22	108/91	22	prawidłowy	ujemny	2	1	PSN

Omówienie wyników Tab. 5.1.PR1.

W grupie 22 pacjentek-nieródek z prawidłową czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka 3 pacjentki miały dodatni wynik GBS co stanowi 13,66%.

W podgrupie GBS dodatnich nieródek 66,66% porodów odbyło się siłami natury,
a u 33,33% zakończony został cięciem cesarskim.

W podgrupie GBS ujemnych nieródek 52,63% porodów odbyło się siłami natury, 15,79% zakończyło się operacyjnym porodem pochwowym (forceps, vacuum), a 31,57% ukończono cięciem cesarskim.

Tab. 5.2. PR2 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* i sposobu zakończenia ciąży u kobiet ciężarnych (wieloródek) z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy]

Numer porzą-dkowy	Numer kodowy pacjentki	Wiek pacjentek	Czystość pochwy wg Pawlaczyka	Nosicielstwo *Streptococcus agalactaiae*	Liczba ciąż	Liczba porodów	Sposób zakończenia ciąży
1	**019/80**	**30**	**prawidłowy**	**dodatni**	**4**	**2**	**PSN**
2	**009/81**	**30**	**prawidłowy**	**dodatni**	**2**	**2**	**forceps**
3	**032/81**	**30**	**prawidłowy**	**dodatni**	**3**	**2**	**PSN**
4	**036/70**	**42**	**prawidłowy**	**dodatni**	**2**	**2**	**PSN**
5	001/81	30	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
6	018/81	30	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
7	024/84	27	prawidłowy	ujemny	3	2	PSN
8	026/88	23	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
9	027/77	34	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
10	029/80	31	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
11	042/84	28	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
12	043/80	32	prawidłowy	ujemny	2	2	forceps
13	046/82	30	prawidłowy	ujemny	2	2	forceps
14	050/84	28	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
15	051/76	36	prawidłowy	ujemny	3	3	PSN
16	053/81	31	prawidłowy	ujemny	2	2	CC
17	056/85	27	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
18	060/82	30	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
19	068/83	29	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
20	082/90	22	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
21	088/85	27	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
22	091/84	29	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
23	096/78	35	prawidłowy	ujemny	3	3	PSN
24	104/77	36	prawidłowy	ujemny	3	3	CC
25	106/81	32	prawidłowy	ujemny	2	2	PSN
26	110/81	29	prawidłowy	ujemny	2	2	CC
27	118/79	34	prawidłowy	ujemny	2	2	CC

Omówienie wyników Tab. 5.2.PR2.

W grupie 27 pacjentek - wieloródek z prawidłową czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka 4 pacjentki miały dodatni wynik GBS, co stanowi 14,81%.

W podgrupie GBS dodatnich wieloródek 75% porodów odbyło się siłami natury, a w 25% ciąż zakończono operacyjnym porodem pochwowym (forceps)

W podgrupie GBS ujemnych wieloródek 73,91% porodów odbyło się siłami natury, 8,70 % ciąż zakończono operacyjnym porodem pochwowym (forceps), 17,39% ukończono cięciem cesarskim.

Tab. 5.3. PR3 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* u kobiet ciężarnych z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu

Numer porządkowy	Numer kodowy pacjentki	Wiek w latach	Czystość pochwy wg Pawlaczyka	Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae*	Liczba ciąż
1	**052/87**	**25**	**prawidłowy**	**dodatni**	**1**
2	**079/72**	**40**	**prawidłowy**	**dodatni**	**4**
3	**111/77**	**36**	**prawidłowy**	**dodatni**	**1**
4	**011/88**	**23**	**prawidłowy**	**dodatni**	**1**
5	**093/94**	**19**	**prawidłowy**	**dodatni**	**1**
6	**101/89**	**23**	**prawidłowy**	**dodatni**	**1**
7	**100/78**	**35**	**prawidłowy**	**dodatni**	**3**
8	004/86	25	prawidłowy	ujemny	1
9	007/73	31	prawidłowy	ujemny	4
10	020/84	27	prawidłowy	ujemny	3
11	023/88	23	prawidłowy	ujemny	2
12	040/88	24	prawidłowy	ujemny	1
13	049/89	23	prawidłowy	ujemny	1
14	058/90	22	prawidłowy	ujemny	2
15	065/79	33	prawidłowy	ujemny	
16	071/81	31	prawidłowy	ujemny	
17	076/90	22	prawidłowy	ujemny	
18	097/81	32	prawidłowy	ujemny	
19	114/83	30	prawidłowy	ujemny	

Omówienie wyników Tab. 5.3.PR3.

W grupie 19 pacjentek z prawidłową czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka, które zakończyły ciążę porodem w innym szpitalu, 7 pacjentek miało dodatni wynik GBS, co stanowi 36,84%

Tab. 5.4. PO1 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* i sposobu zakończenia ciąży u kobiet ciężarnych z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN-poród siłami natury]

Numer porządkowy	Numer kodowy pacjentki	Wiek pacjentek	Czystość pochwy wg Pawlaczyka	Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae*	Liczba ciąż	Liczba porodów	Sposób zakończenia ciąży
1	**047/80**	**32**	**pośredni**	**dodatni**	**2**	**2**	**PSN**
2	005/76	35	pośredni	ujemny	2	2	PSN
3	008/80	31	pośredni	ujemny	3	3	PSN
4	034/93	19	pośredni	ujemny	1	1	PSN

Omówienie wyników Tab. 5.4.PO1.

W grupie 4 pacjentek z pośrednią czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka 1 pacjentka miała dodatni wynik GBS, co stanowi 25%.

W podgrupie GBS dodatnich pacjentek 100% porodów odbyło się siłami natury.

Tab. 5.5. PO2 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* u kobiet ciężarnych z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu

Numer porzą-dkowy	Numer kodowy pacjentki	Wiek pacjentek	Czystość pochwy wg Pawlaczyka	Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae*	Liczba ciąż
1	**113/86**	**27**	**pośredni**	**dodatni**	**2**
2	033/82	30	pośredni	ujemny	3
3	081/86	26	pośredni	ujemny	2
4	094/73	40	pośredni	ujemny	5
5	102/89	23	pośredni	ujemny	4
6	109/81	32	pośredni	ujemny	2
7	115/83	30	pośredni	ujemny	3

Omówienie wyników Tab. 5.5.PO2

W grupie 7 pacjentek z pośrednią czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka, które zakończyły ciążę porodem w innym szpitalu, 1 pacjentka miała dodatni wynik GBS, co stanowi 14,29%.

Tab. 5.6. NP1 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* i sposobu zakończenia ciąży u kobiet ciężarnych z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy]

Numer porzą-dkowy	Numer kodowy pacjentki	Wiek pacjentek	Czystość pochwy wg Pawlaczyka	Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae*	Liczba ciąż	Liczba porodów	Sposób zakończenia ciąży
1	**013/79**	**32**	**nieprawidłowy**	**dodatni**	**2**	**2**	**CC**
2	**031/78**	**33**	**nieprawidłowy**	**dodatni**	**2**	**2**	**PSN**
3	**066/77**	**35**	**nieprawidłowy**	**dodatni**	**1**	**1**	**CC**
4	**039/86**	**26**	**nieprawidłowy**	**dodatni**	**1**	**1**	**CC**
5	**064/86**	**26**	**nieprawidłowy**	**dodatni**	**1**	**1**	**PSN**
6	**067/81**	**31**	**nieprawidłowy**	**dodatni**	**1**	**1**	**PSN**
7	002/84	27	nieprawidłowy	ujemny	1	1	PSN
8	010/76	35	nieprawidłowy	ujemny	1	1	PSN
9	012/75	36	nieprawidłowy	ujemny	4	1	PSN
10	015/84	27	nieprawidłowy	ujemny	2	2	PSN
11	017/92	19	nieprawidłowy	ujemny	1	1	PSN
12	021/77	34	nieprawidłowy	ujemny	3	3	PSN
13	022/90	21	nieprawidłowy	ujemny	1	1	CC
14	035/79	33	nieprawidłowy	ujemny	3	3	PSN
15	038/87	25	nieprawidłowy	ujemny	1	1	PSN
16	048/87	25	nieprawidłowy	ujemny	1	1	CC
17	055/87	25	nieprawidłowy	ujemny	1	1	forceps
18	059/80	32	nieprawidłowy	ujemny	3	3	forceps
19	061/81	31	nieprawidłowy	ujemny	2	2	PSN
20	062/77	35	nieprawidłowy	ujemny	3	2	CC
21	069/78	34	nieprawidłowy	ujemny	2	2	PSN
22	070/83	29	nieprawidłowy	ujemny	2	2	forceps
23	073/93	19	nieprawidłowy	ujemny	2	2	PSN
24	074/77	35	nieprawidłowy	ujemny	2	2	PSN
25	078/85	27	nieprawidłowy	ujemny	2	2	PSN
26	083/88	24	nieprawidłowy	ujemny	2	2	PSN
27	084/82	30	nieprawidłowy	ujemny	1	1	PSN
28	086/88	24	nieprawidłowy	ujemny	1	1	PSN
29	089/85	27	nieprawidłowy	ujemny	2	2	PSN

Omówienie wyników Tab. 5.6.NP1

W grupie 29 pacjentek z nieprawidłową czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka, 6 pacjentek miało dodatni wynik GBS, co stanowi 20,69 %,

W podgrupie 6 GBS dodatnich pacjentek 50% porodów odbyło się siłami natury i 50% zakończonych zostało cięciem cesarskim.

W podgrupie 23 GBS ujemnych pacjentek 73,91% porodów odbyło się siłami natury, 13,04% zakończyło się operacyjnym porodem pochwowym (forceps), 13,04% ukończono cięciem cesarskim.

Tab. 5.7. NP2 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* u kobiet ciężarnych z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu

Numer porzą-dkowy	**Numer kodowy pacjentki**	**Wiek pacjentek**	**Czystość pochwy wg Pawlaczyka**	**Stopień czystości pochwy**	**Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae***	**Liczba ciąż**
1	**003/79**	**32**	**nieprawidłowy**	**IV°**	**dodatni**	**1**
2	014/83	28	nieprawidłowy	IV°	ujemny	2
3	016/83	28	nieprawidłowy	IV°	ujemny	2
4	041/77	35	nieprawidłowy	IV°	ujemny	2
5	087/87	25	nieprawidłowy	IV°	ujemny	5
6	090/91	22	nieprawidłowy	IV°	ujemny	1
7	107/76	37	nieprawidłowy	IV°	ujemny	2
8	112/78	35	nieprawidłowy	IV°	ujemny	3
9	116/86	27	nieprawidłowy	IV°	ujemny	1
10	117/91	22	nieprawidłowy	IV°	ujemny	2

Omówienie wyników Tab. 5.7.NP2

W grupie 10 pacjentek z nieprawidłową czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka, które zakończyły ciążę porodem w innym szpitalu 1 pacjentka miała dodatni wynik GBS, co stanowi 10%. W grupie 19 pacjentek z prawidłową czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka, które zakończyły ciążę porodem w innym szpitalu 7 pacjentek miało dodatni wynik GBS, co stanowi 36,84%.

5.1.2. Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* (M.M)

Tab. 5.8. PR1 (M.M.) Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych (nieródek) z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy, vacuum- poród pochwowy z użyciem próżnociągu]

Numer porzą-dkowy	Numer kodowy pacjentki	*Lacto-bacillus*	*Gardnerella vaginalis*	*Clue cells*	*Candida species*	*Trichomonas vaginalis*	Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae*	Sposób zakończenia ciąży
1	**028/86**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**	**PSN**
2	**030/83**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**	**PSN**
3	**037/93**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**	**CC**
4	006/81	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
5	025/82	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
6	044/83	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
7	045/89	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	forceps
8	054/84	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
9	057/93	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
10	063/84	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
11	072/93	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	CC
12	075/82	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
13	077/85	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
14	080/88	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	CC
15	085/83	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	CC
16	092/82	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	forceps
17	095/93	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	vacuum
18	098/85	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	CC
19	099/83	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	CC
20	103/74	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	CC
21	105/77	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
22	108/91	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN

Omówienie wyników Tab. 5.8.PR1

W grupie 22 pacjentek nieródek z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy u 4 wykazano obecność *Gardnerella vaginalis,* co stanowi 18,18%.

Tab. 5.9. PR2 (M.M.) Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych (wieloródek) z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy]

Numer porzą-dkowy	Numer kodowy pacjentki	*Lactobacillus*	*Gardnerella vaginalis*	*Clue cells*	*Candida species*	*Trichomonas vaginalis*	Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae*	Sposób zakończenia ciąży
1	**019/80**	**dodatni**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**	**PSN**
2	**009/81**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**	**forceps**
3	**032/81**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**	**PSN**
4	**036/70**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**	**PSN**
5	001/81	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
6	018/81	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
7	024/84	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
8	026/88	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
9	027/77	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
10	029/80	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
11	042/84	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
12	043/80	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	forceps
13	046/82	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	forceps
14	050/84	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
15	051/76	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
16	053/81	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	CC
17	056/85	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
18	060/82	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
19	068/83	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
20	082/90	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
21	088/85	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
22	091/84	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
23	096/78	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
24	104/77	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	CC
25	106/81	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
26	110/81	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	CC
27	118/79	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	CC

Omówienie wyników Tab. 5.9.PR2

W grupie 27 pacjentek wieloródek z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy u 5 wykazano obecność *Gardnerella vaginalis*, co stanowi 18,52%.

Tab. 5.10. PR3 (M.M.) Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu

Numer porządkowy	Numer kodowy pacjentki	*Lactobacillus*	*Gardnerella vaginalis*	*Clue cells*	*Candida species*	*Trichomonas vaginalis*	Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae*
1	**052/87**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**
2	**079/72**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**
3	**111/77**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**
4	**011/88**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**
5	**093/94**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**
6	**101/89**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**
7	**100/78**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**
8	004/86	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
9	007/73	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
10	020/84	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
11	023/88	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
12	040/88	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
13	049/89	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
14	058/90	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
15	065/79	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
16	071/81	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
17	076/90	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
18	097/81	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
19	114/83	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny

Omówienie wyników Tab. 5.10.PR3

W grupie 19 pacjentek z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, które rodziły w innym szpitalu, u 1 wykazano obecność *Gardnerella vaginalis,* co stanowi 5,26%.

Tab. 5.11. PO1 (M.M.) Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury]

Numer porządkowy	Numer kodowy pacjentki	*Lactobacillus*	*Gardnerella vaginalis*	*Clue cells*	*Candida species*	*Trichomonas vaginalis*	Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae*	Sposób zakończenia ciąży
1	**047/80**	**dodatni**	**dodatni**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**	**PSN**
2	005/76	dodatni	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
3	008/80	ujemny	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
4	034/93	ujemny	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny	PSN

Omówienie wyników Tab. 5.11.PO1

W grupie 4 pacjentek z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy u 4 wykazano obecność *Gardnerella vaginalis,* co stanowi 100%.

Tab. 5.12. PO2 (M.M.) Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych
z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu

Numer porzą-dkowy	**Numer kodowy pacjentki**	***Lacto-bacillus***	***Gardnerella vaginalis***	**Clue cells**	***Candida species***	***Trichomonas vaginalis***	**Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae***
1	**113/86**	**dodatni**	**dodatni**	**dodatni**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**
2	081/86	dodatni	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny
3	033/82	ujemny	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny
4	094/73	ujemny	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny
5	102/89	dodatni	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny
6	109/81	dodatni	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny
7	115/83	dodatni	dodatni	dodatni	ujemny	ujemny	ujemny

Omówienie Tab. 5.12.PO2

W grupie 7 pacjentek z pośrednią czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka, które zakończyły ciążę porodem w innym szpitalu, u 7 pacjentek wykazano obecność *Gardnerella vaginalis,* co stanowi 100%. U wszystkich pacjentek wykazano również Clue cells.

Tab. 5.13. NP1 (M.M.)Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy]

Numer porzą-dkowy	**Numer kodowy pacjentki**	***Lacto-bacillus***	***Gardnerella vaginalis***	**Clue cells**	***Candida species***	***Trichomonas vaginalis***	**Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae***	**Sposób zakończenia ciąży**
1	**013/79**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**średnio liczne**	**ujemny**	**dodatni**	**CC**
2	**031/78**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**bardzo liczne**	**ujemny**	**dodatni**	**PSN**
3	**066/77**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**liczne**	**ujemny**	**dodatni**	**CC**
4	**039/86**	**ujemny**	**dodatni**	**dodatni**	**liczne**	**ujemny**	**dodatni**	**CC**
5	**064/86**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**średnio liczne**	**ujemny**	**dodatni**	**PSN**
6	**067/81**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**liczne**	**ujemny**	**dodatni**	**PSN**
7	002/84	ujemny	ujemny	ujemny	liczne	ujemny	ujemny	PSN
8	010/76	ujemny	ujemny	ujemny	bardzo liczne	ujemny	ujemny	PSN
9	012/75	ujemny	ujemny	ujemny	pojedyncze	ujemny	ujemny	PSN
10	015/84	ujemny	dodatni	dodatni	bardzo liczne	ujemny	ujemny	PSN
11	017/92	ujemny	dodatni	dodatni	liczne	ujemny	ujemny	PSN
12	021/77	ujemny	ujemny	ujemny	pojedyncze	ujemny	ujemny	PSN
13	022/90	ujemny	dodatni	ujemny	bardzo liczne	ujemny	ujemny	CC
14	035/79	ujemny	ujemny	ujemny	średnio liczne	ujemny	ujemny	PSN
15	038/87	ujemny	dodatni	ujemny	liczne	ujemny	ujemny	PSN
16	048/87	ujemny	ujemny	ujemny	bardzo liczne	ujemny	ujemny	CC
17	055/87	ujemny	dodatni	dodatni	liczne	ujemny	ujemny	forceps
18	059/80	ujemny	ujemny	ujemny	liczne	ujemny	ujemny	forceps
19	061/81	ujemny	ujemny	ujemny	liczne	ujemny	ujemny	PSN
20	062/77	ujemny	ujemny	ujemny	pojedyncze	ujemny	ujemny	CC
21	069/78	ujemny	ujemny	ujemny	średnio liczne	ujemny	ujemny	PSN
22	070/83	ujemny	dodatni	ujemny	liczne	ujemny	ujemny	forceps
23	073/93	ujemny	dodatni	ujemny	średnio liczne	ujemny	ujemny	PSN
24	074/77	ujemny	ujemny	ujemny	liczne	ujemny	ujemny	PSN
25	078/85	ujemny	dodatni	dodatni	liczne	ujemny	ujemny	PSN
26	083/88	ujemny	ujemny	ujemny	liczne	ujemny	ujemny	PSN
27	084/82	ujemny	ujemny	ujemny	liczne	ujemny	ujemny	PSN
28	086/88	ujemny	ujemny	ujemny	średnio liczne	ujemny	ujemny	PSN
29	089/85	ujemny	ujemny	ujemny	liczne	ujemny	ujemny	PSN

Omówienie wyników Tab. 5.13.NP1

W grupie 29 pacjentek z nieprawidłową czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka u 9 pacjentek wykazano obecność *Gardnerella vaginalis*, co stanowi 31,03 %. W tej samej grupie *Clue cells* wykazano u 5 pacjentek, co stanowi 17,24%.

Tab. 5.14. NP2 (M.M.) Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu

Numer porządkowy	**Numer kodowy pacjentki**	***Lacto-bacillus***	***Gardnerella vaginalis***	**Clue cells**	***Candida species***	***Trichomonas vaginalis***	**Nosicielstwo *Streptococcus agalactiae***
1	**003/79**	**ujemny**	**ujemny**	**ujemny**	**liczne**	**ujemny**	**dodatni**
2	014/83	ujemny	dodatni	dodatni	średnio liczne	ujemny	ujemny
3	016/83	ujemny	ujemny	ujemny	średnio liczne	ujemny	ujemny
4	041/77	ujemny	dodatni	dodatni	liczne	ujemny	ujemny
5	087/87	ujemny	ujemny	ujemny	liczne	ujemny	ujemny
6	090/91	ujemny	dodatni	dodatni	bardzo liczne	ujemny	ujemny
7	107/76	ujemny	ujemny	ujemny	bardzo liczne	ujemny	ujemny
8	112/78	ujemny	dodatni	dodatni	liczne	ujemny	ujemny
9	116/86	ujemny	dodatni	dodatni	liczne	ujemny	ujemny
10	117/91	ujemny	dodatni	dodatni	liczne	ujemny	ujemny

Omówienie wyników Tab. 5.14.NP2

W grupie 10 pacjentek z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, które rodziły w innym szpitalu, u 6 wykazano obecność *Gardnerella vaginalis,* co stanowi 60%. W tej samej grupie *Clue cells* wykazano u 6 pacjentek, co stanowi 60%.

5.1.3. Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych (M.M.)

Tab. 5.15. PR1 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych (nieródek) z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy, vacuum- poród pochwowy z użyciem próżnociągu]

Numer porządkowy	Numer kodowy pacjentki	pH wydzieliny pochwowej	Test z 10% KOH	GBS w pochwie	GBS w odbycie	Sposób zakończenia ciąży
1	**028/86**	**4,1**	**ujemny**	**dodatni**	**dodatni**	**PSN**
2	**030/83**	**3,8**	**ujemny**	**dodatni**	**dodatni**	**PSN**
3	**037/93**	**3,8**	**ujemny**	**dodatni**	**dodatni**	**CC**
4	006/81	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
5	025/82	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
6	044/83	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
7	045/89	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	forceps
8	054/84	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
9	057/93	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
10	063/84	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
11	072/93	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	CC
12	075/82	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
13	077/85	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
14	080/88	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	CC
15	085/83	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	CC
16	092/82	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	forceps
17	095/93	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	vacuum
18	098/85	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	CC
19	099/83	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	CC
20	103/74	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	CC
21	105/77	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
22	108/91	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN

Omówienie wyników Tab. 5.15.PR1

W grupie 22 pacjentek-nieródek z prawidłową czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka u 3 pacjentek wykazano obecność GBS, co stanowi 13,66%. U wszystkich 3 pacjentek GBS występował zarówno w pochwie, jak i w odbycie. W grupie GBS-dodatnich pacjentek średnie pH wynosiło 3,9, natomiast w grupie

GBS-ujemnych pacjentek wynosiło 4,08. U wszystkich pacjentek (zarówno GBS-dodatnich, jaki i GBS-ujemnych) test z KOH był ujemny.

Tab. 5.16. PR2 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych (wieloródek) z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy]

Numer porządkowy	Numer kodowy pacjentki	pH wydzieliny pochwowej	Test z 10% KOH	GBS w pochwie	GBS w odbycie	Sposób zakończenia ciąży
1	**019/80**	**4,4**	**ujemny**	**dodatni**	**dodatni**	**PSN**
2	**009/81**	**5,0**	**ujemny**	**dodatni**	**ujemny**	**forceps**
3	**032/81**	**4,8**	**ujemny**	**dodatni**	**ujemny**	**PSN**
4	**036/70**	**4,4**	**ujemny**	**dodatni**	**ujemny**	**PSN**
5	001/81	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
6	018/81	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
7	024/84	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
8	026/88	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
9	027/77	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
10	029/80	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
11	042/84	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
12	043/80	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	forceps
13	046/82	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	forceps
14	050/84	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
15	051/76	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
16	053/81	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	CC
17	056/85	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
18	060/82	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
19	068/83	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
20	082/90	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
21	088/85	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
22	091/84	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
23	096/78	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
24	104/77	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	CC
25	106/81	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
26	110/81	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	CC
27	118/79	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	CC

Omówienie Tab. 5.16.PR2

W grupie 27 pacjentek-wieloródek z prawidłową czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka, u 4 pacjentek wykazano obecność GBS, co stanowi 14,81%. U jednej spośród 4 pacjentek GBS występował zarówno

w pochwie, jak i w odbycie. W grupie GBS-dodatnich pacjentek średnie pH wynosiło 4,65, natomiast w grupie GBS-ujemnych pacjentek wynosiło 4,09. U wszystkich pacjentek (zarówno GBS-dodatnich, jaki i GBS-ujemnych) test z KOH był ujemny.

Tab. 5.17. PR3 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu

Numer porządkowy	Numer kodowy pacjentki	pH wydzieliny pochwowej	Test z 10% KOH	GBS w pochwie	GBS w odbycie	Liczba ciąż
1	**052/87**	**4,1**	**ujemny**	**dodatni**	**dodatni**	**1**
2	**079/72**	**4,1**	**ujemny**	**dodatni**	**dodatni**	**4**
3	**111/77**	**3,8**	**ujemny**	**dodatni**	**dodatni**	**1**
4	**011/88**	**5,0**	**ujemny**	**dodatni**	**ujemny**	**1**
5	**093/94**	**4,1**	**ujemny**	**dodatni**	**ujemny**	**1**
6	**101/89**	**3,8**	**ujemny**	**dodatni**	**ujemny**	**1**
7	**100/78**	**4,1**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**	**3**
8	004/86	5,0	ujemny	ujemny	ujemny	1
9	007/73	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	4
10	020/84	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	3
11	023/88	4,6	ujemny	ujemny	ujemny	2
12	040/88	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	1
13	049/89	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	1
14	058/90	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	2
15	065/79	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	
16	071/81	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	
17	076/90	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	
18	097/81	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	
19	114/83	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	

Omówienie wyników Tab. 5.17.PR3

W grupie 19 pacjentek z prawidłową czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka, które zakończyły ciążę porodem w innym szpitalu, u 7 pacjentek wykazano obecność GBS, co stanowi 36,84%. U 3 spośród 7 pacjentek GBS występował zarówno w pochwie, jak i w odbycie. W grupie GBS-dodatnich pacjentek średnie pH wynosiło 4,14, natomiast w grupie GBS-ujemnych pacjentek

wynosiło 4,12. U wszystkich pacjentek (zarówno GBS-dodatnich, jaki i GBS-ujemnych) test z KOH był ujemny.

Tab. 5.18. PO1 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN-poród siłami natury]

Numer porzą-dkowy	Numer kodowy pacjentki	pH wydzieliny pochwowej	Test z 10% KOH	GBS w pochwie	GBS w odbycie	Sposób zakończenia ciąży
1	**047/80**	**3,8**	**ujemny**	**dodatni**	**ujemny**	**PSN**
2	005/76	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
3	008/80	5,0	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
4	034/93	4,4	dodatni	ujemny	ujemny	PSN

Omówienie wyników Tab. 5.18.PO1

W grupie 4 pacjentek z pośrednią czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka, u 1 pacjentki wykazano obecność GBS, co stanowi 25%. W grupie GBS-ujemnych pacjentek średnie pH wynosiło 4,5. U 1 pacjentki test z KOH był dodatni, co stanowi 25%.

Tab. 5.19. PO2 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu

Numer porzą-dkowy	Numer kodowy pacjentki	pH wydzieliny pochwowej	Test z 10% KOH	GBS w pochwie	GBS w odbycie	Liczba ciąż
1	**113/86**	**4,4**	**ujemny**	**ujemny**	**dodatni**	**2**
2	033/82	4,1	dodatni	ujemny	ujemny	3
3	081/86	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	2
4	094/73	4,8	dodatni	ujemny	ujemny	5
5	102/89	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	4
6	109/81	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	2
7	115/83	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	3

Omówienie wyników Tab. 5.19.PO2

W grupie 7 pacjentek z pośrednią czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka, które zakończyły ciążę porodem w innym szpitalu, u 1 pacjentki wykazano obecność GBS, co stanowi 14,29%. W grupie GBS-ujemnych pacjentek pH wynosiło 4,32. U 2 pacjentek test z KOH był dodatni, co stanowi 28,57%.

Tab. 5.20. NP1 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy]

Numer porządkowy	Numer kodowy pacjentki	pH wydzieliny pochwowej	Test z 10% KOH	GBS w pochwie	GBS w odbycie	Sposób zakończenia ciąży
1	**013/79**	**4,4**	**ujemny**	**dodatni**	**dodatni**	**CC**
2	**031/78**	**4,4**	**ujemny**	**dodatni**	**dodatni**	**PSN**
3	**066/77**	**4,4**	**ujemny**	**dodatni**	**dodatni**	**CC**
4	**039/86**	**4,4**	**ujemny**	**dodatni**	**ujemny**	**CC**
5	**064/86**	**4,4**	**ujemny**	**dodatni**	**ujemny**	**PSN**
6	**067/81**	**4,1**	**ujemny**	**dodatni**	**ujemny**	**PSN**
7	002/84	5,0	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
8	010/76	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
9	012/75	5,0	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
10	015/84	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
11	017/92	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
12	021/77	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
13	022/90	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	CC
14	035/79	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
15	038/87	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
16	048/87	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	CC
17	055/87	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	forceps
18	059/80	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	forceps
19	061/81	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
20	062/77	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	CC
21	069/78	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
22	070/83	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	forceps
23	073/93	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
24	074/77	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
25	078/85	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
26	083/88	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
27	084/82	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
28	086/88	3,8	ujemny	ujemny	ujemny	PSN
29	089/85	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	PSN

Omówienie wyników Tab. 5.20.NP1

W grupie 29 pacjentek z nieprawidłową czystością mikrobiologiczna pochwy wg Pawlaczyka, u 6 pacjentkek wykazano obecność GBS, co stanowi 20,69%. U 3 spośród 6 pacjentek GBS występował zarówno w pochwie, jak i w odbycie. W grupie GBS-dodatnich pacjentek średnie pH wynosiło 4,35, natomiast w grupie GBS-ujemnych pacjentek wynosiło 4,22. U wszystkich pacjentek (zarówno GBS-dodatnich, jaki i GBS-ujemnych) test z KOH był ujemny.

Tab. 5.21. NP2 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu

Numer porządkowy	Numer kodowy pacjentki	pH wydzieliny pochwowej	Test z 10% KOH	GBS w pochwie	GBS w odbycie	Liczba ciąż
1	**003/79**	**4,1**	**ujemny**	**dodatni**	**dodatni**	**1**
2	014/83	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	2
3	016/83	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	2
4	041/77	4,1	dodatni	ujemny	ujemny	2
5	087/87	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	5
6	090/91	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	1
7	107/76	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	2
8	112/78	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	3
9	116/86	4,1	ujemny	ujemny	ujemny	1
10	117/91	4,4	ujemny	ujemny	ujemny	2

Omówienie wyników Tab. 5.21.NP2

W grupie 10 pacjentek z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy wg Pawlaczyka, które zakończyły ciążę porodem w innym szpitalu, u 1 pacjentki wykazano obecność GBS (zarówno w pochwie, jak i w odbycie), co stanowi 10%. W grupie GBS-ujemnych pacjentek pH wynosiło 4,23. U 1 pacjentki test z KOH był dodatni, co stanowi 10%.

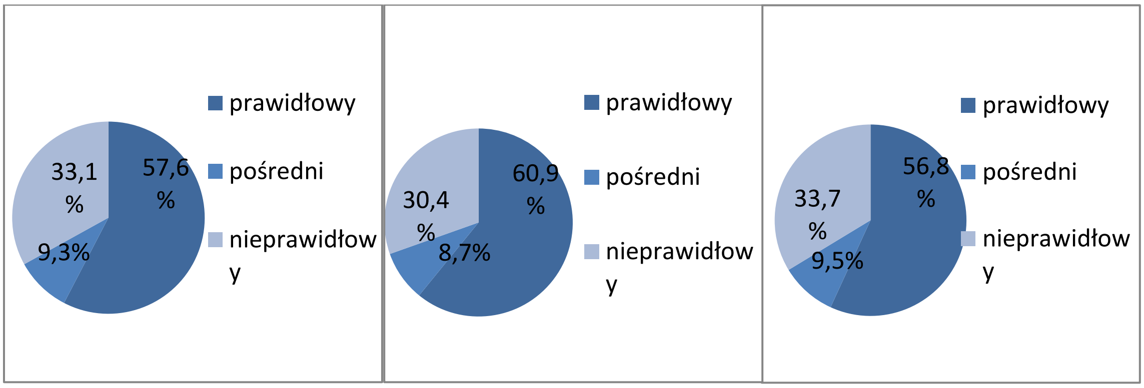
5.1.4. Statystyczna analiza wyników kliniczno-mikrobiologicznej oceny czystości pochwy w aspekcie nosicielstwa GBS u kobiet w ciąży (M.M.)

Tab. 5.22. (M.M.) Statystyczna analiza wyników kliniczno-mikrobiologicznej oceny czystości pochwy wg Pawlaczyka (prawidłowa, pośrednia, nieprawidłowa) w aspekcie nosicielstwa GBS u kobiet w ciąży

Czystość pochwy	**W grupie 118 pacjentek w ciąży**	**W grupie 23 pacjentek w ciąży z GBS+**	**W grupie 95 pacjentek w ciąży z GBS-**
Prawidłowa	68 pacjentek	14 pacjentek	54 pacjentek
Pośrednia	11 pacjentek	2 pacjentek	9 pacjentek
nieprawidłowa	39 pacjentek	7 pacjentek	32 pacjentek

Omówienie wyników Tab. 5.22

Powyższe wyniki jednoznacznie wskazują, że aż u 33 kobiet w ciąży stwierdzono nieprawidłową czystość mikrobiologiczną pochwy.



a) u 118 pacjentek w ciąży

b) u 23 pacjentek w ciąży, nosicielek GBS

c) u 95 pacjentek w ciąży z GBS ujemnym

Ryc. 5.1 (M.M.) Ocena procentowa klasyfikacji czystości pochwy wg Pawlaczyka u pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa GBS

Omówienie wyników Ryc. 5.1

Na powyższej rycinie zaprezentowano procentowy udział pacjentek z odpowiednio prawidłową, pośrednią i nieprawidłową czystością pochwy wg Pawlaczyka. W grupie GBS-dodatnich pacjentek odsetek prawidłowych, pośrednich i nieprawidłowych wyników czystości pochwy kształtował się odpowiednio: 60,9%, 8,7% i 30,4%. W grupie GBS-ujemnych pacjentek odpowiednio: 56,8%, 9,5% i 33,7%, co sugeruje brak związku pomiędzy czystością mikrobiologiczną pochwy a nosicielstwem *Streptococcus agalactiae*

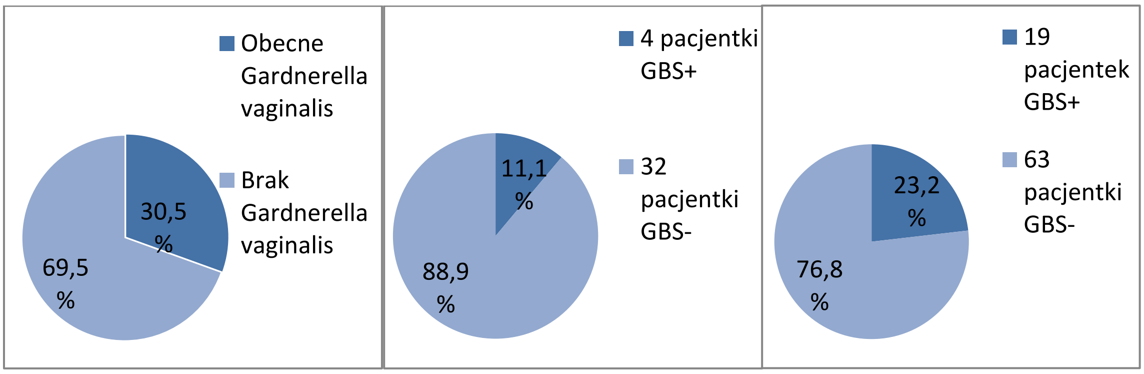
5.1.5. Statystyczna analiza wyników mikrobiologicznej oceny biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych (M.M.)

Tab. 5.23. (M.M.) Statystyczna analiza wyników mikrobiologicznej oceny biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae*

Patogeny w pochwie	**W grupie 118 pacjentek w ciąży**	**W grupie 23 pacjentek z GBS+**	**W grupie 95 pacjentek z GBS-**
Obecne *Gardnerella vaginalis*	u 36 pacjentek	u 4 pacjentek	u 32 pacjentek
Brak *Gardnerella vaginalis*	u 82 pacjentek	u 19 pacjentek	u 63 pacjentek
Obecne *Candida species*	u 36 pacjentek	u 7 pacjentek	u 29 pacjentek
Brak *Candida species*	u 82 pacjentek	u 16 pacjentek	u 66 pacjentek
Obecny *Trichomonas vaginalis*	u 0 pacjentek	u 0 pacjentek	u 0 pacjentek
Brak *Trichomonas vaginalis*	u 118 pacjentek	u 23 pacjentek	u 95 pacjentek

Omówienie wyników Tab. 5.23

Powyższe wyniki wskazują, że dominującymi patogenami w pochwie kobiet w ciąży *były Gardnerella vaginalis* i *Candida spp.* U żadnej pacjentki w ciąży nie stwierdzono obecności rzęsistka pochwowego.



a) Ocena % obecności *G. vaginalis* u 118 pacjentek

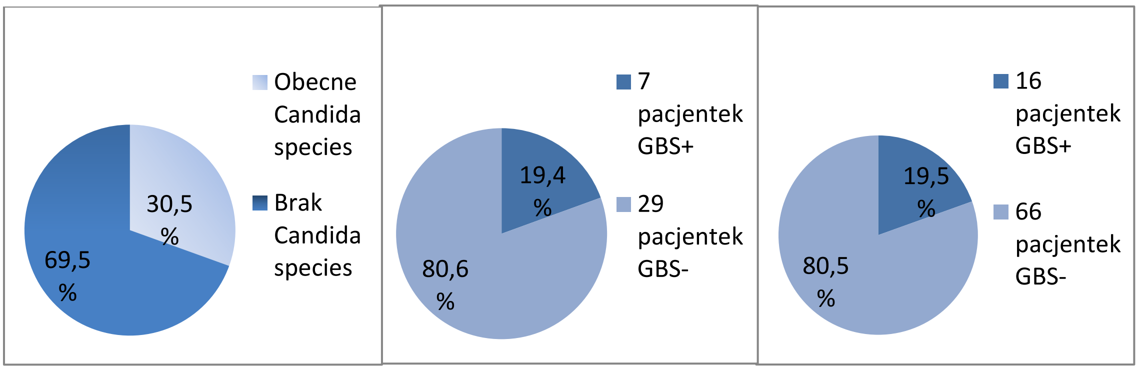
b) Ocena % nosicielstwa GBS u 36 pacjentek z *G. vaginalis*

c) Ocena % nosicielstwa GBS u 82 pacjentek z brakiem *G. vaginalis*

Ryc. 5.2. (M.M) Ocena procentowa występowania Gardnerella vaginalis w pochwie pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa GBS

Omówienie wyników Ryc. 5.2

Na powyższej rycinie zaprezentowano obecność *G. vaginalis* w badanej grupie 118 kobiet ciężarnych. Powyższa bakteria występowała u 30,5% badanych kobiet. W grupie pacjentek, u których stwierdzono *G. vaginalis*, odsetek kobiet GBS-dodatnich wynosi 11,1%, natomiast w grupie pacjentek, u których nie wyhodowano *G. vaginalis*, odsetek nosicielstwa GBS dwukrotnie wzrasta i wynosi 23,2%. Przemawia to za brakiem związku pomiędzy obecnością w pochwie obydwu bakterii. Wykazanie braku obecności w pochwie *Gardnerella vaginalis* nie pozwala na potwierdzenie lub wykluczenie nosicielstwa *Streptococcus agalactiae.*



a) Ocena % obecności *Candida species* u 118 pacjentek

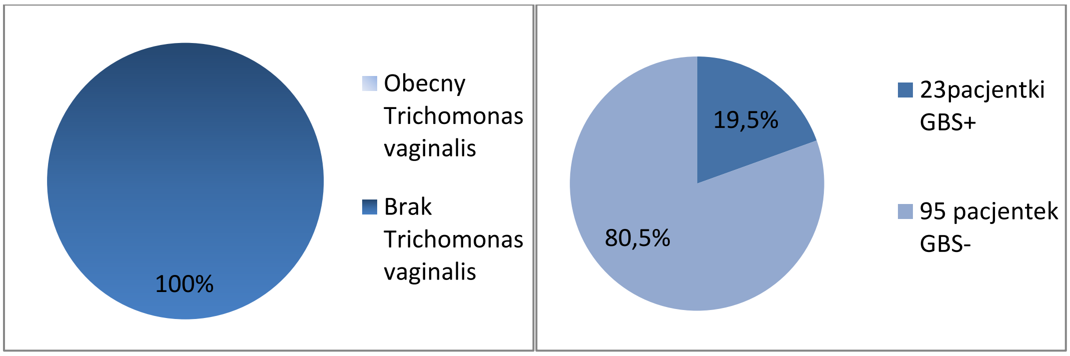
b) Ocena % nosicielstwa GBS u 36 pacjentek z obecnym *Candida species*

c) Ocena % nosicielstwa GBS u 82 pacjentek z brakiem *Candida species*

Ryc. 5.3. (M.M.) Ocena procentowa występowania Candida species w pochwie pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa GBS

Omówienie wyników Ryc. 5.3

Na powyższej rycinie zaprezentowano obecność *Candida sp*. w badanej grupie 118 kobiet ciężarnych. Powyższy patogen występował u 30,5% badanych kobiet. W grupie pacjentek, u których stwierdzono *Candida sp*., odsetek kobiet GBS-dodatnich wynosi 19,4%, natomiast w grupie pacjentek, u których nie stwierdzono obecności *Candida sp*., odsetek nosicielstwa GBS nie zmienia się i wynosi 19,5%. Odsetek kobiet w ciąży GBS-dodatnich (19,4%) jest identyczny u pacjentek, u których wykazano lub nie wykazano obecności Candida spp., co jednoznacznie przemawia za brakiem związku pomiędzy nosicielstwem paciorkowca grupy B, a czystością mikrobiologiczną pochwy.



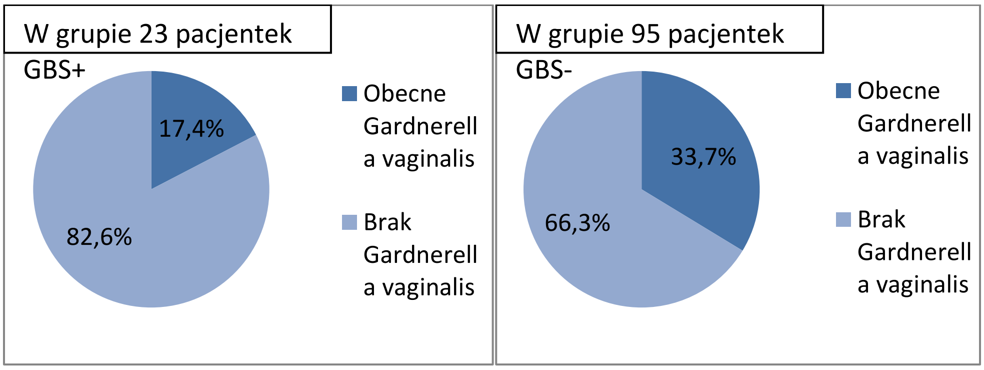
a) Ocena % obecności *Trichomonas vaginalis* u 118 pacjentek

b) Ocena % nosicielstwa GBS u 118 pacjentek z brakiem *Trichomonas vaginalis*

Ryc. 5.4. (M.M.) Ocena procentowa występowania Trichomonas vaginalis w pochwie pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa GBS

Omówienie wyników Ryc. 5.4

Na powyższej rycinie zaprezentowano wyniki kontroli obecności *Trichomonas vaginalis* w badanej grupie 118 kobiet ciężarnych. Powyższego patogenu nie znaleziono u żadnej z badanych kobiet. Odsetek nosicielstwa GBS u kobiet, u których nie stwierdzono obecności *Trichomonas vaginalis* wynosił 19,5% i był zbliżony do wartości odsetka nosicielstwa GBS przy braku obecności *Gardnerella vaginalis* i *Candida spp.* Potwierdza to brak związku pomiędzy nosicielstwem GBS a czystością mikrobiologiczną pochwy.



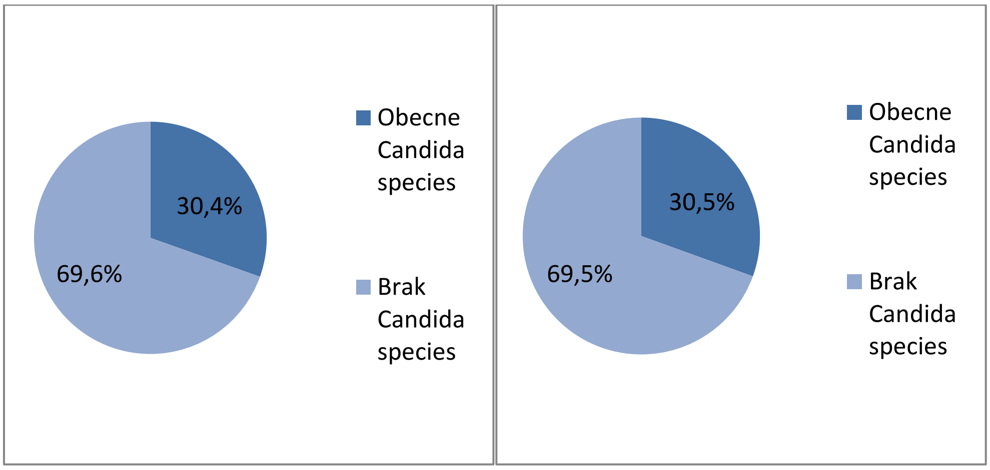
a) Ocena % występowania *Gardnerella vaginalis* u wszystkich 23 pacjentek nosicielek *S. agalactiae* (GBS+)

b) Ocena % występowania *Gardnerella vaginalis* u wszystkich 95 pacjentek, które nie były nosicielkami *S. agalactiae* (GBS-)

Ryc. 5.5. (M.M.) Ocena procentowa występowania *Gardnerella vaginalis* w pochwie pacjentek w ciąży, w zależności od tego, czy były lub nie były nosicielkami *Streptococcus agalactiae*

Omówienie wyników Ryc. 5.5

Na powyższej rycinie zaprezentowano obecność *G. vaginalis* w grupach odpowiednio 23 kobiet ciężarnych z obecnością GBS i 95 kobiet z GBS ujemnym. Powyższa bakteria występowała u 17,4% badanych kobiet GBS-dodatnich, natomiast w grupie kobiet GBS- ujemnych występowała dwukrotnie częściej aż u 33,7%. Stwierdzenie obecności *Gardnerella vaginalis* w pochwie nie pozwala ani potwierdzić ani wykluczyć równoczesnego nosicielstwa GBS



a) Ocena % występowania *Candida species* u wszystkich 23 pacjentek nosicielek *S. agalactiae* (GBS+)

b) Ocena % występowania *Candida species* u wszystkich 95 pacjentek, które nie były nosicielkami *S. agalactiae* (GBS-)

Ryc. 5.6. (M.M.) Ocena procentowa występowania *Candida species* w pochwie pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa lub braku nosicielstwa *Streptococcus agalactiae*

Omówienie wyników Ryc. 5.6

Na powyższej rycinie zaprezentowano obecność *Candida species* w grupach odpowiednio 23 kobiet ciężarnych z obecnością GBS i 95 kobiet z GBS ujemnym.. Powyższy patogen występował u 30,4% badanych kobiet GBS-dodatnich, a w grupie kobiet GBS- ujemnych występował u 30,5%. Powyższy patogen występował w obydwu grupach ciężarnych kobiet z identyczną częstością, wynoszącą

u nosicielek GBS 30,4%, a przy braku GBS 30,5%. Wykazanie obecności *Candida spp*. W pochwie kobiet ciężarnych nie pozwala ani potwierdzić ani wykluczyć nosicielstwa GBS.

5.1.6. Statystyczna analiza wyników laboratoryjnej oceny ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania *Streptococcus agalactiae* u kobiet ciężarnych (M.M.)

Tab. 5.24. (M.M.) Statystyczna analiza wyników laboratoryjnej oceny ekosystemu pochwy

Ekosystem pochwy	**W grupie 118 pacjentek w ciąży**	**W grupie 23 pacjentek z GBS+**	**W grupie 95 pacjentek z GBS-**
Obecne pałeczki *Lactobacillus*	u 73 pacjentek	u 15 pacjentek	u 58 pacjentek
Brak pałeczek *Lactobacillus*	u 45 pacjentek	u 8 pacjentek	u 37 pacjentek
Prawidłowe pH pochwy pH 3,8-4,2	u 81 pacjentek	u 12 pacjentek	u 69 pacjentek
Patologiczne pH pochwy pH>4,2	u 37 pacjentek	u 11 pacjentek	u 26 pacjentek
Pozytywny test z KOH	u 4 pacjentek	u 0 pacjentek	u 4 pacjentek
Ujemny test z KOH	u 114 pacjentek	u 23 pacjentek	u 91 pacjentek
Obecne Clue cells	u 22 pacjentek	u 3 pacjentek	u 19 pacjentek
Brak Clue cells	u 96 pacjentek	u 20 pacjentek	u 76 pacjentek

Omówienie wyników Tab. 5.24

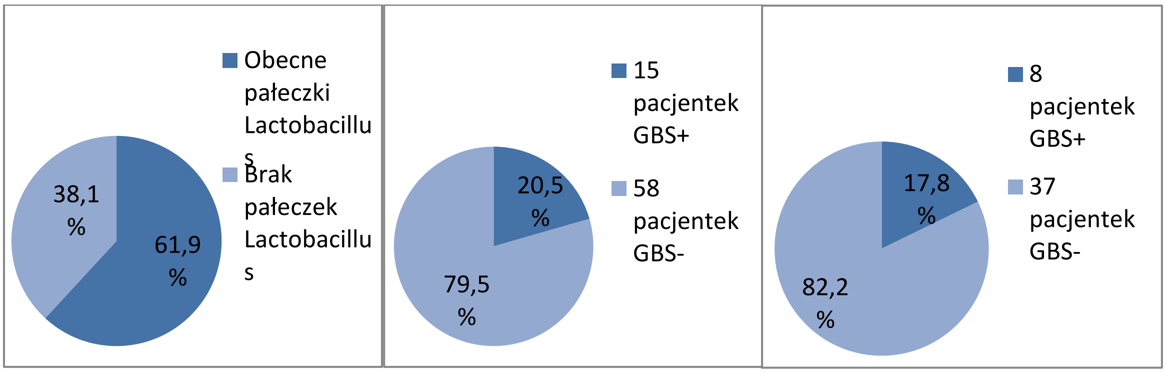
Powyższe wyniki potwierdzają, że u większości kobiet w ciąży istnieje prawidłowy ekosystem pochwy, co wyraża się obecnością pałeczek *Lactobacillus*, pH 3,8-4,2, ujemnym wynikiem testu z KOH i brakiem obecności komórek jeżowych.

Tab. 5.25. (M.M.) Statystyczna analiza wyników miejsca występowania *Streptococcus agalactiae* u 23 kobiet ciężarnych

GBS + w pochwie	**GBS + w odbycie**	**GBS + w pochwie i odbycie**
10 pacjentek	2 pacjentki	11 pacjentek

Omówienie wyników Tab. 5.25

Powyższe wyniki jednoznacznie wskazują, że do wiarygodnego potwierdzenia nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* konieczne jest równoczesne pobranie wymazu zarówno z pochwy, jak i z odbytu.



a) Ocena % obecności *Lactobacillus* u 118 pacjentek

b) Ocena % nosicielstwa GBS u 73 pacjentek z obecnym *Lactobacillus*

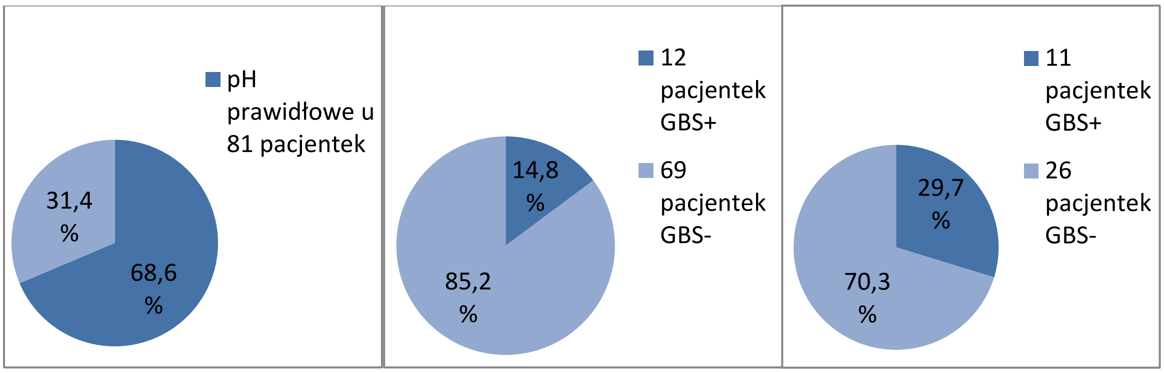
c) Ocena % nosicielstwa GBS u 45 pacjentek z brakiem *Lactobacillus*

Ryc. 5.7. (M.M.) Ocena procentowa występowania *Lactobacillus* w pochwie pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae*

Omówienie wyników Ryc. 5.7

Na powyższej rycinie zaprezentowano obecność pałeczek *Lactobacillus* w badanej grupie 118 kobiet ciężarnych. Powyższa bakteria występowała u 61,9% badanych kobiet. W grupie pacjentek, u których występował *Lactobacillus*, odsetek

kobiet GBS-dodatnich wynosi 20,5%, natomiast w grupie pacjentek z brakiem pałeczek *Lactobacillus*, odsetek wynosi odpowiednio 17,8%, co sugeruje, że obecność pałeczek *Lactobacillus* nie zapobiega nosicielstwu paciorkowców grupy B.



a) ocena % pH pochwy u 118 pacjentek

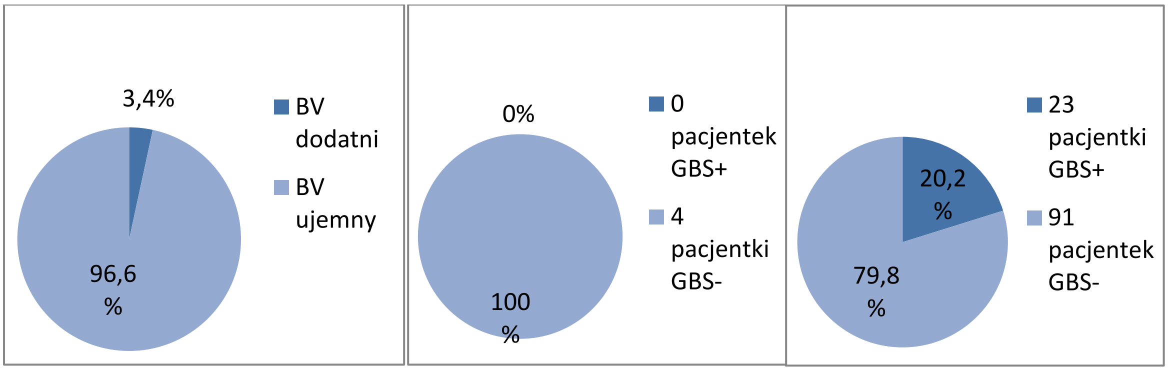
b) Ocena % nosicielstwa GBS u 81 pacjentek z prawidłowym pH pochwy

c) Ocena % nosicielstwa GBS u 37 pacjentek z nieprawidłowym pH

Ryc. 5.8. (M.M.) Ocena procentowa pH pochwy pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae*

Omówienie wyników Ryc. 5.8

Na powyższej rycinie zaprezentowano procentowy udział prawidłowego i nieprawidłowego pH pochwy w badanej grupie 118 kobiet ciężarnych. Prawidłowe pH stwierdzono u 68,6% badanych kobiet, 31,4% badanych kobiet miało nieprawidłowe pH. W grupie pacjentek z prawidłowym pH odsetek kobiet GBS-dodatnich wynosi 14,8%, natomiast w grupie pacjentek z nieprawidłowym pH odsetek ten był dwukrotnie wyższy i wynosił 29,7%. Sugeruje to, że pH pochwy powyżej 4,2 sprzyja nosicielstwu paciorkowców grupy B.



a) ocena % testu z KOH u 118 pacjentek

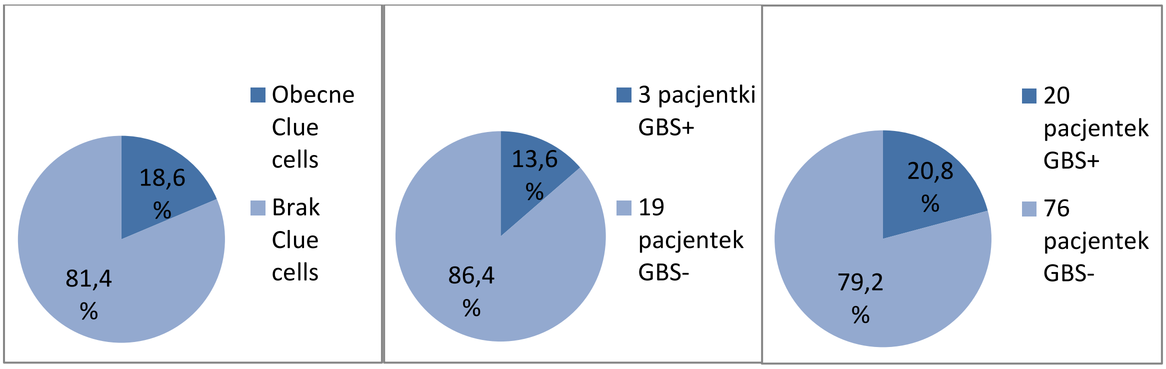
b) Ocena % nosicielstwa GBS u 4 pacjentek z dodatnim testem z KOH

c) Ocena % nosicielstwa GBS u 114 pacjentek z ujemnym testem z KOH

Ryc. 5.9. (M.M.) Ocena procentowa testu z KOH u pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae*

Omówienie wyników Ryc. 5.9

Na powyższej rycinie zaprezentowano procentowy udział dodatniego i ujemnego testu z KOH w badanej grupie 118 kobiet ciężarnych. Dodatni test z KOH stwierdzono u 3,4% badanych kobiet. U żadnej z 4 pacjentek z dodatnim testem KOH nie wyhodowano GBS. Niestety aż 20,2% pacjentek z ujemnym wynikiem testu z KOH było nosicielkami paciorkowca grupy B, co wyklucza ten test jako różnicujący pacjentki z GBS+ z pacjentkami z GBS-.



a) Ocena % występowania Clue cells u 118 pacjentek

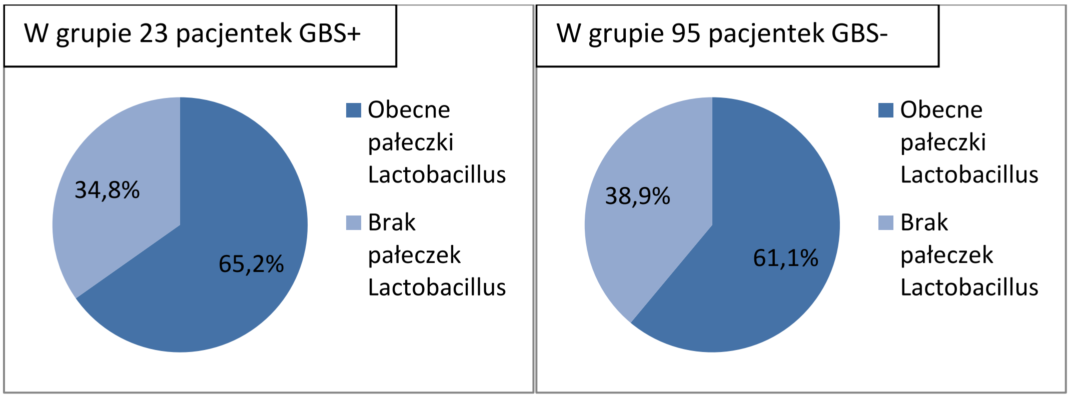
b) Ocena % nosicielstwa GBS u 22 pacjentek z obecnością Clue cells

c) Ocena % nosicielstwa GBS u 96 pacjentek z brakiem Clue cells

Ryc. 5.10. (M.M.) Ocena procentowa występowania Clue cells u pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae*

Omówienie wyników Ryc. 5.10

Na powyższej rycinie zaprezentowano procentowy udział występowania Clue cells w badanej grupie 118 kobiet ciężarnych. Obecność Clue cells stwierdzono u 18,6% badanych kobiet, u 81,4% badanych kobiet nie stwierdzono ich obecności. W grupie pacjentek z obecnością Clue cells odsetek kobiet GBS-dodatnich wynosi 13,6%, natomiast w grupie pacjentek u których nie stwierdzono ich obecności odsetek wynosi aż 20,8%. Sugeruje to, że brak komórek jeżowych w pochwie nie pozwala wykluczyć nosicielstwa paciorkowców grupy B.



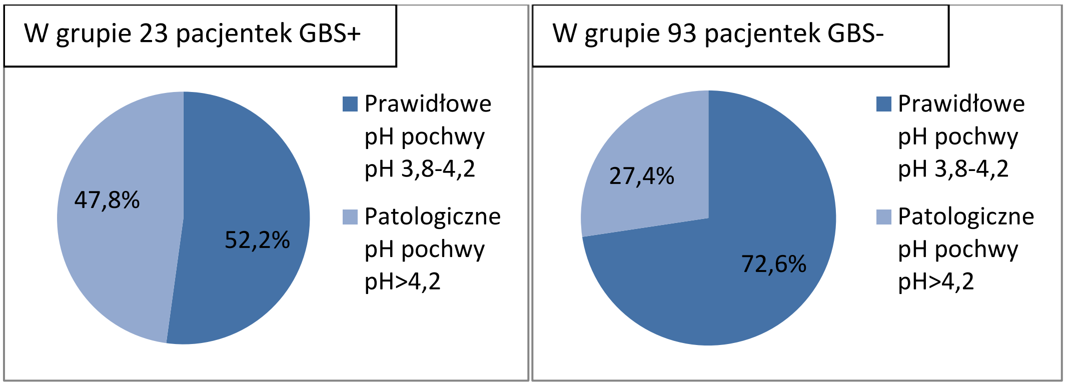
a) Ocena % występowania *Lactobacillus* u wszystkich 23 pacjentek nosicielek S. agalactiae (GBS+)

b) Ocena % występowania *Lactobacillus* u wszystkich 95 pacjentek, które nie były nosicielkami S. agalactiae (GBS-)

Ryc. 5.11. (M.M.) Ocena procentowa występowania *Lactobacillus* w pochwie pacjentek w ciąży, w zależności od tego, czy były lub nie były nosicielkami *Streptococcus agalactiae*

Omówienie wyników Ryc. 5.11

Na powyższej rycinie zaprezentowano obecność pałeczek *Lactobacillus* w grupach odpowiednio 23 kobiet ciężarnych z obecnością GBS i 95 kobiet z GBS ujemnym. Powyższa bakteria występowała u 65,2% badanych kobiet GBS-dodatnich i u 61,1% kobiet GBS-ujemnych, *Lactobacillus* nie zapobiega nosicielstwu *Streptococcus agalactiae*



a) Ocena % pH pochwy u wszystkich 23 pacjentek nosicielek *S. agalactiae* (GBS+)

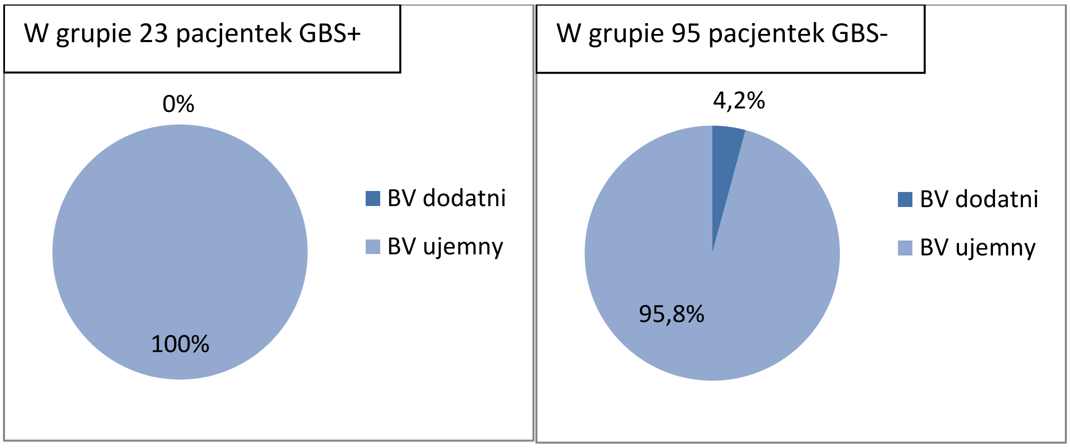
b) Ocena % pH pochwy u wszystkich 95 pacjentek, które nie były nosicielkami *S. agalactiae* (GBS-)

Ryc. 5.12. (M.M.) Ocena procentowa pH pochwy u pacjentek w ciąży, w zależności od tego, czy były lub nie były nosicielkami *Streptococcus agalactiae*

Omówienie wyników Ryc. 5.12

Na powyższej rycinie zaprezentowano procentowy udział prawidłowego i nieprawidłowego pH pochwy w grupach odpowiednio 23 kobiet ciężarnych z obecnością GBS i 95 kobiet z GBS ujemnym. Patologiczne pH pochwy powyżej 4.2 występowało

u 47,8% kobiet GBS-dodatnich i było dwukrotnie częstsze niż u kobiet GBS-ujemnych 27,4%.



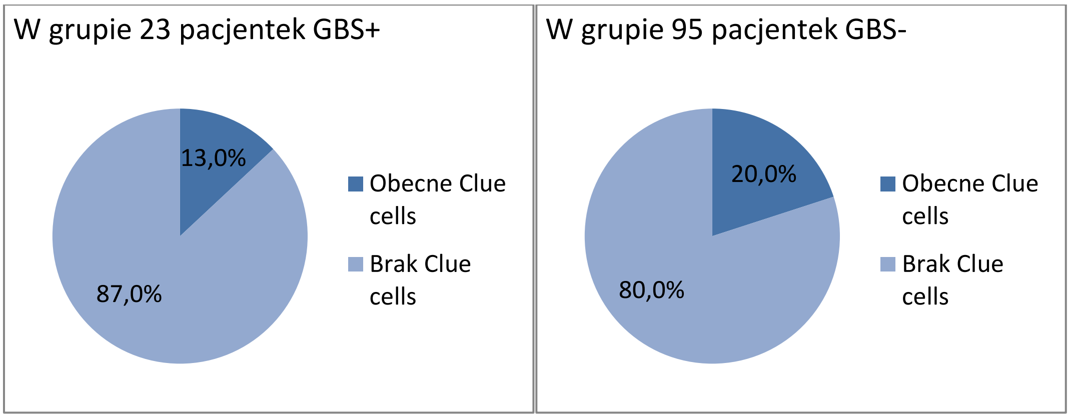
a) Ocena % testu z KOH u wszystkich 23 pacjentek nosicielek *S. agalactiae* (GBS+)

b) Ocena % testu z KOH u wszystkich 95 pacjentek, które nie były nosicielkami *S. agalactiae* (GBS-)

Ryc. 5.13. (M.M) Ocena procentowa testu z KOH u pacjentek w ciąży, w zależności od tego, czy były lub nie były nosicielkami *Streptococcus agalactiae*

Omówienie wyników Ryc. 5.13

Na powyższej rycinie zaprezentowano procentowy udział dodatniego i ujemnego testu z KOH w grupach odpowiednio 23 kobiet ciężarnych z obecnością GBS i 95 kobiet z GBS ujemnym. Ujemny wynik testu z KOH otrzymano u wszystkich 23 nosicielek *Streptococcus agalactiae* i tylko u 95,% pacjentek z GBS-ujemnym, co wyklucza ten test jako różnicujący pacjentki GBS-dodatnie i GBS-ujemne.



a) Ocena % występowania Clue cells u wszystkich 23 pacjentek nosicielek *S. agalactiae* (GBS+)

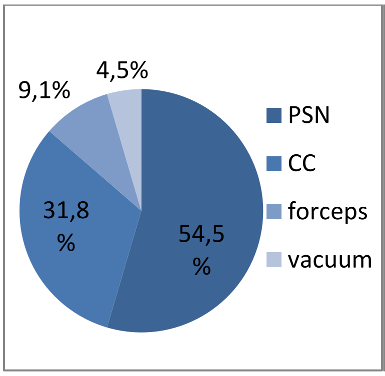
b) Ocena % występowania Clue cells u wszystkich 95 pacjentek, które nie były nosicielkami *S. agalactiae* (GBS-)

Ryc. 5.14. (M.M.) Ocena procentowa występowania Clue cells u pacjentek w ciąży, w zależności od tego, czy były lub nie były nosicielkami *Streptococcus agalactiae*

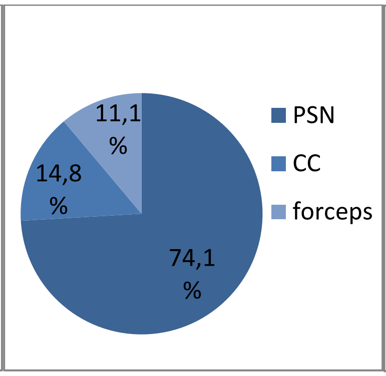
Omówienie wyników Ryc. 5.14

Na powyższej rycinie zaprezentowano obecność Clue cells w grupach odpowiednio 23 kobiet ciężarnych z obecnością GBS i 95 kobiet z GBS ujemnym. Obecność Clue cells stwierdzono u 13% badanych kobiet GBS-dodatnich i aż u 20% kobiet GBS- ujemnych, co wskazuje że wykrycie obecności w pochwie komórek jeżowych nie pozwala ani potwierdzić, ani też wykluczyć nosicielstwa *Streptococcus agalactiae*.

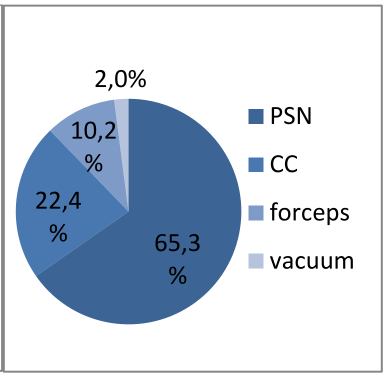
5.1.7. Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka u kobiet ciężarnych z uwzględnieniem sposobu zakończenia ciąży (M.M.)



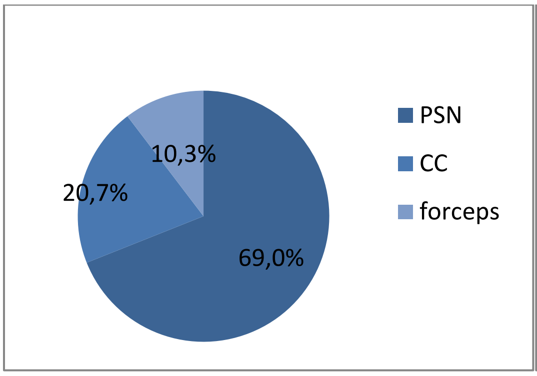
a) Sposób ukończenia porodu u 22 pierwiastek z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy



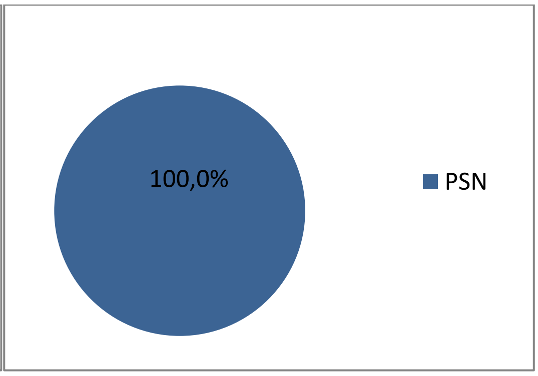
b) Sposób ukończenia porodu u 27 wieloródek z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy



c) Sposób ukończenia porodu u 49 kobiet w ciąży z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy



d) Sposób ukończenia porodu u 4 pacjentek z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy



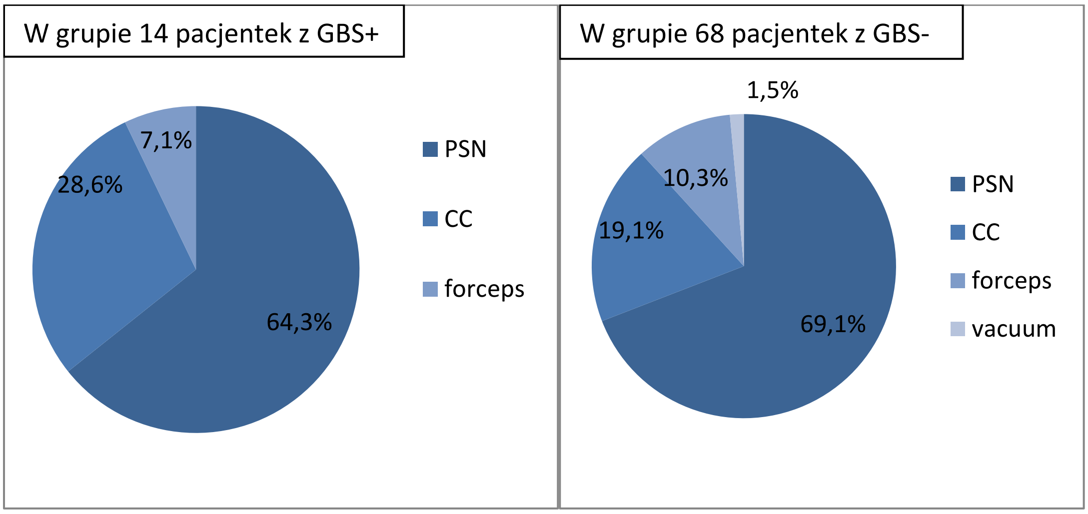
e) Sposób ukończenia porodu u 29 pacjentek z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy

Ryc. 5.15. (M.M.) Ocena procentowa sposobu ukończenia ciąży u 82 kobiet ciężarnych będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny, z uwzględnieniem klasyfikacji czystości pochwy wg Pawlaczyka

Omówienie wyników Ryc. 5.15

Na powyższych rycinach zaprezentowano sposób zakończenia ciąży u kobiet z prawidłową, pośrednią i nieprawidłową czystością mikrobiologiczna pochwy wg

Pawlaczyka. U kobiet z prawidłową czystością pochwy 65,3% urodziło siłami natury, 12,2% zakończyło poród operacją pochwową, a u 22,4% zakończono poród cięciem cesarskim. Dzieląc tę grupę na pierwiastki i wieloródki stwierdzono odpowiednio u pierwiastek 54,5% porodów siłami natury w stosunku do 74,1% u wieloródek, 13,6% porodów operacją pochwową w stosunku do 11,1% u wieloródek i 31,8% cięć cesarskich w stosunku do 14,8% u wieloródek. U kobiet z pośrednią czystością pochwy 69% urodziło siłami natury, 10,3% zakończyło poród operacją pochwową, a u 20,7% zakończono poród cięciem cesarskim. Wszystkie 29 kobiet z nieprawidłową czystością pochwy urodziły siłami natury. Uzyskane wyniki wskazują, że czystość mikrobilogiczna pochwy u kobiet ciężarnych nie ma decydującego wpływu na sposób zakończenia ciąży.



a) Sposób ukończenia porodu u 14 pacjentek z dodatnim wynikiem GBS

b) Sposób ukończenia porodu u 68 pacjentek z ujemnym wynikiem GBS

Ryc. 5.16. (M.M.) Ocena procentowa sposobu ukończenia ciąży u 82 kobiet ciężarnych będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny, z uwzględnieniem obecności lub braku GBS

Omówienie wyników Ryc. 5.16

Na powyższych rycinach zaprezentowano sposób zakończenia ciąży u kobiet z dodatnim i ujemnym wynikiem badania GBS. U kobiet z dodatnim wynikiem 64,3% urodziło siłami natury, 7,1% zakończyło poród operacją pochwową,

a u 28,6% zakończono poród cięciem cesarskim. U kobiet z ujemnym wynikiem badania GBS 69,1% urodziło siłami natury, 11,8% zakończyło poród operacją pochwową, a u 19,1% zakończono poród cięciem cesarskim. Uzyskane wyniki wskazują, że fakt nosicielstwa paciorkowców grupy B nie zmienia odsetka porodów siłami natury.

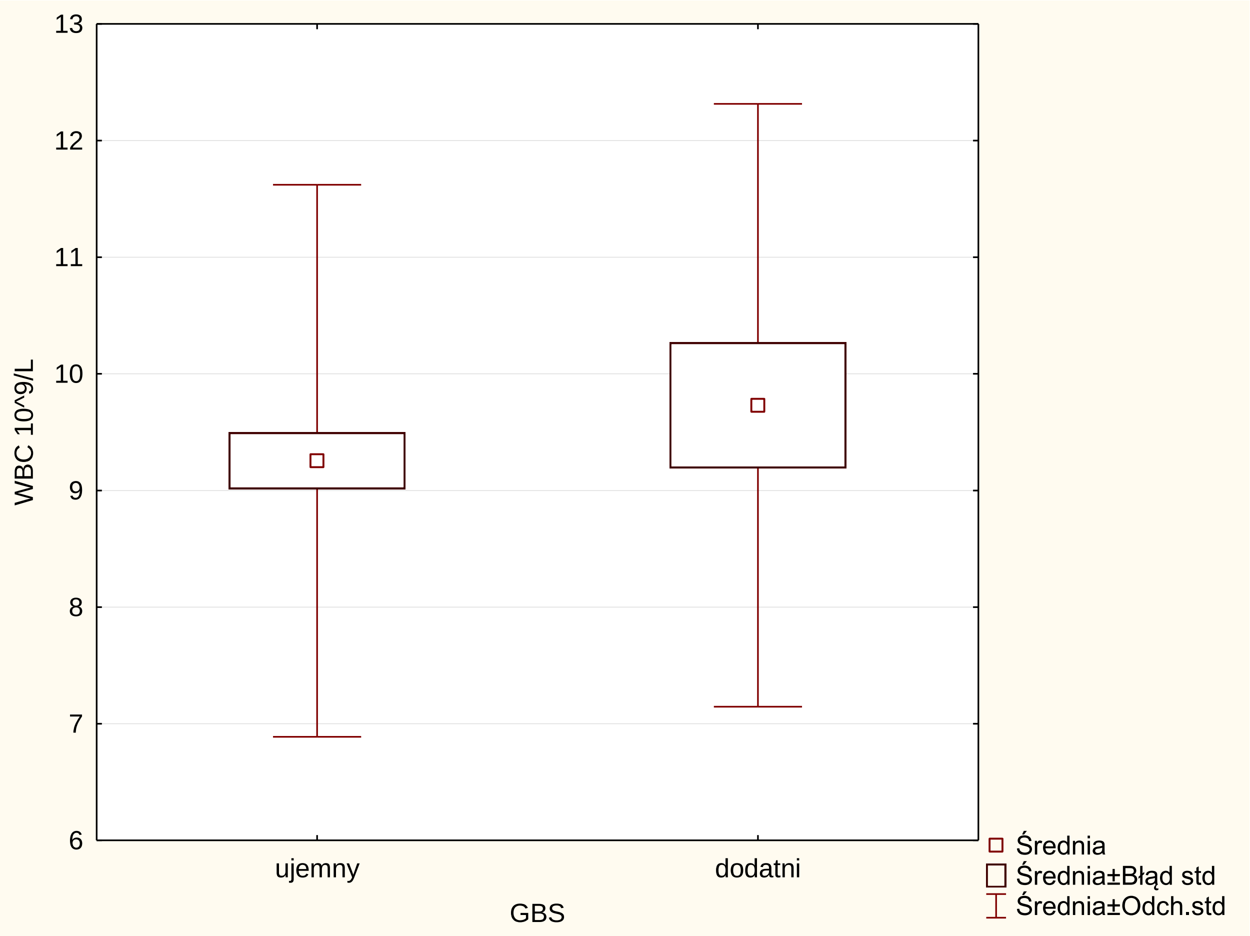
5.2. Biochemiczne wyniki stanu zapalnego we krwi u kobiet ciężarnych (A.B.)

5.2.1. Biochemiczne wykładniki stanu zapalnego u kobiet ciężarnych z uwzględnieniem nosicielstwa *Streptoccocus agalactiae* (A.B.)

Tab. 5.26. (A.B.) Charakterystyka opisowa kobiet badanych w 35-37 tygodniu ciąży nosicielek GBS (GBS+) oraz kobiet nie będących nosicielkami (GBS-) oraz porównanie grup badanych testem U Mann-Whitney'a (różnice istotne statystycznie, gdy p<0,05, ns-nieistotne statystycznie)

	GBS	N	Średnia	Odch.std	Mediana	Minimum	Maksimum	25,000 - Percentyl	75,000 - Percentyl	p
Wiek	GBS-	95	28	5	28	18	39	24	31	
Lata	GBS+	23	29	6	30	18	41	25	33	**0,41**
Tydzień ciąży	GBS-	95	36	1	36	34	37	35	37	
	GBS+	23	36	1	36	35	37	35	37	**0,76**
WBC	GBS-	95	9,19	2,16	8,80	3,70	15,40	7,90	10,30	
10^9/L	GBS+	23	9,73	2,58	9,30	5,60	15,80	7,90	11,50	**0,45**
hsCRP mg/L	GBS-	95	3,66	2,21	3,24	0,31	9,98	1,92	5,04	
	GBS+	23	3,18	1,78	2,93	0,92	8,58	1,94	3,89	**0,37**
TNF-α	GBS-	95	2,34	0,93	2,22	0,79	6,92	1,69	2,80	**0,19**
pg/mL	GBS+	23	2,11	0,81	2,07	0,98	5,00	1,69	2,25	
IL-6	GBS-	95	3,82	3,39	2,38	0,58	15,19	1,60	5,50	
pg/mL	GBS+	23	3,26	3,24	2,21	0,99	15,90	1,61	3,66	**0,71**
IL-17	GBS-	95	1,0	0,53	0,86	0,67	3,43	0,81	0,95	
pg/mL	GBS+	23	1,13	0,42	0,95	0,67	1,95	0,81	1,57	**0,15**
CP_{OA}	GBS-	95	3,22	1,54	2,88	0,28	7,02	2,03	4,24	
U/L	GBS+	23	3,09	1,73	2,82	0,90	8,10	2,21	3,52	**0,68**
gr -SH mmol/L	GBS-	95	0,31	0,05	0,32	0,18	0,46	0,28	0,35	
	GBS+	23	0,29	0,05	0,29	0,21	0,40	0,25	0,32	**0,08**
FRAP umol/L	GBS-	95	41,79	8,03	41,35	0,76	63,55	37,93	47,15	
	GBS+	23	41,98	4,40	42,59	34,80	52,28	39,19	45,08	**0,97**
TBARS	GBS-	95	7,73	2,30	7,69	4,21	17,42	6,0	8,67	
nmol/L	GBS+	23	8,29	2,02	8,14	4,95	13,79	6,79	9,35	**0,18**

*p<0,05 test U Manna-Whitneya ** istotność statystyczna testem Kołmogorowa-Smirnowa GBS Zaznaczone wyniki są istotne z p <0,05

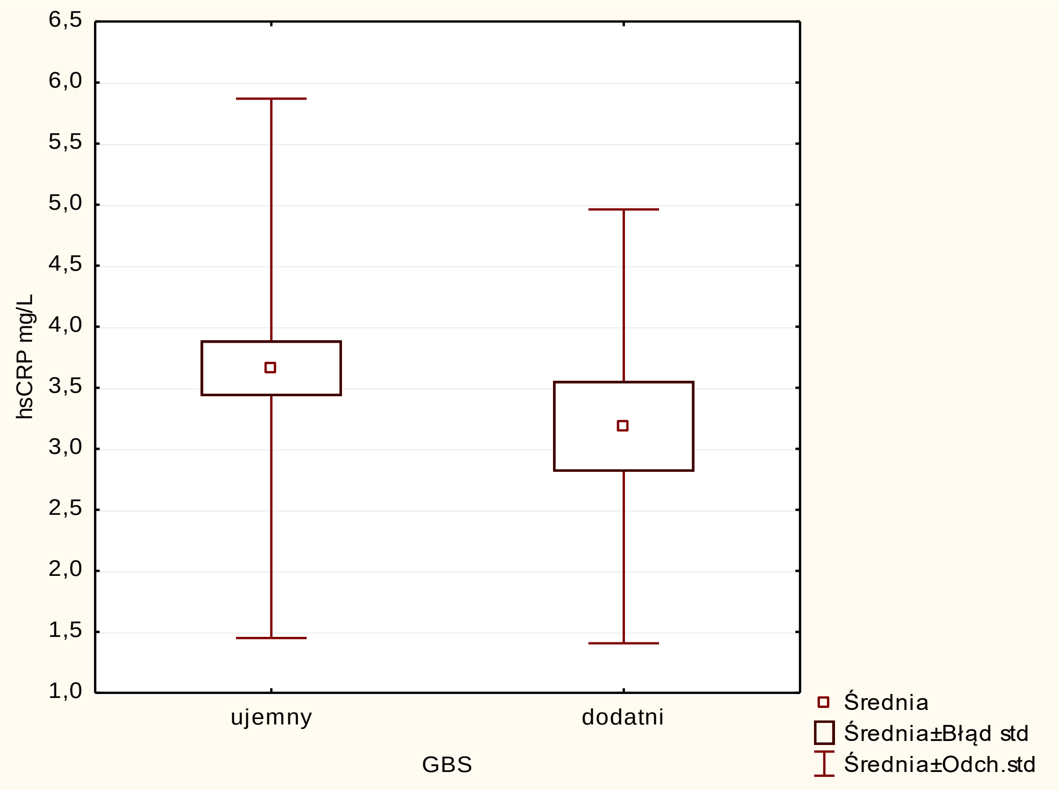


Ryc. 5.17. (A.B.) Porównanie liczby leukocytów we krwi obwodowej kobiet ciężarnych 35-37 tygodniu ciąży w zależności od nosicielstwa GBS.

Omówienie wyników Tab. 5.26 i Ryc. 5.17

Liczbę leukocytów w badanych grupach przedstawia rycina 5.17. Liczba leukocytów w grupie kobiet ciężarnych nie będących nosicielkami GBS w 35-37 tygodniu ciąży wynosiła 9,19±2,16 10^9/L, w grupie pacjentek ciężarnych nosicielek GBS wynosiła 9,73 ±2,58 10^9/L.

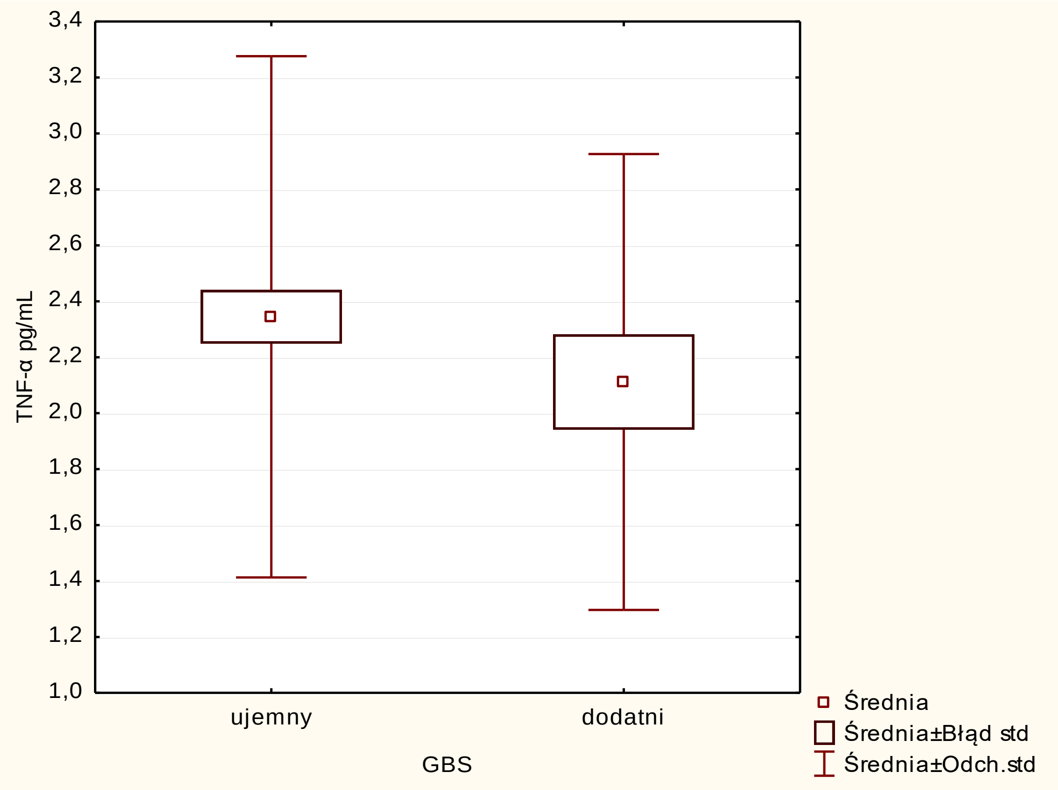
Większą liczbę leukocytów obserwowano w grupie kobiet ciężarnych GBS+, różnice stężeń pomiędzy kobietami GBS+ i GBS- nie były istotne statystycznie.



Ryc. 5.18. (A.B.) Porównanie stężeń hsCRP pg/L pomiędzy badanymi grupami w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży w zależności od nosicielstwa GBS.

Omówienie wyników Tab. 5.26 i Ryc. 5.18

Rycina 5.18. przedstawia stężenie hsCRP pomiędzy badanymi grupami kobiet. Stężenie hsCRP w grupie kobiet ciężarnych nie będących nosicielkami GBS w 35-37 tygodniu ciąży wynosiło 3,66 ±3,21 mg/L, w grupie pacjentek ciężarnych nosicielek GBS 3,18 ±1,78 mg/L. Stężenia hsCRP nie były istotne statystycznie.



Ryc. 5.19. (A.B.) Porównanie stężeń TNF-α w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży w zależności od nosicielstwa GBS.

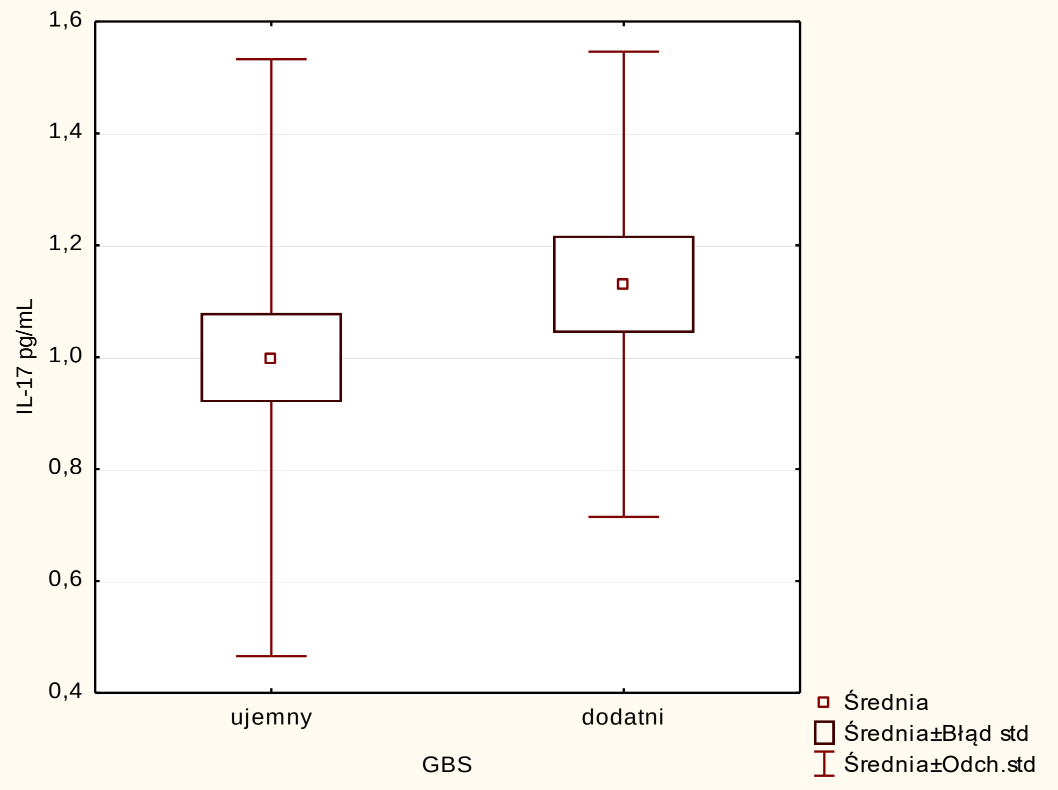
Omówienie wyników Tab. 5.26 i Ryc. 5.19.

Rycina 5.19. ilustruje stężenie TNF-α w grupach badanych kobiet. Stężenie TNF-α w grupie kobiet ciężarnych nie będących nosicielkami GBS w 35-37 tygodniu ciąży wynosiło 2,34 ±0,93 pg/mL, w grupie pacjentek ciężarnych nosicielek GBS zaobserwowano niższe stężenie TNF-α 2,11 ±0,81 pg/mL, ale różnice stężeń pomiędzy kobietami GBS+ i GBS- nie były istotne statystycznie.

Ryc. 5.20. (A.B.) Porównanie stężeń IL-6 w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży w zależności od nosicielstwa GBS.

Omówienie wyników Tab. 5.26 i Ryc. 5.20

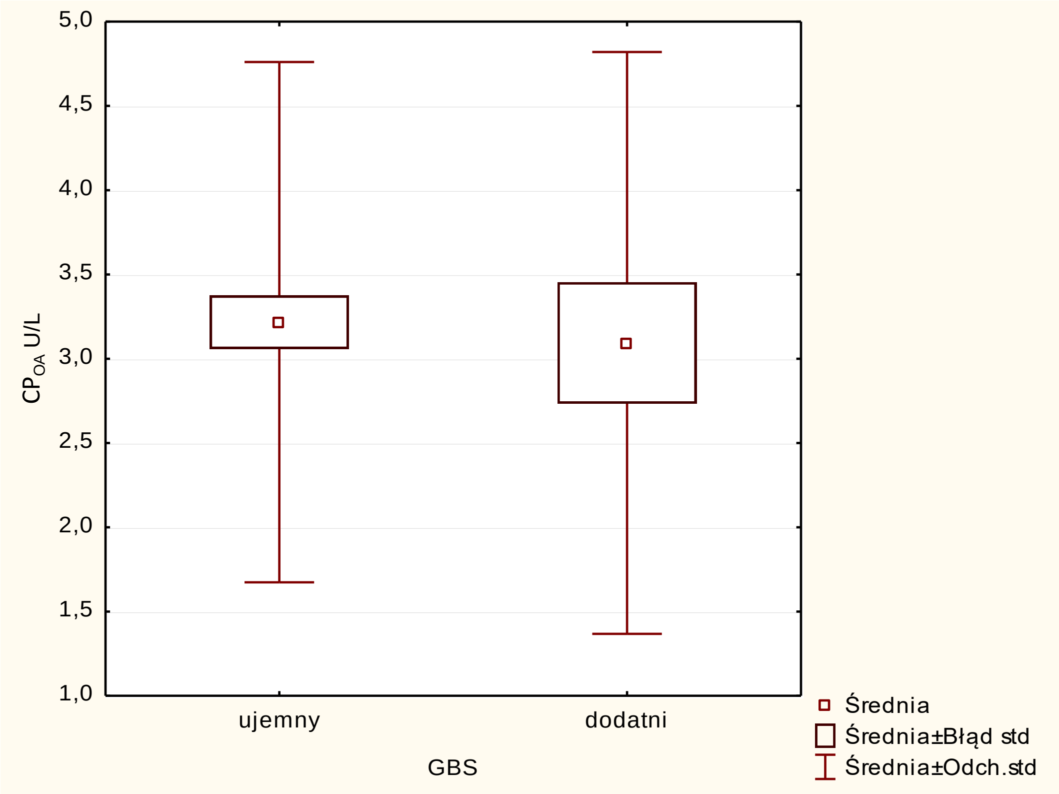
Stężenie IL-6 w badanych grupach przedstawia rycina 5.20. Stężenie IL-6 w grupie kobiet nie będących nosicielkami GBS w 35-37 tygodniu ciąży wynosiło 3,82 ±3,39 pg/mL, w grupie pacjentek ciężarnych nosicielek GBS 3,26 ±3,24 pg/mL. Różnice stężeń pomiędzy kobietami GBS+ i GBS- nie były istotne.



Ryc. 5.21. (A.B.) Porównanie stężeń IL-17 w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży w zależności od nosicielstwa GBS.

Omówienie wyników Tab. 5.26 i Ryc. 5.21

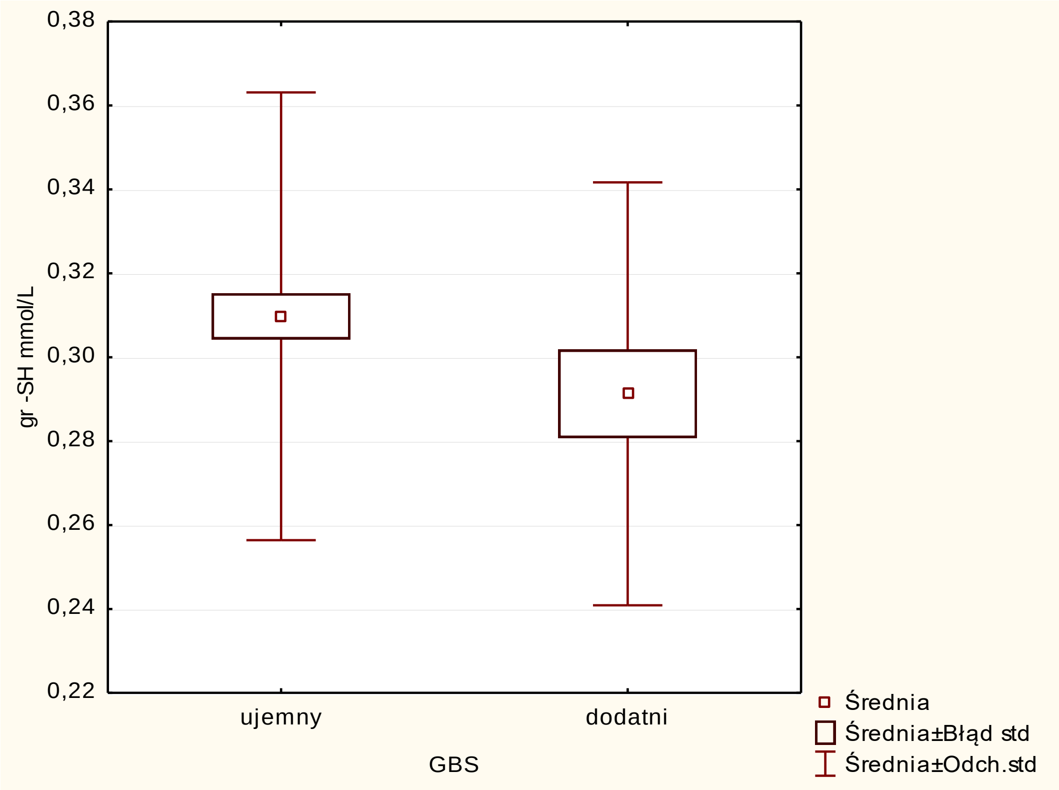
Rycina 5.21. przedstawia poziomy IL-17 w badanych grupach. Stężenie IL-17 w grupie kobiet nie będących nosicielkami GBS w 35-37 tygodniu ciąży wynosiło 1,00 ±0,53 pg/mL, a w grupie pacjentek nosicielek GBS 1,13 ±0,42 pg/mL. Różnice stężeń pomiędzy kobietami GBS+ i GBS- nie były istotne.



Ryc. 5.22. (A.B.) Porównanie aktywności oksydazowej ceruloplzminy w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży w zależności od nosicielstwa GBS.

Omówienie wyników Tab. 5.26 i Ryc. 5.22

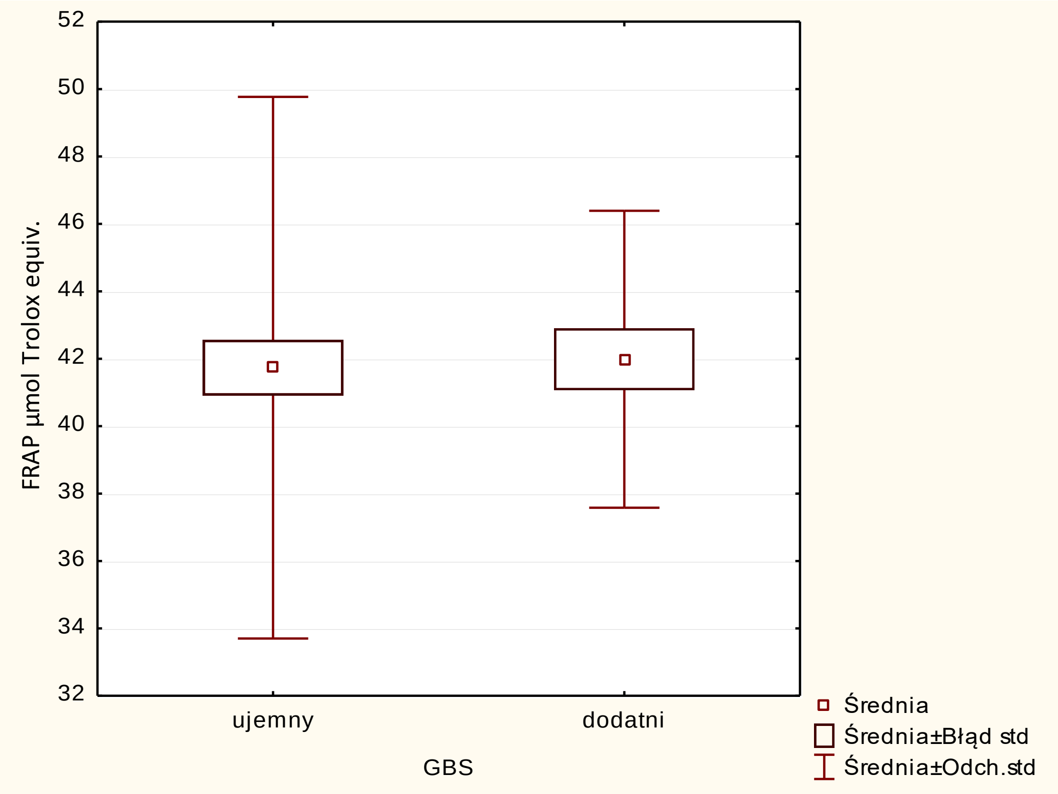
Rycina 5.22. przedstawia aktywność oksydazową ceruloplazminy. Aktywność oksydazowa ceruloplazminy w surowicy krwi kobiet ciężarnych nie będących nosicielkami GBS w 35-37 tygodniu ciąży wynosiła 3,22 ±1,54 U/L, w grupie kobiet ciężarnych będących nosicielkami GBS wynosiła 3,09 ±1,73 U/L. Różnice stężeń pomiędzy kobietami GBS+ i GBS- nie były istotne.



Ryc. 5.23. (A.B.) Porównanie stężeń wolnych grup tiolowych w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży w zależności od nosicielstwa GBS.

Omówienie wyników Tab. 5.26 i Ryc. 5.23

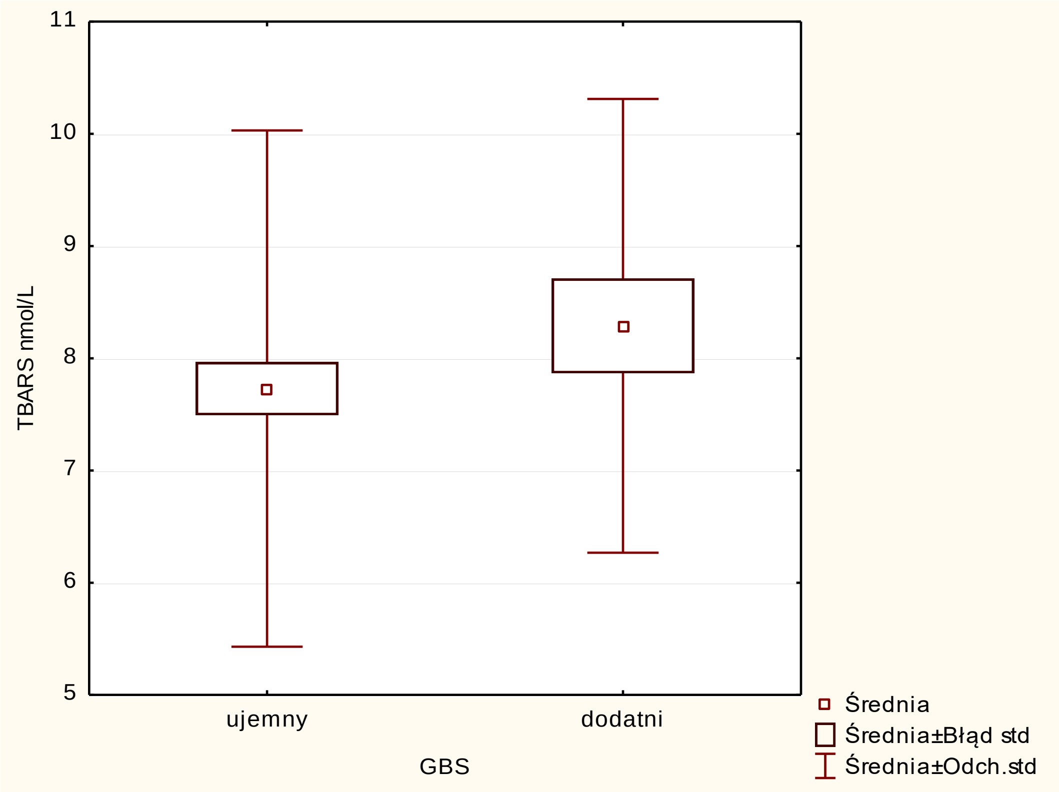
Rycina 5.23. przedstawia stężenia wolnych grup tiolowych (-SH) w surowicy krwi badanych kobiet. Stężenia grup –SH w surowicy kobiet nie będących nosicielkami GBS w 35-37 tygodniu ciąży wynosiło 0,31 ±0,05 mmol/L, w grupie kobiet ciężarnych nosicielek GBS wynosiło 0,29 ±0,05 mmol/L. Różnice stężeń pomiędzy kobietami GBS+ i GBS- nie były istotne.



Ryc. 5.24. (A.B.) Porównanie stężeń wolnych grup tiolowych w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży w zależności od nosicielstwa GBS.

Omówienie wyników Tab. 5.26 i Ryc. 5.24

Rycina 5.24 ilustruje całkowitą zdolność antyoksydacyjną w surowicy kobiet wyrażoną jako FRAP. U kobiet ciężarnych nie będących nosicielkami GBS w 35-37 tygodniu ciąży FRAP wynosiło 41,79 ±8,03 µmol Trolox equiv., w grupie pacjentek ciężarnych nosicielek GBS 41,98 ±4,40 µmol Trolox equiv. Różnice stężeń pomiędzy kobietami GBS+ i GBS- nie były istotne.



Ryc. 5.25. (A.B.) Porównanie stężeń pomiędzy badanymi grupami w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży w zależności od nosicielstwa GBS.

Omówienie wyników Tab. 5.26 i Ryc. 5.25

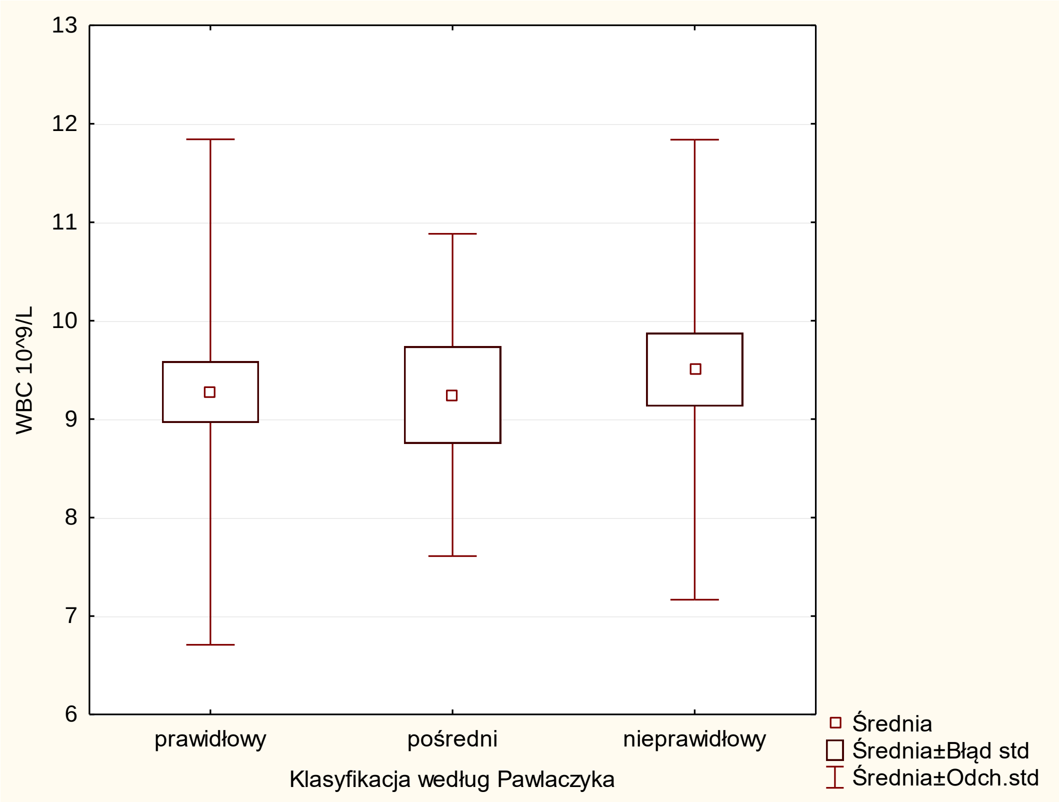
Rycina 5.25. przedstawia poziom substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS). TBARS w surowicy kobiet ciężarnych nie będących nosicielkami GBS w 35-37 tygodniu ciąży wynosił 7,73 ±2,30 µmol/L, w grupie nosicielek GBS wynosił 8,29 ±2,02 µmol/L. Wyższe stężenia TBARS obserwowane w grupie GBS+ nie różniły się istotnie od stężeń TBARS w grupie GBS-.

5.2.2. Biochemiczne wykładniki stanu zapalnego u kobiet ciężarnych z uwzględnieniem trzystopniowej skali czystości pochwy wg. Pawlaczyka (A.B.)

Tab. 5.27.(A.B.) Charakterystyka opisowa grupy badanej kobiet w 35-37 tygodniu ciąży z podziałem na stopnie czystości pochwy zgodnie z klasyfikacją wg Pawlaczyka (wyniki przedstawiono jako medianę pierwszy i trzeci kwartyl) oraz porównanie grup testem Kruskala- Wallisa

	Prawidłowy **n=68**	**Pośredni** **n=11**	**Nieprawidłowy** **n=39**	**p testem Kruskala-Wallisa**
Wiek **Lata**	28,00 (25-31)	29 (26-32)	29 (24-34)	ns
Tydzień ciąży **tygodnie**	36 (35-37)	36 (35-37)	35 (35-36)	ns
WBC **10^9/L**	8,70 (7,70-10,55)	9,10 (8,40-10,80)	8,90 (8,10-10,20)	ns
hsCRP **mg/L**	3,17 (1,93-4,75)	4,15 (2,73-4,80)	2,75 (1,63-4,96)	ns
TNF-a **pg/mL**	2,19 (1,71-2,66)	2,72 (2,31-2,97)	2,04 (1,66-2,39)	ns
IL-6 **pg/mL**	2,36 (1,66-4,33)	3,88 (2,18-10,36)	1,84 (1,42-3,66)	<0,034
IL-17 **pg/mL**	0,87 (0,81-1,05)	0,76 (0,76-0,95)	0,88 (0,81-1,14)	ns
CP_{OA} **U/L**	2,91 (2,13-4,29)	3,82 (1,71-5,10)	2,53 (1,96-3,91)	ns
Grupy -SH **mmol/L**	0,31 (0,28-0,35)	0,32 (0,26-0,34)	0,30 (0,26-0,33)	ns
FRAP **µmol Trolox equiv.**	41,62 (39,27-46,99)	42,30 (39,19-44,03)	40,92 (35,26-46,10)	ns

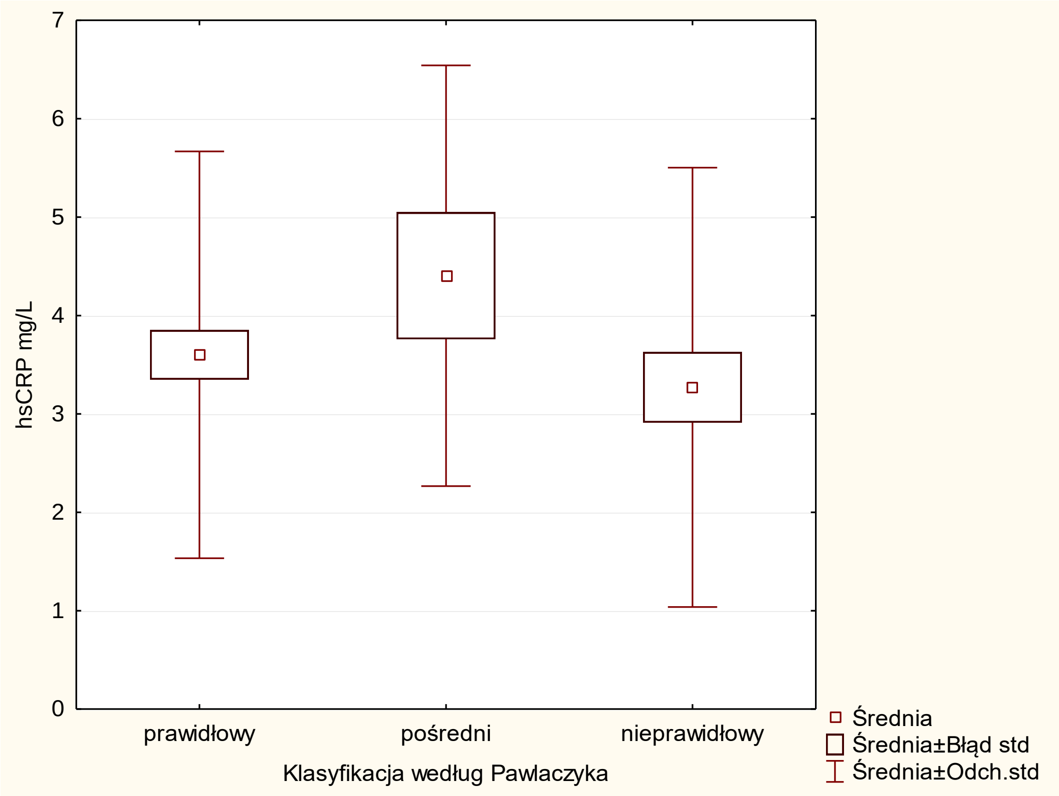
TBARS **nmol/L**	7,81 (6,41-8,79)	7,90 (5,99-9,31)	7,34 (5,93-9,31)	ns



Ryc. 5.26. (A.B.) Porównanie liczby WBC 10^9/L pomiędzy badanymi grupami we krwi obwodowej kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży według klasyfikacji Pawlaczyka.

Omówienie wyników Tab. 5.27 i Ryc. 5.26

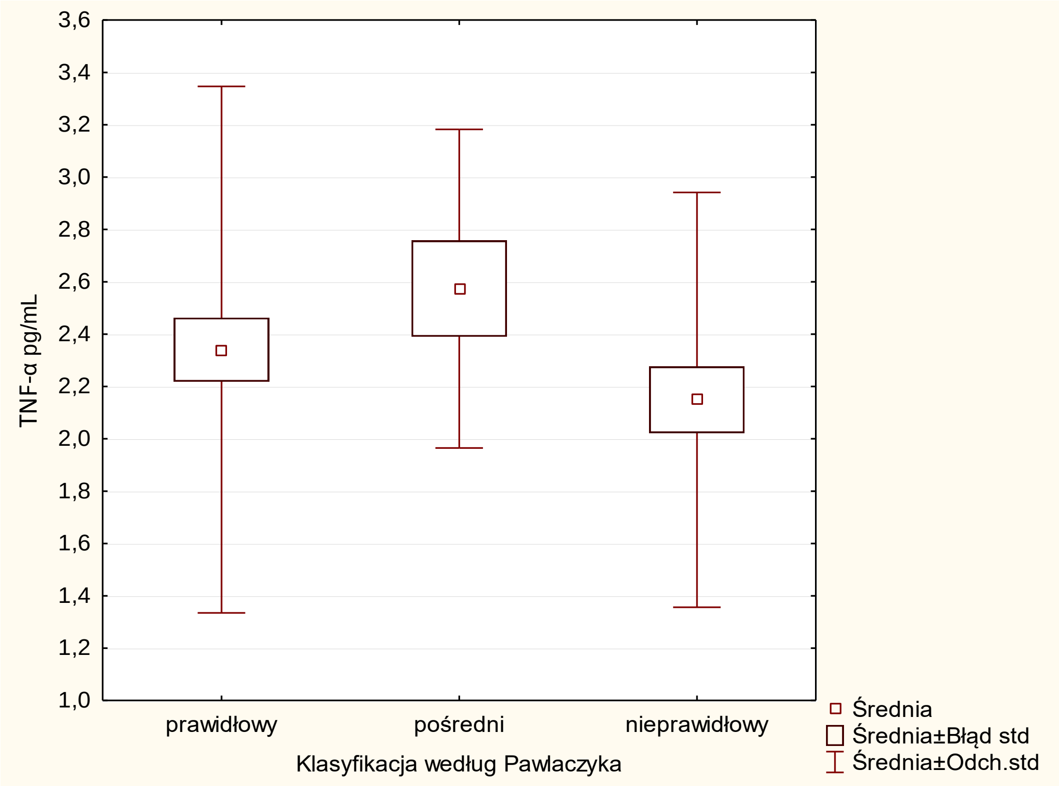
Rycina 5.26. ilustruje liczbę leukocytów w badanych grupach. W grupie z prawidłowa czystością pochwy liczba leukocytów wynosiła 9,22 ±2,39 10^9/L, z pośrednim stopniem czystości pochwy 9,25 ±1,64 10^9/L, w grupie kobiet z nieprawidłową czystością pochwy liczba leukocytów wynosiła 9,45 ±2,17 10^9/L. Różnice pomiędzy badanymi grupami nie były istotne statystycznie.



Ryc. 5.27. (A.B.) Porównanie stężeń hsCRP mg/L pomiędzy badanymi grupami w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży według klasyfikacji Pawlaczyka.

Omówienie wyników Tab. 5.27 i Ryc. 5.27

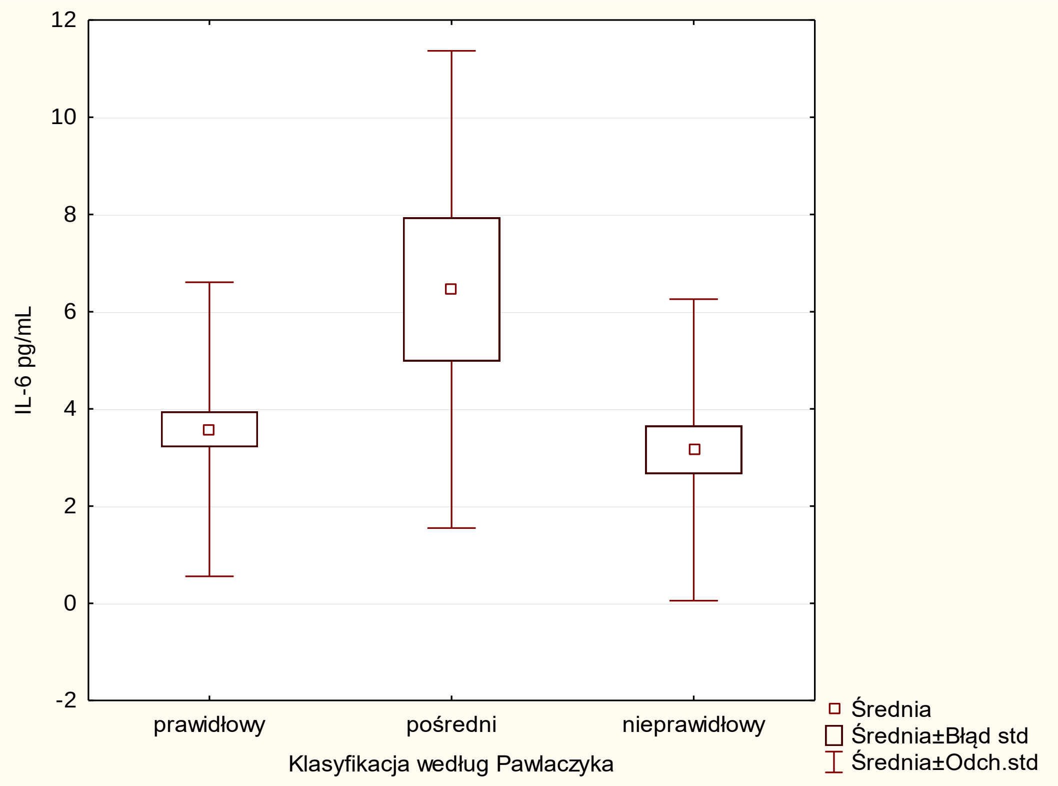
Rycina 5.27. przedstawia stężenie hsCRP w grupach kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży z prawidłowym, pośrednim i nieprawidłowym stopniem czystości pochwy. Stężenia oznaczanego białka wynosiły odpowiednio dla kobiet z prawidłową czystością pochwy 3,60 ±2,07 mg/L, pośrednią 4,40 ±2,14 mg/L i z nieprawidłową 3,27 ±2,23 mg/L. Wyższe stężenie hsCRP obserwowane w grupie kobiet z pośrednia czystością pochwy nie różniło się istotnie od stężeń w pozostałych grupach.



Ryc. 5.28. (A.B.) Porównanie stężeń TNF-α pomiędzy badanymi grupami w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży według klasyfikacji Pawlaczyka.

Omówienie wyników Tab. 5.27 i Ryc. 5.28

Rycina 5.28. obrazuje poziom TNF-α w grupie kobiet z prawidłową, pośrednią i nieprawidłową czystością pochwy. U kobiet z prawidłową czystością pochwy poziom TNF-α wynosił 2,34 ±1,01 pg/mL, z pośrednią czystością pochwy 2,57 ±0,61 pg/mL, a z nieprawidłowa czystością pochwy 2,15 ±0,79 pg/mL. W grupach badanych wyższe stężenia TNF-α obserwowano w grupie kobiet z nieprawidłową czystością pochwy. Różnice stężeń TNF-α pomiędzy badanymi grupami nie były istotne statystycznie.

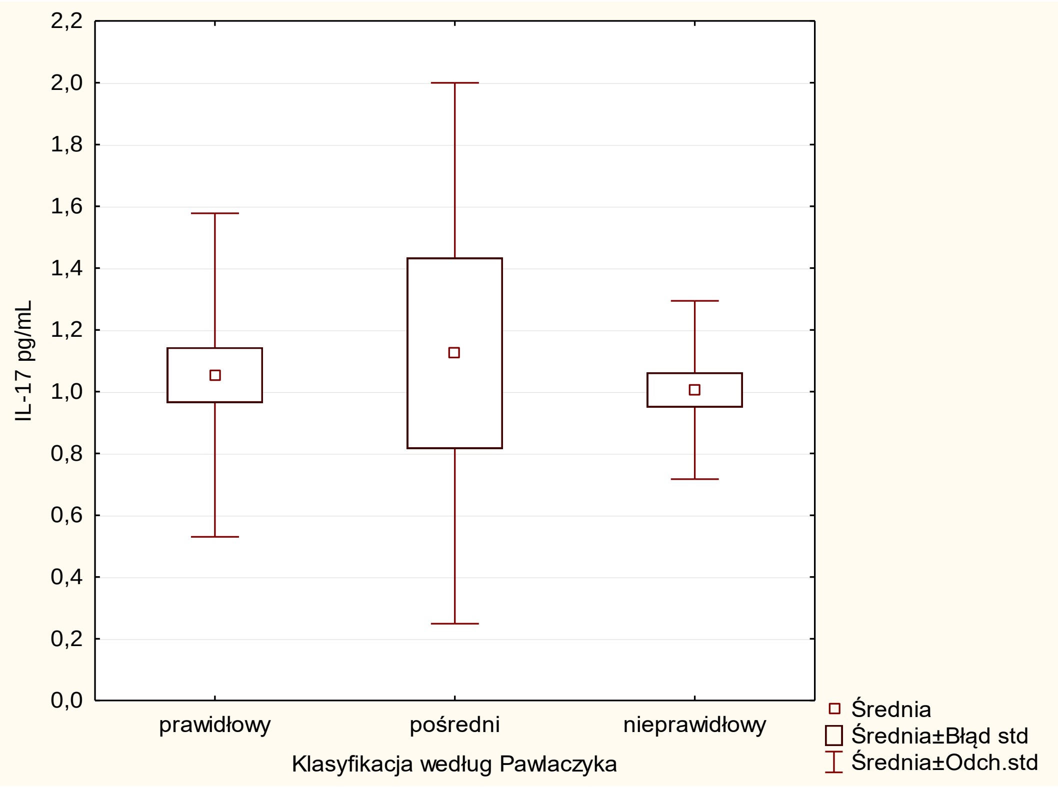


IL-6 Test Kruskala-Wallisa, p<0,0001 wartość p dla porównań wielkokrotnych (dwustronnych) Test Dunna p =0,0341			
	prawidłowy	**pośredni**	**nieprawidłowy**
prawidłowy		0,152	0,657
pośredni	0,152		0,029*
nieprawidłowy	0,657	0,029*	

Ryc. 5.29. (A.B.) Porównanie stężeń IL-6 pg/mL pomiędzy badanymi grupami w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży według klasyfikacji Pawlaczyka testem Kruskala- Wallisa (rycina) z analizą post hoc testem Dunna (tabela)

Omówienie wyników Tab. 5.27 i Ryc. 5.29

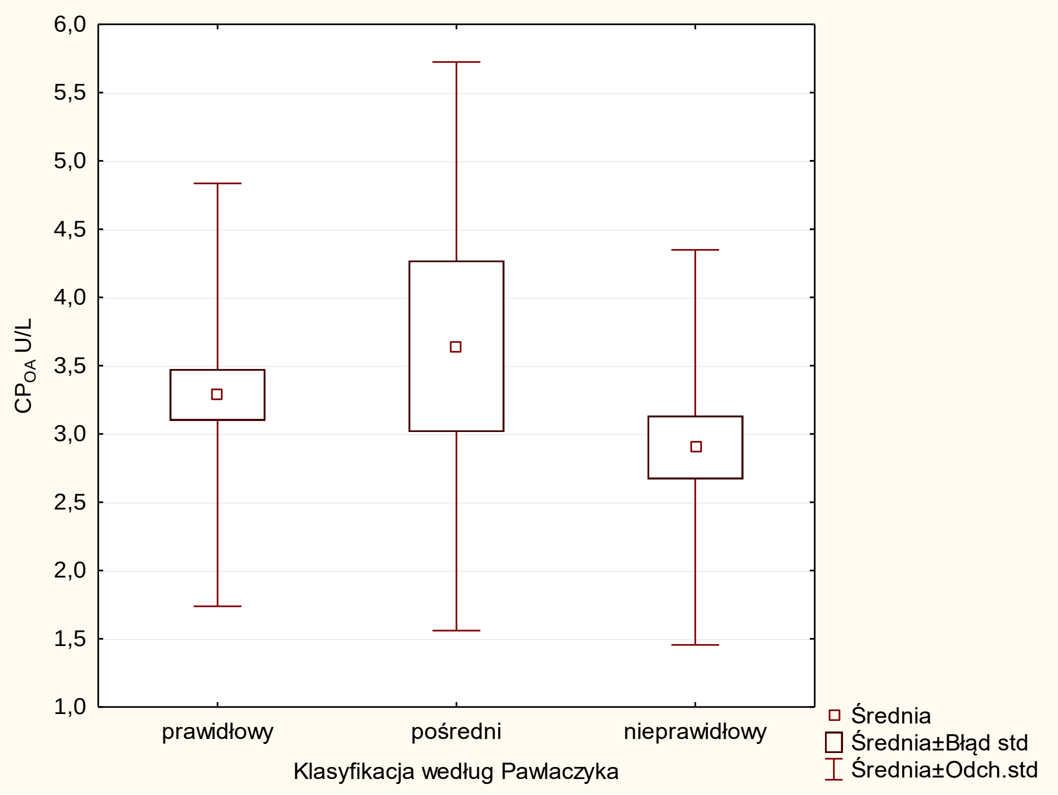
Rycina 5.29. przedstawia stężenia IL-6 w grupach kobiet z prawidłową, pośrednią i nieprawidłową czystością pochwy u ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży. W grupie kobiet z prawidłową czystością pochwy stężenie IL-6 wynosiło 3,58 ±3,02 pg/mL, w grupie z pośrednią czystością pochwy wynosiło 6,46 ±4,91pg/mL, a w grupie kobiet z nierawidłową czystością pochwy wynosiło 3,16 ±3,10 pg/mL. Najwyższe stężenie IL-6 obserwowano u kobiet z pośrednim stopniem czystości pochwy. W teście Kruskala-Wallisa obserwowano istotne różnice stężeń IL-6 pomiędzy kobietami z pośrednią i nieprawidłową czystością pochwy zgodnie z klasyfikacją Pawlaczyka.



Ryc. 5.30. (A.B.) Porównanie stężeń IL-17 pg/mL pomiędzy badanymi grupami w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży według klasyfikacji Pawlaczyka.

Omówienie wyników Tab. 5.27 i Ryc. 5.30

Rycina 5.30. ilustruje poziom IL-17 w grupie badanych kobiet w 35-37 tygodniu ciąży z podziałem na stopnie czystości pochwy. W grupie kobiet z prawidłową czystością pochwy stężenie IL-17 wynosiło 1,05 ±0,52 pg/mL, z pośrednim stopniem czystości pochwy 1,12 ±0,88 pg/dL, a z nieprawidłową czystością pochwy 1,01 ±0,29 pg/mL. Różnice stężeń pomiędzy badanymi grupami nie były istotne.

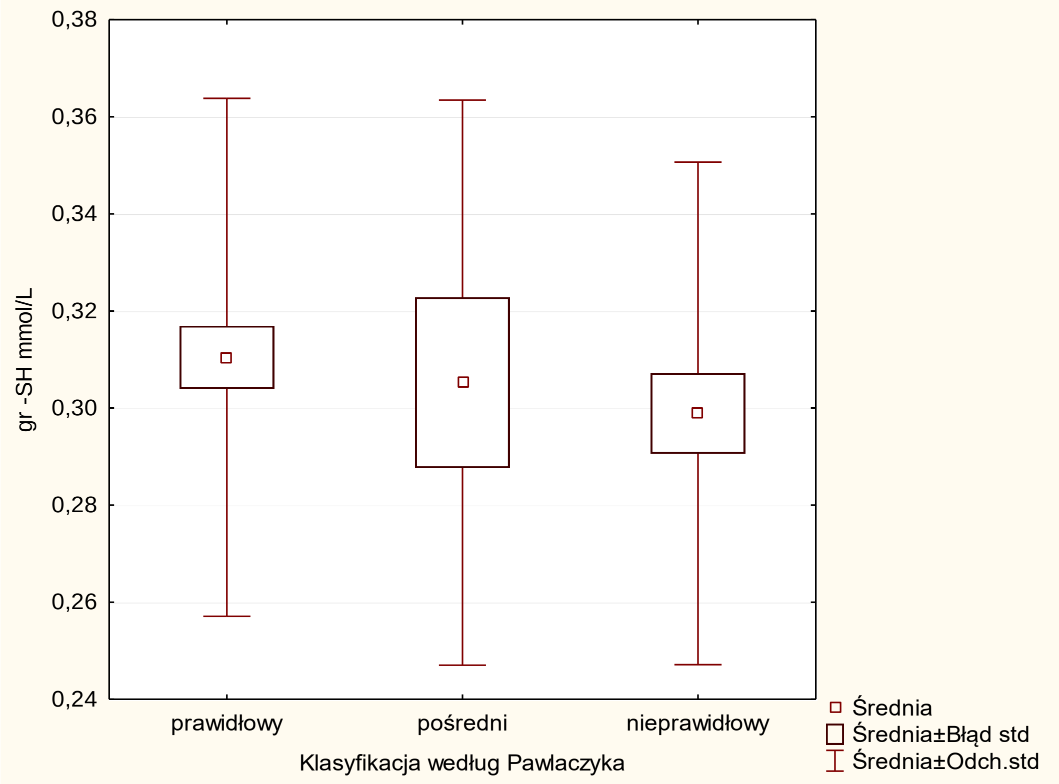


Ryc. 5.31 (A.B.). Porównanie aktywności oksydazowej ceruloplazminy pomiędzy badanymi grupami w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży według klasyfikacji Pawlaczyka.

Omówienie wyników Tab. 5.27 i Ryc. 5.31

Aktywność oksydazowa ceruloplazminy w surowicy kobiet w 35-37 tygodniu ciąży w zależności od stopnia czystości pochwy ilustruje rycina 5.31. U kobiet z prawidłową czystością pochwy aktywność oksydazowa wynosiła 3,29 ±1,55 U/L, z pośrednią czystością pochwy 3,64 ±2,08, a z nieprawidłową czystością pochwy 2,90 ±1,45 U/L U/L.

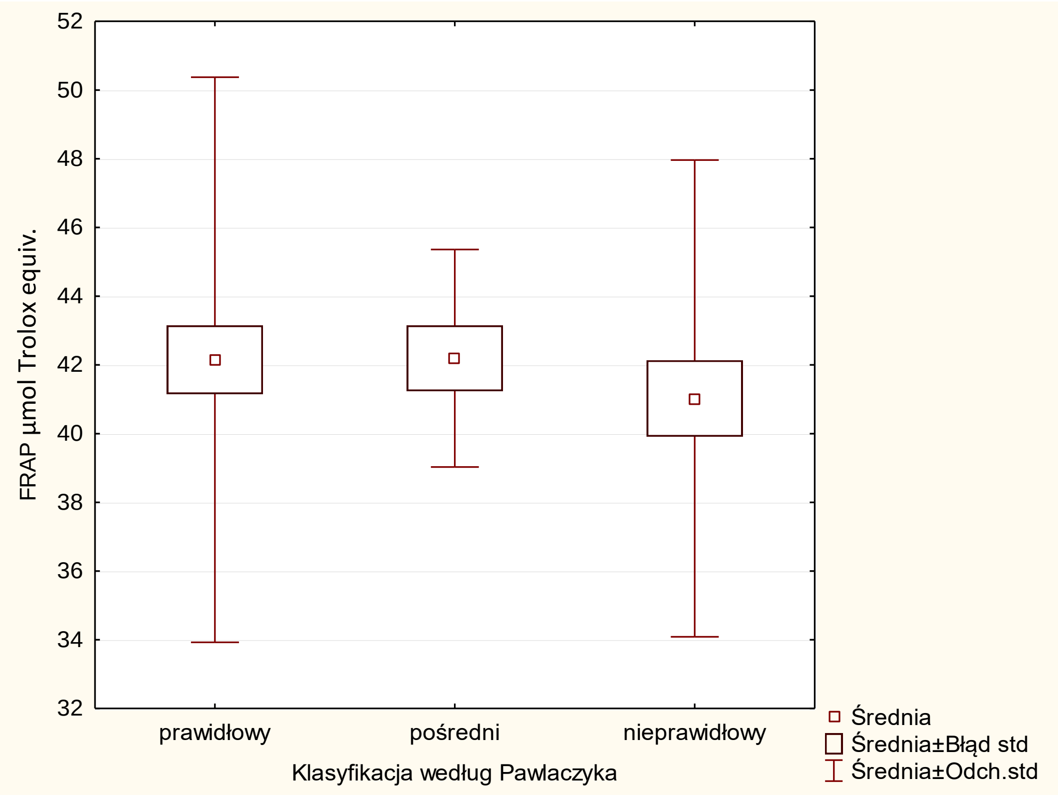
Niższe aktywność CP_{OA} obserwowano w grupie kobiet z pośrednim stopniem czystości pochwy niż w grupach z prawidłową i nieprawidłową czystością pochwy, ale różnice stężeń CP_{OA} nie były istotne.



Ryc. 5.32. (A.B.) Porównanie stężeń grup-SH pomiędzy badanymi grupami w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży według klasyfikacji Pawlaczyka.

Omówienie wyników Tab. 5.27 i Ryc. 5.32

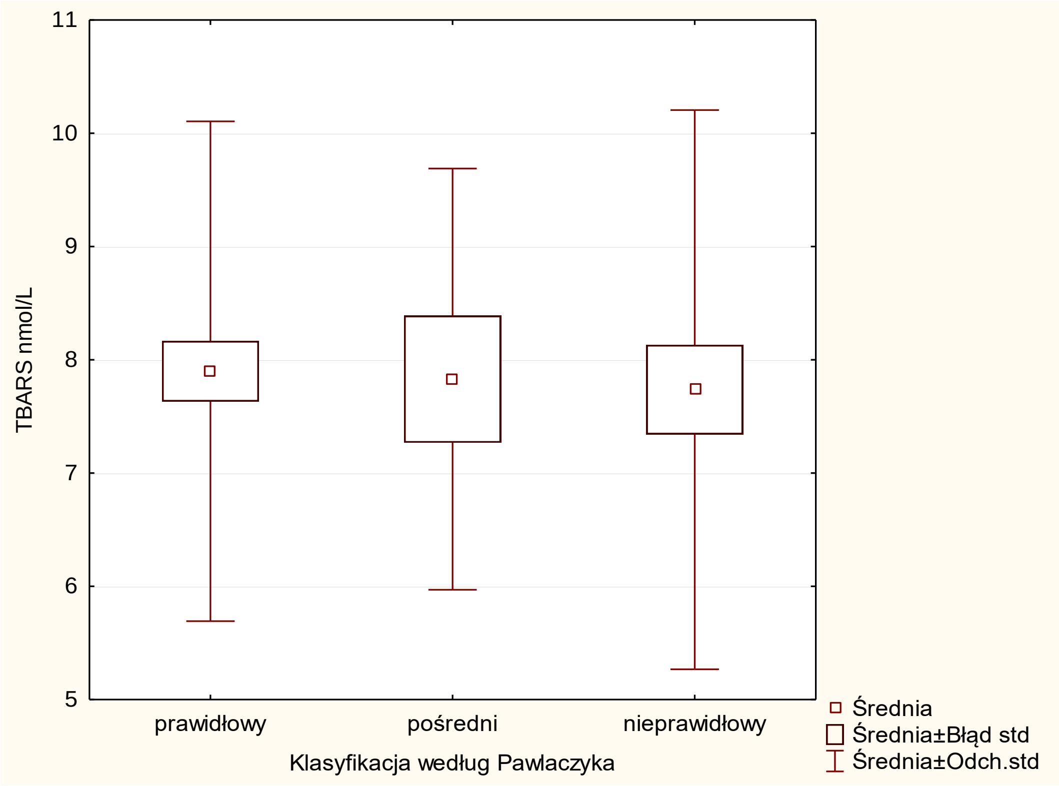
Rycina 5.32. przedstawia stężenie wolnych grup-SH. W grupie pacjentek z prawidłową czystością pochwy poziom grup- SH wynosił 0,31 ±0,05 mmol/L, w grupie kobiet z pośrednia czystością pochwy wynosiło 0,31 ±0,06 mmol/L, natomiast z nieprawidłową czystością pochwy wynosił 0,30 ±0,05 mmol/L. Różnice stężeń pomiędzy badanymi grupami nie były istotne.



Ryc. 5.33. (A.B.) Porównanie całkowitej zdolności antyoksydacyjnej pozmiędzy badanymi grupami w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży według klasyfikacji Pawlaczyka.

Omówienie wyników Tab. 5.27 i Ryc. 5.33

Rycina 5.33 ilustruje całkowitą zdolność antyoksydacyjną organizmu w grupie kobiet 35-37 tygodniu ciąży w zależności od stopnia czystości pochwy. W grupie pacjentek z prawidłową czystością pochwy stężenie FRAP wynosiło 42,15 ±8,22 µmol, w grupie z pośrednia czystością pochwy 42,19 ±3,17 µmol, w grupie pacjentek z nieprawidłową czystością pochwy 41,02 ±6,94 µmol. Nie wykazano istotnych różnic między grupami.



Ryc. 5.34. (A.B.) Porównanie stężeń TBARS pomiędzy badanymi grupami w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży według klasyfikacji Pawlaczyka

Omówienie wyników Tab. 5.27 i Ryc. 5.34

Rycina 5.34. przedstawia stężenia TBATS w surowicy krwi kobiet w 35-37 tygodniu ciąży. W grupie badanych kobiet w 35-37 tygodniu ciąży z prawidłową czystością pochwy stężenie TBARS wynosiło 7,90 ±2,21 µmol/L, w grupie z pośrednią czystością pochwy wynosiło 7,83 ±1,86 µmol/L, w grupie z nieprawidłową czystością pochwy wynosiło 7,74 ±2,47 µmol/L. Różnice stężeń pomiędzy badanymi grupami nie były istotne.

5.2.3. Ocena zależności pomiędzy badanymi markerami procesu zapalnego i stresu oksydacyjnego w badanych grupach, a wynikami badań klinicznych i mikrobiologicznych (A.B.).

Tab. 5.28. (A.B.) Zależność parametrów stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w grupie kobiet w 35-37 tygodniu ciąży GBS+ -podano wartość współczynnika R Spearmana, gdy p<0,05 oraz p<0,001

	WBC 10^9/L	hsCRP mg/L	TNF-α pg/mL	IL-6 pg/mL	IL-17 pg/mL	CP_{OA} U/L	gr -SH mmol/L	FRAP umol/L	TBARS nmol/L
WBC 10^9/L	-	-0,17	0,03	0,11	0,32	-0,19	-0,11	-0,15	0,08
hsCRP mg/L	-0,17	-	-0,00	0,53*	-0,14	0,13	0,11	0,40	0,28
TNF-α pg/mL	0,03	-0,00	-	0,08	-0,20	0,07	0,11	0,18	-0,03
IL-6 pg/mL	0,11	0,53*	0,08	-	0,06	-0,09	-0,24	0,42*	0,47*
IL-17 pg/mL	0,32	-0,14	-0,20	0,06	-	-0,29	-0,81**	-0,02	0,11
CP_{OA} U/L	-0,19	0,13	0,07	-0,09	-0,29	-	0,58*	0,18	-0,48*
gr –SH mmol/L	-0,11	0,11	0,11	-0,24	-0,81**	0,58*	-	0,01	-0,37
FRAP umol/L	-0,15	0,40	0,18	0,42*	-0,02	0,18	0,01	-	0,27
TBARS nmol/L	0,08	0,28	-0,03	0,47*	0,11	-0,48*	-0,37	0,27	-

*p<0,05 , **p<0,001

W Tab.5.28. przedstawiono zależności między badanymi parametrami stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w grupie kobiet w 35-37 tygodniu GBS+. Obserwowano dodatnie korelacje (p< 0,05) IL-6 & hsCRP, IL-6 & FRAP, IL-6 & TBARS, CP_{OA} & gr-SH, oraz ujemną korelację (p< 0,05) pomiędzy IL-17 & gr-SH i CP_{OA} & TBARS. Obserwowano ujemną korelację pomiędzy IL-17 & gr- SH (p<0,001).

Tab. 5.29. (A.B.) Zależność parametrów stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w grupie kobiet w 35-37 tygodniu ciąży GBS- -podano wartość współczynnika R. Spearmana, gdy p<0,05 oraz p<0,001

	WBC 10^9/L	hsCRP mg/L	TNF-α pg/mL	IL-6 pg/mL	IL-17 pg/mL	CP_{OA} U/L	gr -SH mmol/L	FRAP umol/L	TBARS nmol/L
WBC 10^9/L	-	-0,03	-0,03	-0,16	-0,04	-0,10	-0,06	-0,28*	-0,01
hsCRP mg/L	-0,03	-	0,04	0,18	-0,06	0,18	-0,07	0,10	0,02
TNF-α pg/mL	-0,03	0,04	-	0,23*	0,19	-0,03	-0,11	0,03	0,34**
IL-6 pg/mL	-0,16	0,18	0,23*	-	-0,03	0,45**	0,17	0,25*	0,17
IL-17 pg/mL	-0,04	-0,06	0,19	-0,03	-	-0,17	-0,10	0,16	0,25
CP_{OA} U/L	-0,10	0,18	-0,03	0,45**	-0,17	-	0,34**	0,09	-0,19
gr -SH mmol/L	-0,06	-0,07	-0,11	0,17	-0,10	0,34**	-	0,02	-0,44**
FRAP umol/L	-0,28*	0,10	0,03	0,25*	0,16	0,09	0,02	-	0,05
TBARS nmol/L	-0,01	0,02	0,34**	0,17	0,25	-0,19	-0,44**	0,05	-

***p<0,05 ,**p<0,001**

W Tab. 5.29. przedstawiono zależności między parametrami stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w grupie kobiet w 35-37 tygodniu GBS-.Obserwowano dodatnie korelacje (p< 0,05) TNF-α & IL-6, TNF-α & TBARS, IL-6 & CP_{OA} IL-6& FRAP, CP_{OA} & gr-SH. Dla p<0,001 obserwowano korelacje pomiędzy TNF-α & TBARS, IL-6 & CP_{OA}. Ujemną korelację (p< 0,05) obserwowano pomiędzy WBC & FRAP, gr-SH & TBARS, dla (p<0,001) gr-SH & TBARS.

Tab. 5.30. (A.B.) Zależność w zakresie parametrów stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w grupie kobiet w 35-37 tygodniu ciąży z prawidłową

	WBC 10^9/L	hsCRP mg/L	TNF-α pg/mL	IL-6 pg/mL	IL-17 pg/mL	CP_{OA} U/L	gr -SH mmol/L	FRAP umol/L	TBARS nmol/L
WBC 10^9/L	*	-0,10	-0,06	0,02	0,04	-0,03	-0,06	-0,26*	-0,06
hsCRP mg/L	-0,10	*	-0,09	0,14	-0,01	0,11	-0,09	0,06	0,11
TNF-α pg/mL	-0,06	-0,09	*	0,06	0,06	-0,08	-0,11	-0,03	0,24*
IL-6 pg/mL	0,02	0,14	0,06	*	0,20	0,41**	0,17	0,20	0,17
IL-17 pg/mL	0,04	-0,01	0,06	0,20	*	-0,29	-0,48*	0,18	0,23
CP_{OA} U/L	-0,03	0,11	-0,08	0,41**	-0,29	*	0,38*	0,16	-0,16
gr –SH mmol/L	-0,06	-0,09	-0,11	0,17	-0,48*	0,38*	*	0,10	-0,48**
FRAP umol/L	-0,26*	0,06	-0,03	0,20	0,18	0,16	0,10	*	0,01
TBARS nmol/L	-0,06	0,11	0,24*	0,17	0,23	-0,16	-0,48**	0,01	*

***p<0,05 , **p<0,001**

Tab. 5.30. przedstawia zależności między parametrami stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w grupie kobiet w 35-37 tygodniu z prawidłową czystością pochwy. Wykazano dodatnią korelacje p<0,05 pomiędzy TNF-α & TBARS i IL-6 & CP_{OA}, CP_{OA}& gr-SH . Ujemną korelację p<0,05 obserwowano pomiędzy WBC & FRAP i IL-17 & gr-SH.

Tab. 5.31. (A.B.) Zależność w zakresie parametrów stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w grupie kobiet w 35-37 tygodniu ciąży z pośrednią czystością pochwy wg klasyfikacji Pawlaczyka- podano wartość współczynnika R Spearmana, gdy p<0,05

	WBC 10^9/L	**hsCRP mg/L**	**TNF-α pg/mL**	**IL-6 pg/mL**	**IL-17 pg/mL**	**CP_{OA} U/L**	**gr -SH mmol/L**	**FRAP umol/L**	**TBARS nmol/L**
WBC 10^9/L	-	0,14	0,20	0,18	-0,34	-0,06	0,30	-0,15	0,23
hsCRP mg/L	0,14	-	0,17	0,76*	-0,19	0,75*	0,34	-0,21	-0,33
TNF-α pg/Ml	0,20	0,17	-	0,32	-0,03	0,23	-0,03	0,31	0,25
IL-6 pg/Ml	0,18	0,76*	0,32	-	-0,25	0,82*	0,55	-0,01	-0,38
IL-17 pg/mL	-0,34	-0,19	-0,03	-0,25	-	-0,40	-0,05	-0,10	0,34
CP_{OA} U/L	-0,06	0,75*	0,23	0,82*	-0,40	-	0,45	0,19	-0,65*
gr -SH mmol/L	0,30	0,34	-0,03	0,55	-0,05	0,45	-	-0,21	-0,60
FRAP umol/L	-0,15	-0,21	0,31	-0,01	-0,10	0,19	-0,21	-	-0,25
TBARS nmol/L	0,23	-0,33	0,25	-0,38	0,34	-0,65*	-0,60	-0,25	-

***p<0,05**

Tab. 5.31. przedstawia zależności między parametrami stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w grupie kobiet w 35-37 tygodniu z pośrednią czystością pochwy. Wykazano dodatnią korelacje p<0,05 pomiędzy hsCRP&IL-6 i CP_{OA}&IL-6 oraz ujemną korelację CP_{OA}&TBARS.

Tab. 5.32. (A.B.) Korelacje w zakresie parametrów stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w grupie kobiet w 35-37 tygodniu ciąży z nieprawidłową czystością pochwy wg klasyfikacji Pawlaczyka- podano wartość współczynnika R Spearmana, gdy p<0,05

	WBC 10^9/L	**hsCRP mg/L**	**TNF-α pg/mL**	**IL-6 pg/mL**	**IL-17 pg/mL**	**CP_{OA} U/L**	**gr -SH mmol/L**	**FRAP umol/L**	**TBARS nmol/L**
WBC 10^9/L	-	-0,02	0,01	-0,35*	0,41*	-0,29	-0,14	-0,22	0,12
hsCRP mg/L	-0,02	-	0,13	0,19	-0,02	0,12	-0,03	0,30	0,05
TNF-α pg/mL	0,01	0,13	-	0,31	-0,12	0,06	-0,02	0,11	0,29
IL-6 pg/mL	-0,35*	0,19	0,31	-	-0,07	0,05	-0,11	0,48*	0,36*
IL-17 pg/mL	0,41*	-0,02	-0,12	-0,07	-	0,14	-0,26	0,28	0,20
CP_{OA} U/L	-0,29	0,12	0,06	0,05	0,14	-	0,35*	-0,08	-0,29
gr -SH mmol/L	-0,14	-0,03	-0,02	-0,11	-0,26	0,35*	-	-0,11	-0,43*
FRAP umol/L	-0,22	0,30	0,11	0,48*	0,28	-0,08	-0,11	-	0,31
TBARS nmol/L	0,12	0,05	0,29	0,36*	0,20	-0,29	-0,43*	0,31	-

Tab. 5.32. przedstawia zależności między parametrami stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w grupie kobiet w 35-37 tygodniu z nieprawidłową czystością pochwy. Wykazano dodatnią korelacje p<0,05 pomiędzy WBC& IL-17, IL-6& TBARS, CP_{OA}& gr-SH oraz ujemna pomiędzy WBC& IL-6, TBARS& gr-SH.

6. Dyskusja

(M.M.)

Niezwykle istotne dla lekarza położnika i ginekologa jest uzyskanie informacji czy u badanej kobiety mamy do czynienia z prawidłową czy nieprawidłową florą narządów płciowych. W odróżnieniu od możliwości oceny bakteriologicznej okolic naturalnie przez mikroorganizmy nie zasiedlonych interpretacja prawidłowości mikroflory narządów posiadających bogatą florę komensalną i oportunistyczna, tak jak to ma miejsce w pochwie, jest znacznie utrudniona. Wynika to z niezwykłej różnorodności gatunkowej tej biocenozy i przede wszystkim dynamiki zmian ilościowych i jakościowych flory bakteryjnej pochwy [Sieroszewski P. 2012, Mardh P. 1991, Słomko Z. 2001].

W zakresie oceny biocenozy pochwy obserwujemy w Polsce regionalną niejednorodność i dowolność interpretacji.

Dominujący klasyczny sposób oceny czystości- biocenozy pochwy stopniowany zgodnie z Manu af Heurlin nie uwzględnia postępu wiedzy, który nastąpił w ostatnim stuleciu. Krytyka najpowszechniej stosowanego czterostopniowego klasyfikowania flory pochwy znajduje następujące uzasadnienia: istnienie odrębnego stopnia I i II jest praktycznie niecelowe, poza elementem poznawczym nie implikuje żadnych konsekwencji zwłaszcza terapeutycznych. określenie stopnia I wynika z obecności wyłącznie pałeczek kwasu mlekowego i pierwotnie miało charakteryzować jedyny fizjologiczny stan pochwy. Jest to niezgodne z obecną koncepcją jednoczasowego zasiedlenia pochwy przez zwykle kilka gatunków bakterii [Słomko Z.2001, Sieroszewski P. 2012,] co jest również jak najbardziej prawidłowym stanem biocenozy /wg Manu af Heurlin to stopień II/. W stopniu III spotykamy niejednorodną grupę patogenów włącznie z dwoinkami rzeżączki i krętkami. Nieadekwatne do ryzyka skutków zdrowotnych wydaje się umieszczenie niezwykle groźnego gonokoka o stopień niżej niż grzybów które prawie nigdy nie wywołują zakażenia wstępującego. Wymienianie grzybów i rzęsistków pochwowych jako typowych przedstawicieli IV stopnia biocenozy jest nieprecyzyjne. Grzyby drożdżopodobne mogą występować w różnych stanach biocenozy pochwy , również w prawidłowych [Pawlaczyk M. 1996, Słomko Z. 2001]. Istniejąca klasyfikacja nie uwzględnia rozpoznania bakteryjnej waginozy. Jest to zarzut wobec zasięgu

epidemiologicznego /najczęstsza przyczyna upławów / i konsekwencji klinicznych waginozy najpoważniejszy.

Funkcjonujące inne sposoby oceny flory pochwy podziały na obrazy mikrobiologiczne wg. Jiroveca, Petera i Malka oraz klasyfikacja Kuczyńskiej będąca rozbudowaniem i modyfikacją sposobu Manu af Heurlin są zbyt skomplikowane. Stąd poza Polską północno-wschodnią i wybranymi ośrodkami są niechętnie używane. W pracy przyjęto trzystopniową klasyfikację zaproponowaną przez Pawlaczyka

- biocenoza prawidłowa / obecne prawidłowe morfotypy *Lactobacillus sp.*, brak lub nieliczne laukocyty, dopuszczalna obecność niewielkiej liczby blastospor/
- biocenoza pośrednia:
  1. brak lub b. nieliczne *Lactobacillus sp*., brak leukocytów , flora nieliczna/
  2. liczne blastospory, obecne *Lactobacillus* w różnej liczbie/
  3. obfita flora mieszana, obecne *Lactobacillus*, niewielka liczba leukocytów/
  4. lactobacillosis flora najwyżej średnio obfita
- biocenoza nieprawidłowa/zapalenie: liczne leukocyty i bakterie, złuszczone komórki głębszych warstw nabłonka pochwy, obecność grzybni, obecność *T. vaginalis*, brak lub nieliczne *Lactobacillus* sp.

Kryterium opisujące biocenozę prawidłowa jest w zasadzie uznawane powszechnie z wyjątkiem dopuszczenia możliwości nielicznej obecności form drożdżowatych grzybów przez niektórych kwestionowanym. W każdym z kryteriów istotne jest wrażenie zachowania odpowiednich proporcji ilościowych pomiędzy poszczególnymi morfotypami mikroorganizmów, zwłaszcza w stosunku do *Lactobacillus* sp. gdyż to właśnie relacje ilościowe a nie jakościowe najczęściej decydują o wyniku bakterioskopowej oceny biocenozy. W określeniu biocenoza nieprawidłowa zawarte są dwa najistotniejsze klinicznie problemy: zapalenia i bakteryjnej waginozy. Jedną z intencji trójstopniowej klasyfikacji jest implikacja terapeutyczna:

- biocenoza nieprawidłowa- leczenie konieczne
- biocenoza prawidłowa-leczenie przeciwskazane

- biocenoza pośrednia-leczenie w zasadzie przeciwskazane, potrzebne tylko w razie dolegliwości subiektywnych popartych badaniem klinicznym, w ciąży-interpretacja indywidualna

W pracy oceniano nosicielstwo *Streptococcus agalactiae* w pochwie i odbycie oraz następujące parametry czystości mikrobiologicznej pochwy:

- obecność *Lactobacillus* ,
- obecność *Gardnerella vaginalis*,
- obecność *Candida species*,
- obecność *Trichomonas vaginalis*,
- obecność Clue cells,
- oceniano pH pochwy,
- wykonywano test z 10% KOH

Otrzymane wyniki poszczególnych parametrów pozwalających ocenić czystość mikrobiologiczna pochwy porównywano pod względem nosicielstwa *Streptococcus agalactiae*. Prawidłową florę bakteryjna pochwy opisywano w piśmiennictwie wielokrotnie, ale nadal termin ten wydaje się mało precyzyjny Tomaszewski J. 2012], stan fizjologiczny różni się bowiem bardzo nieznacznie od stanu patologicznego. Zakłócenie dynamicznej równowagi między komensalnymi bakteriami pochwy prowadzi do patologicznego wzrostu wybranego szczepu i w tym sensie każdy z gatunków normalnej flory pochwy może być czynnikiem etiologicznym zapalenia. Większy potencjał chorobotwórczy wykazują bakterie beztlenowe [Tomaszewski J. 2012].

Otrzymane wyniki wykazały że aż u 33 % badanych ciężarnych kobiet między 35-37 tygodniem ciąży stwierdzono nieprawidłową biocenozę pochwy. Nosicielstwo GBS stwierdzono u 19,5% badanych kobiet. Traktując wszystkie ciężarne kobiety u których stwierdzono GBS za 100% to paciorkowca stwierdzono odpowiednio u - 47,8% kobiet, zarówno w pochwie jak i w odbycie, u 43,5% tylko w pochwie i u 8,7% tylko w odbycie. Uzyskane wyniki jednoznacznie wykazały że do wiarygodnego potwierdzenia nosicielstwa GBS konieczne jest zgodne z wytycznymi PTG [Ginekol. Pol 2008], równoczesne pobranie wymazu zarówno z pochwy jak i z odbytu.

Oceniając mikrobiologiczną czystość pochwy wg Pawlaczyka w aspekcie nosicielstwa GBS u kobiet w ciąży, wykazano że odsetek prawidłowych,

nieprawidłowych i pośrednich wyników kształtował się bardzo podobnie w grupach /GBS +/ i/ GBS-/ co sugeruje brak związku pomiędzy czystością mikrobiologiczną pochwy a nosicielstwem *Streptococcus agalactiae. Lactobacillus species* - powyższa bakteria występowała u 61,9% badanych kobiet, w grupie pacjentek u których występował Lactobacillus odsetek kobiet /GBS+/wyniósł 20,5% ,natomiast w grupie z brakiem pałeczek Lactobacillus odsetek wyniósł odpowiednio 17,8 % co sugeruje że obecność pałeczek Lactobacillus nie zapobiega nosicielstwu paciorkowca grupy B.

Obecność Gardnerella vaginalis wykazano u 30,5% badanych kobiet . W grupie pacjentek u których stwierdzono Gardnerella vaginalis odsetek kobiet /GBS+/ wyniósł 11,1% , natomiast w grupie pacjentek u których nie wyhodowano Gardnerella vaginalis odsetek nosicielstwa GBS był dwukrotnie większy i wynosił 23,2 %, co może przemawiać za związkiem obecności obydwu bakterii w pochwie.Trichomonas vaginalis nie znaleziono u żadnej z badanych kobiet. Potwierdza to spostrzeżenia o spadku znaczenia tego patogenu w kontekście nieprawidłowej biocenozy pochwy kobiet w ciąży.Clue cells stwierdzono u 18,6% badanych ciężarnych. W grupie pacjentek z obecnością Clue cells odsetek kobiet /GBS+/ wyniósł 13,6% , natomiast w grupie u których nie stwierdzono ich obecności odsetek kobiet / GBS-/ wyniósł aż 20,8% , co sugeruje że brak komórek jeżowych w pochwie nie pozwala wykluczyć nosicielstwa paciorkowca grupy B.

Prawidłowe pH stwierdzono u 68,6 % badanych kobiet. 31,4 % badanych kobiet miało nieprawidłowe pH. W grupie pacjentek z prawidłowym pH odsetek kobiet /GBS+/ wyniósł 14,8 % natomiast w grupie z nieprawidłowym pH odsetek ten był dwukrotnie wyższy i wynosił 29,7% co sugeruje że nieprawidłowe pH sprzyja nosicielstwu paciorkowców grupy B.

Dodatni test z KOH stwierdzono u 3,4 % badanych kobiet. U żadnej z pacjentek z dodatnim testem KOH nie wyhodowano GBS , niestety aż 20,2% z ujemnym wynikiem testu z KOH było nosicielkami paciorkowca grupy B, co wyklucza ten test jako różnicujący pacjentki / GBS+/ i /GBS-/. W dostępnej literaturze brak jest doniesień na temat nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* w kontekście badanych powyżej parametrów.

W badaniach [Leclair C. 2010] wykazano ochronną rolę naturalnej flory bakteryjnej pochwy przed kolonizacją GBS jednakże w populacji kobiet nie

będących w ciąży. Nasze badania w populacji kobiet będących w ciąży pomiędzy 35 a 37 tygodniem nie potwierdziły tego spostrzeżenia.

Wśród czynników predysponujących do kolonizacji kobiet ciężarnych paciorkowcami grupy B wymienia się wysoki wskaźnik BMI. Kolonizacja występuje również częściej u kobiet rasy czarnej, a także kobiet pracujących w służbach medycznych [Stapleton R. 2005].

(A.B.)

Fizjologiczna mikroflora pochwy różni się w poszczególnych okresach życia kobiety i jest ściśle skorelowana z aktywnością hormonalną. Na zmiany ekosystemu pochwy szczególnie narażone są kobiety ciężarne, u których dochodzi do zwiększenia liczby bakterii tlenowych w pochwie. Zakażenie w obrębie szyjki macicy u kobiety ciężarnej prowadzić może do zapalenia owodni, przedwczesnego odpłynięcia wód płodowych, zakażenia wewnątrzmacicznego, porodu przedwczesnego, zakażenia okołopołogowego zarówno u położnicy jak i noworodka. Wśród drobnoustrojów które powszechnie bytują w przewodzie pokarmowym i układzie moczowo-płciowym kobiety, mogą występować paciorkowce grupy B (*Streptococcus agalactiae*, GBS). Zakażenie *S. agalactiae* mogą się objawiać pod postacią wczesnego zakażenia (EOD early onset disease) u noworodków poniżej 7 doby życia najczęściej jako posocznica, zapalenie płuc bądź zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Postać późna zakażenia GBS (LOD- late onset disease) dotyczy noworodków pomiędzy 7 a 89 dobą życia, może ona także przyjmować postać posocznicy i zapalenia opon mózgowo- rdzeniowych, zakażenia układu moczowego i układu oddechowego, zapalenie stawów i tkanki łącznej. Aktualnie obowiązujące wytyczne Centers for Disease Control and Prevention (CDC) zostały opublikowane w 2002 roku. Zalecają one pobranie posiewów z przedsionka pochwy i odbytu w kierunku *S. agalactiae* u wszystkich ciężarnych kobiet pomiędzy 35 a 37 tygodniem ciąży oraz profilaktyczną antybiotykoterapię śródporodową u nosicielek [Kotarski J. 2008, Heczko P.B. 2008, Stupak A. 2010, CDC 2010].

Analizowane przez nas grupy kobiet ciężarnych były podobne pod względem zaawansowania ciąży od 35 do 37 tygodnia ciąży. Nosicielkami GBS było 19,5 % przebadanych kobiet (spośród których nosicielstwo GBS w pochwie wynosiło 17,8%, w odbycie 11,0%). Wyniki te są zbieżne z danymi literaturowymi, w których nosicielstwo określa się na 10-30 % [Heczko P.B. 2008, CDC 2010, Tomaszewski J.

2012]. Kierzkowska i wsp. w prowadzonych przez siebie badaniach obserwowali wzrost nosicielstwa GBS w 37-41 tygodniu ciąży w stosunku do 12-27 tygodnia ciąży ponad 4-krotnie [Kierzlowska M. 2012].

W badaniu oceniano też stężenie wysoce czułego białka C- reaktywnego (hsCRP) jako markera ogólnoustrojowego procesu zapalnego. CRP syntetyzowane jest głównie w hepatocytach w odpowiedzi na zakażenie i uszkodzenie tkanek. W wydzielanie CRP jest stymulowane przez cytokiny prozapalne: IL-1, IL-6, TNF-α. [Gołąb 2013, Łukaszewicz M. 2007]. Wzrost stężenia CRP obserwuje się najczęściej u kobiet ciężarnych z toczącym się procesem zapalnym oraz u kobiet, u których dochodzi do przedwczesnego pęknięcia błon płodowych czy zahamowania wzrostu wewnątrz macicznego [Rzepka R. 2009].

W chwili kwalifikowania kobiet do badania średnie stężenie hsCRP w grupie kobiet ciężarnych nie będących nosicielkami GBS wynosiło 3,66 mg/dL, w grupie nosicielek GBS 3,18 mg/dL. Średnia liczba leukocytów nie przekraczała 10 tys/L w każdej grupie badanej W grupie pacjentek GBS dodatnich wynosiła 9,37 10^9/L, natomiast w grupie pacjentek GBS ujemnych wynosiła 9,16 10^9/L.

Stężenie hsCRP wg klasyfikacji zaproponowanej przez Pawlaczyka wynosiło odpowiednio w grupie kobiet z prawidłową czystością pochwy 3,60 mg/dL, w grupie z pośrednią czystością pochwy 4,40 mg/dL, natomiast w grupie z nieprawidłową czystością pochwy 3,27 mg/dL. Średnia liczba leukocytów w grupach badanych kobiet nie przekraczała 10 tys/L. Kobiety ciężarne z prawidłową czystością pochwy- 9,22 10^9/L, pośrednią czystością pochwy 9,25 10^9/L, z nieprawidłową czystością pochwy 9,45 10^9/L.

Pitiphat i wsp. analizując stężenie CRP u kobiet ciężarnych we wczesnej ciąży wykazali, że zwiększone CRP wiąże się ze zwiększonym ryzykiem porodu przedwczesnego. Ryzyko było większe gdy u kobiet w przeszłości już wystąpił poród przedwczesny [Pitiphat W. 2005]. Na uwagę zasługuje także praca Cobo i wsp., którzy u kobiet ciężarnych z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych (przed upływem 34 tygodnia ciąży) analizowali stężenia CRP w płynie owodniowym, surowicy i wydzielinie z pochwy matki. Z ich obserwacji wynika, że wysokie stężenie CRP w płynie owodniowym jest niezależnym czynnikiem ryzyka MIAC [Cobo T. 2014].

W naszych badaniach nie zaobserwowaliśmy takich zależności. Stężenie CRP powyżej 4 mg/dL nie wiązało się z wcześniejszym zakończeniem ciąży. Spośród

innych, oprócz procesu zapalnego, przyczyn podwyższonego stężenia CRP wymienia się otyłość oraz palenie tytoniu.

W badaniu Kac i wsp. obserwowali wzrost CRP wraz ze wzrostem BMI u ciężarnych w pierwszym trymestrze ciąży [Kac G. 2011]. Cygarek i wsp. zaobserwowali podobną zależność. Wzrost stężenia CRP towarzyszył wyższym poziomom BMI w grupie kobiet ciężarnych w porównaniu z grupą kontrolną (kobiet ciężarnych z prawidłową masą ciała z cukrzycą ciążową i bez) [Cygarek K. 2008]. W naszym badaniu nie zaobserwowaliśmy takiej zależności, gdyż kobiety objęte badaniem wykazywały prawidłowe BMI. Niektóre dane literaturowe wskazują na obniżenie stężenia CRP u kobiet, które stosują leki z grupy statyn lub fibratów. Badane przez nas ciężarne nie przyjmowały leków z wyżej wymienionych grup [Pearson T.A. 2003].

W badaniach Banaem i wsp. wskazywali na dodatnią wartość CRP w pierwszych tygodniach ciąży dla przewidywania przedwczesnego porodu na poziomie 17%, a dla przedwczesnego pęknięcia błon płodowych 6%. Ujemna wartości predykcyjna dla przedwczesnego porodu jak i przedwczesnego pęknięcia błon płodowych wynosiła odpowiednio 98 % i 99%. Oznacza to, że jeśli stężenie CRP na początku ciąży było niskie, to w późniejszym okresie ciąży prawdopodobieństwo przedwczesnego porodu i przedwczesnego pęknięcia błon płodowych było znikome [Banaem L.M. 2012].
Podobnie Hivilson i wsp. analizując stężenie CRP w surowicy kobiet rodzących przedwcześnie, zaobserwowali, iż wysoki poziom CRP na początku ciąży wiąże się nawet z dwukrotnie zwiększonym ryzykiem porodu przedwczesnego [Hivilson G.B 2002].

Cytokiny należą do grupy glikoprotein o małej masie cząsteczkowej, uczestniczą one w aktywacji komórek układu odpornościowego oraz koordynują wytwarzanie i wydzielanie przeciwciał i innych cytokin [Banaem L.M. 2012].

W wielu badaniach rozważa się korzyści płynące z oznaczania stężenia niektórych cytokin (IL-6, TNF-α) i antyoksydantów w różnych rodzajach materiału biologicznego tj. surowicy krwi matki, płynnie owodniowym czy też w wydzielinie z pochwy jako biomarkera stanu zapalnego [Banaem L.M. 2012]. Wzrost stężenia IL-6 wyprzedza wzrost stężenia CRP, a TNF-α prawdopodobnie należy do mediatorów procesu przyczyniającego się do zakończenia ciąży. Znajomość czasu półtrwania cytokin w osoczu pozwala na wykorzystanie ich do monitorowania

rozwoju reakcji zapalnych i co za tym idzie prowadzenia skutecznej terapii [Banaem L.M. 2012].

W badaniach własnych obserwowano istotnie wyższe stężenia IL-6 w grupie kobiet z pośrednią czystością pochwy niż w grupie kobiet z nieprawidłowa czystością pochwy. Kalinka i wsp. oceniając poziom cytokin m. in. IL-6 w wydzielinie szyjkowo- pochwowej u kobiet w 26 tygodniu ciąży zaobserwowali obniżenie stężenia cytokin w grupie kobiet, u których wykryto bakteryjne zapalenie pochwy lub *M. hominis* i *U. urealyticum.* Wyniki prowadzonych przez nich badań sugerują, iż pomiar cytokin we wczesnej ciąży może być przydatny w przewidywaniu wczesnych zakażeń noworodków [Kalinka J. 2006].

W badaniach Beigi i wsp. analizowali stężenie IL-6 w wydzielinie z kanału szyjki macicy w grupie kobiet ciężarnych (ok. 13 t.c.) z bakteryjnym zapaleniem pochwy (bez równoczesnych zakażeń przenoszonych drogą płciową) oraz u kobiet nie będących w ciąży. Obserwowali wyższe stężenie interleukiny w grupie kobiet ciężarnych. Natomiast nie zanotowano różnic w stężeniach opisanej IL-6 między grupami z zakażeniem i bez zakażenia bakteryjnego pochwy [Begi R.H. 2007].

Wyniki powyżej cytowanych badań nie zostały potwierdzone przez zespół badawczy Balkus i wsp., którzy analizowano stężenia IL-6 w grupach kobiet ciężarnych i nie będących w ciąży. Wśród populacji kobiet zakwalifikowanej do analizy wyodrębniono dwie podgrupy: z zakażeniem i bez zakażenia bakteryjnego pochwy. W grupie kobiet ciężarnych zaobserwowano wzrost stężenia IL-6 w stosunku do grupy kontrolnej. Natomiast nie zanotowano różnic w stężeniach opisanej IL-6 między grupami z zakażeniem i bez zakażenia bakteryjnego pochwy [Balkus J. 2010].

W badaniu Łukaszewskiego i wsp. oceniano poziom IL-6, CRP i WBC w surowicy krwi pacjentek z rozpoznanym przedwczesnym pęknięciem błon płodowych. W przypadku wszystkich analizowanych parametrów autorzy zauważyli istotny wzrost ich stężenia w czasie 12 godzin od momentu porodu, niezależnie od występowania wrodzonego zakażenia u noworodka [Łukaszewski T. 2013].

Bardzo ciekawych spostrzeżeń dostarczyły badania Kopyra i wsp. prowadzone wśród ciężarnych z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych. Autorzy zaobserwowali najwyższą wartość predykcyjną oznaczeń dla IL-6 w odniesieniu do przewidywania czasu przedłużania ciąży do momentu zakończenia porodu. Dla 7 dni AROC wynosiło 0,690 (95% P.U. 0,525-0,856), a najlepszym punktem odcięcia

dzielącym grupę badaną na pacjentki o wysokim i niskim ryzyku porodu w ciągu 7 dni jest stężenie IL-6 wynoszące 7 pg/mL [Kopyra P. 2010].

Także Vogel i wsp. stwierdzili, że IL-6 może stanowić dobry marker w przewidywaniu porodu przedterminowego. Autorzy pracy zwrócili uwagę, że połączenie kilku parametrów tj. długości szyjki macicy, stężenia IL-6 oraz IL-8 daje wyższą wartość predykcyjną w przewidywaniu porodu przedwczesnego [Vogel I. 2005]. W kolejnej bardzo interesującej pracy Vogel i wsp poddając analizie stężenia białek w surowicy krwi matki, wydzielinie z szyjki macicy i pochwy, w grupie kobiet wysokiego ryzyka bez objawów przedwczesnego porodu pomiędzy 16-30 tygodniem ciąży, zaproponowali model prognozowania porodu przed 35 tygodniem ciąży, na który składają się podwyższony poziom TNF-α w surowicy krwi matki, wysokie stężenie rozpuszczalnego receptora dla IL-6 w wydzielinie z szyjki macicy i pochwy przy długości szyjki macicy przekraczającej 25 mm. Model ten cechuje się 69% czułością, 95% swoistością, przy 82% dodatniej i 91% ujemnej wartości predykcyjnej [Vogel I. 2007]

W badaniach Grenache i wsp. analizowano możliwość wykorzystania IL-6, TNF-α i IL-2R w wydzielinie z pochwy u kobiet z objawami porodu przedwczesnego. Także w tym badaniu stężenie IL-6 było czynnikiem ryzyka związanym z porodem przedwczesnym [Grenache D.G. 2004].

Holst i wsp. oceniali stężenia cytokin w płynie owodniowym i/lub w wydzielinie z pochwy u kobiet z objawami porodu przedwczesnego (bez przerwania ciągłości błon płodowych) w aspekcie możliwości wyodrębnienia grupy pacjentek, u których w ciągu 7 dni od pierwszych objawów dojdzie do rozwiązania ciąży. Analizowane dane wskazują, iż kobiety rodzące w ciągu 7 dni miały znacznie wyższy poziom IL-6, IL-17 i TNF-α zarówno w płynie owodniowym, jak i w wydzielinie z szyjki macicy, niż kobiety rodzące później. Dla IL-6 w płynie owodniowym obserwowano AUC równe 0,82, natomiast w wydzielinie z cewki moczowej AUC wynosiło 0,72 [Holst R.M. 2009]. W kolejnej pracy Holst i wsp. prowadząc oznaczenia białek w płynie owodniowym i wydzielinie z szyjki macicy u kobiet ciężarnych z objawami porodu przedwczesnego (w 22-33 tygodnia ciąży) zaobserwowali wzrost stężenia IL-6 oraz TNF-α u kobiet, u których wystąpiło zakażenie płynu owodniowego. Postulowano też rolę IL-6, jako cytokiny korelującej z wystąpieniem porodu przedwczesnego, w ciągu 7 dni od pierwszych objawów Holst R.M. 2011]

Cobo i wsp. oznaczyli w surowicy krwi i płynie owodniowym IL-6 oraz białka proteomiczne kalgranulina A i C oraz defensynę neutrofilów. W badaniu tym wykazano związek IL-6 z zakażeniem owodni z PPROM oraz wykazano, że cytokina ta jest niezależnym czynnikiem ryzyka porodu przedwczesnego [Cobo T. 2012]. W kolejnej pracy autorka potwierdziła swoje spostrzeżenia związane z poziomem IL-6 w płynie z owodni. Analizując natomiast stężenia IL-17 oraz TNF-α obserwowała bardzo niski pozom tych parametrów, a w 50% przypadków był nawet nieoznaczalny [Cobo T. 2014].

Thomakos i wsp. w 2010 roku wskazywali, iż odsetek porodów przedwczesnych jest konsekwencją przewlekłego procesu zapalnego, który rozpoczyna się w pierwszych tygodniach ciąży. W przeprowadzonych badaniach u około 90% kobiet, które rodziły przedwcześnie, stwierdzono poziom IL-6 przekraczający próg, który wyznaczono w oparciu o krzywą ROC, a 80% kobiet wykazywało podwyższone stężenie TNF-α. Podwyższenie stężeń IL-6 i TNF-α korelowało także z dodatnim posiewem płynu owodniowego. Ujemna wartość predykcyjna dla podwyższonych stężeń IL-6 i TNF-α wynosiła odpowiednio 96,3% i 90,4% [Thomakos N. 2009]

W badaniach Rzepka i wsp. oceniali stężenie IL-6 w wydzielinie pochwy w grupie pacjentek zagrożonych porodem przedwczesnym, za pomocą szybkich testów lateksowych. Badacze zaobserwowali znamiennie wyższe stężenia IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej u ciężarnych zagrożonych porodem przedwczesnym, w porównaniu do ciężarnych zdrowych. Stężenia IL-6 po wdrożeniu leczenia tokolitycznego nifiedypiną i fenoterolem ulegały obniżeniu w stosunku do wartości wyjściowej [Rzepka R. 2009].

Łukaszewski i wsp. określali wartość predykcyjną TNF-α w surowicy krwi kobiet ciężarnych w 30-36 tygodniu ciąży (w 6 i 12 godzinie od przedwczesnego pęknięcia błon płodowych). Zdaniem autorów oznaczanie TNF-α w 12 godzinie od rozpoczęcia porodu może być przydatnym narzędziem diagnostycznym występowania zwiększonego ryzyka zakażenia matki i noworodka [Łukaszewski T. 2015]. Wyniki prowadzonych przez nas badań sugerują przydatność oznaczeń IL-6 w ocenie czystości mikrobiologicznej pochwy i znajdują potwierdzenie w przytoczonym piśmiennictwie.

Oznaczanie cytokin zdaje się być także pomocne w ocenie skuteczności stosowanej terapii przeciwdziałającej wcześniejszemu zakończeniu ciąży.

W badaniach prowadzonych przez Khazardoust i wsp. w grupie kobiet zagrożonych porodem przedwczesnym w trakcie stosowania betamethasonu obserwowano obniżenie prozapalnej IL-17 w wydzielinie z pochwy. Uzyskane wyniki wskazują, że podawanie glikokortykosteroidów może znacząco zmienić stan równowagi cytokin w szyjce macicy, zmniejszyć stan zapalny, przez co w efekcie opóźnić poród [Khazardoust S. 2012].

Jonsson i wsp. oznaczając poziomy cytokin m.in. IL-6, IL-8, IL-17, TNF-α u kobiet z prawidłowym przebiegiem ciąży i ze stanem przedrzucawkowym wykazali istotne różnice stężeń IL-6 i IL-8 między obiema badanymi grupami. Fakt ten może sugerować iż stan przedrzucawkowy jest związany ze zwiększoną odpowiedzią zapalną. Jednak trudno jest stwierdzić czy zmiany w równowadze układu odpornościowego są przyczyną czy raczej konsekwencją stanu przedrzucawkowego [Jonsson Y. 2006]

Toldi i wsp śledząc patogenezą stanu przedrzucawkowego obserwowali przesunięcie w Th1/Th2 oraz w Th17/Treg w kierunku produkcji cytokin prozapalnych. Wykazano zwiększone stężenie IL-17 (wytwarzanej przez limfocyty T pomocnicze i komórki NK) w stanie przedrzucawkowym. Nie stwierdzili oni natomiast różnic w stężeniu IL-17 produkowanej przez limfocyty pacjentek z łagodnie i ciężko przebiegającą rzucawką, podobnie też nie obserwowano różnic w stężeniach IL-17 u kobiet z nieprawidłowym (zbyt małym) i prawidłowym przyrostem masy ciała płodu. Wyniki badań, podobnie jak w pracy Jonsson Yvonne i wsp., wskazują na zaangażowanie układu odpornościowego w patologii stanu przedrzucawkowego [Toldi G. 2011].

Nie wszystkie prace zdają się potwierdzać rolę IL-6 oraz TNF-α w patologii ciąży. Wyniki badań Weissnbacher i wsp. nie potwierdziły wartości oznaczeń IL6, TNF-α i IL-17 w płynie owodniowym jako biomarkerów w diagnostyce wewnątrzmacicznego procesu zapalnego [Weissnbacher T. 2013].
Także Yükseel i wsp. oznaczając poziom IL-6 u pacjentek z rozpoznanym porodem przedwczesnym, bez klinicznych i biochemicznych objawów infekcji, nie zaobserwowali istotnych różnic stężenia badanej cytokiny w porównaniu z kobietami z prawidłowo przebiegająca ciążą [Yükseel I. 2013].

W pracy Wasiela i wsp. oceniano m.in. stężenie IL-6 w wydzielinie pochwy u kobiet w 22-36 tygodniu ciąży z bakteryjnym zapaleniem pochwy. Zdaniem autorów wiek ciążowy badanej populacji nie miał wpływu na wysokość stężeń

oznaczanych cytokin oraz nie obserwowano istotnych różnic stężeń IL-6 w porównaniu z grupą kobiet w ciąży bez stanu zapalnego pochwy. Interesująca hipoteza badawcza została przedstawiona pezwz Peltera i wsp., iż leukocyty jednojądrzaste krwi obwodowej wyizolowane od kobiet z wywiadem porodu przedwczesnego produkują większa ilość TNF-α, nawet po nieznacznej stymulacji bakteriami związanymi z porodem przedwczesnym tj. *E.coli, S. agalactiae, U. uroliticum,* w porównaniu z kobietami bez obciążenia porodem przedwczesnym w wywiadzie nie została potwierdzona w hodowli in vitro [Peltera M. 2009].

W prowadzonych badaniach Rode i wsp. oceniali związek pomiędzy poziomem cytokin w przebiegu ciąży bliźniaczej a ryzykiem porodu przedwczesnego. Analizie poddano także efekt leczenia progesteronem. W trakcie prowadzonych obserwacji nie znaleziono istotnych zmian poziomów IL-6 oraz TNF-α w surowicy krwi pacjentek zagrożonych zakończeniem ciąży [Rode L. 2012].
Badania prowadzone przez Chow i wsp. dostarczają cennych informacji o poziomach cytokin m.in. IL-6, IL-17 oraz TNF-α w płynie owodniowym oraz surowicy krwi matki w drugim trymestrze ciąży o prawidłowym przebiegu, bez cech stanu zapalnego. Stężenie IL-6 w płynie owodniowym było znacząco wyższe niż w surowicy krwi matki, w przeciwieństwie do stężeń IL-17 i TNF-α, które wykazywały istotnie statystycznie wyższe stężenia w surowicy krwi matki niż w płynie owodniowym. Praca ta, jako jedna z nielicznych, poświęcona jest ocenie poziomu cytokin w fizjologicznie przebiegającej ciąży [Chow S. 2008].

W doniesieniu zjazdowym Zwoździak i wsp. wykazali istotnie wyższy poziom IL-17 w wydzielinie z pochwy w grupie kobiet ciężarnych w trzecim trymestrze ciąży z BV, w porównaniu z grupą kobiet w tym samym okresie ciąży nosicielek GBS oraz kobiet z II^0 czystości pochwy wg kryteriów Amsela. Wyniki opublikowanej pracy mogą przemawiać za użytetnoscią IL-17 jako nowego wskaźnika w diagnostyce bakteryjnej waginozy [Zwoździak B. 2012].

Jednym z czynników niekorzystnie wpływających na rozwój ciąży jest stres oksydacyjny oraz wzrost produkcji wolnych rodników. Reaktywne formy tlenu (RFT) mogą wpływać na organizm dwojako. Z jednej strony możemy obserwować ich pozytywne działanie na komórki rozrodcze, ale także mogą działać negatywnie i brać udział w patogenezie poronienia [Bałajewicz- Nowak M. 2011, Ciężka E. 2011].

Proces, w którym reaktywne formy tlenu działają destrukcyjnie na organizm jest wynikiem braku równowagi miedzy reakcjami prooksydacyjnymi, a antyoksydacyjnymi. Wysokie stężenie RFT powoduje utlenienie lipidów wchodzących w skład błon komórkowych, uszkodzenie białek strukturalnych i enzymatycznych oraz niszczenie struktur DNA. Źródłem wolnych rodników może być stymulacja fagocytozy przez patogeny, LPS oraz wybuch tlenowy. Do czynników zapobiegających utlenienieniu należą należą dysmutaza ponadtlenkowa, całkowita zdolność antyoksydacyjna osocza (FRAP), peroksydaza glutationowa.

W badaniach własnych obserwowaliśmy nieznacznie niższy poziom FRAP w grupie pacjentek z nieprawidłową czystością pochwy, może wiązać się on ze wzrostem produkcji reaktywnych form tlenu i spadkiem obrony antyoksydacyjnej organizmu. W prowadzonych badaniach nosicielstwo GBS nie miało wpływu na zmianę równowagi oksydacyjnej organizmu.

Karacay i wsp. wykazali niższe stężenie całkowitej zdolności antyoksydacyjnej w surowicy kobiet z cukrzycą ciężarnych i w grupie kobiet w przebiegu stanu przedrzucawkowego. W prowadzonych badaniach autorzy obserwowali różnice w poziomach antyoksydantów w zależności od narastania stanu przedrzucawkowego. Obniżenie wartości FRAP tłumaczyli wyczerpywaniem się zapasów antyoksydantów i wzrostem produkcji wolnych rodników [Karacay Ö. 2010].

Dokładne oszacowanie stopnia peroksydacji lipidów jest trudne, gdyż wykazują one bardzo krótki okres półtrwania, w związku z czym oznacza się produkty peroksydacji lipidów m.in. substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) i dialdehyd malonowy (MDA). W środowisku o pH obojętnym dialdehyd malonowy występuje w formie anionu enolowego i choć wykazuje małą reaktywność chemiczną jest toksyczny, powoduje uszkodzenie wielu ważnych biologicznie molekuł, działa mutagennie i aterogennie.

W badaniach własnych nieznacznie wyższe stężenie TBARS obserwowano w grupie nosicielek GBS 8,29 μmol/L w grupie kobiet GBS ujemnych 7,73 μmol/L, co tłumaczyć można odpowiedzią na bodziec jakim jest obecność drobnoustrojów w drogach rodnych kobiety ciężarnej.

Szereg prowadzonych badań wskazuje na wzrost MDA w fizjologicznie przebiegającej ciąży [Karacay Ö. 2010, Kaur G. 2008]. Wzrost stężenia produktów

peroksydacji lipidów w trakcie ciąży może wiązać się z podwyższeniem stężenia trójglicerydów i wolnych kwasów tłuszczowych w surowicy krwi [Rudra C.B. 2006]. Znacząco wyższe wartości stężeń MDA w porównaniu z ciążą fizjologiczną obserwuje się w ciąży powikłanej nadciśnieniem lub stanem przedrzucawkowym (Rudra C.B. 2006, ILhan N. 2002).

W badaniach przeprowadzonych przez Kerecay i wsp. zanotowano istotnie wyższe stężenie MDA w grupie kobiet ciężarnych chorujących na cukrzycę oraz w grupie kobiet ze stanem przedrzucawkowym w porównaniu z kobietami z prawidłowo przebiegająco ciążą. Stężenia MDA nie różniły się natomiast pomiędzy grupą kobiet ze stanem przedrzucawkowym a grupa ze stanem przedrzucawkowym dodatkowo powikłanym cukrzycą [Karacay Ö. 2010]. W innym badaniu Karacay najwyższe stężenia MDA obserwowano u kobiet z ciężkim stanem przerdrzucawkowym w stosunku do kobiet z cukrzycą ciężarnych i łagodnie przebiegającą rzucawką.

Podobne spostrzeżenia zaobserwowali Kaur i wsp., którzy odnotowali niższe stężenie MDA u kobiet w grupie kontrolnej w porównaniu z ciężarnymi [Kaur G. 2008]. Wyższe stężania MDA obserwowali w grupie kobiet z ciężkim stanem przedrzucawkowym w stosunku do kobiet z cukrzycą ciężarnych i łagodnie przebiegającą rzucawką [Kaur G. 2008]. Natomiast Peuchant i wsp. zaobserwowali wyższe stężenia dialdehydu malonowego w grupie kobiet ciężarnych z cukrzycą ciążową i w grupie kobiet ciężarnych z cukrzycą typu I, co sugeruje zwiększone nagromadzenie nadtlenków lipidowych w osoczu [Peuchant E. 2004]. Llurba i wsp. obserwowali znaczny wzrost MDA i LPO w grupie kobiet ze stanem przed rzucawkowym i kobiet z cukrzycą ciążową, w porównaniu z grupą kontrolna nie ciężarnych kobiet [Llurba E. 2004].

Ceruloplazmina (CP) należy do głównych metaloprotein osocza. Białko to produkowane jest głównie przez komórki wątroby i astrocyty, aktywowane komórki linii monocytarnej i limfocyty oraz komórki macicy i łożyska. Zaliczamy ją do dodatnich białek ostrej fazy, gdyż jej wytwarzanie wzrasta w wyniku infekcji i stanu zapalnego. Zjawisko to jest wynikiem odpowiedzi organizmu na towarzyszące tym procesom zmiany stanu oksydacyjnego osocza. Przyjmuje się, że ceruloplazmina odpowiada za 80% właściwości oksydacyjnych osocza [Wierzbicka D. 2014]. CP wiąże ok 85% jonów miedzi zawartych w surowicy krwi, dzięki czemu przeciwdziała wolnorodnikowemu uszkodzeniu białek, lipidów i kwasów

nukleinowych (gdyż utleniona postać Cu^{2+} jest mniej toksyczna niż zredukowana Cu^{+}). Wykazano też, ze CP bierze udział w oksydacji lipoprotein o małej gęstości. Na uwagę zasługuje również ferroksydazowa funkcja CP. Bierze ona udział w obrocie żelaza utleniając jony Fe^{2+} do Fe^{3+}, co ułatwia ich wiązanie przez transferynę i ferrytynę.

W trakcie badań własnych obserwowano nie znacznie niższą aktywność ceruloplazminy (CP_{OA}) w grupie nosicielek GBS. Analizując CP_{OA} pod względem stopni czystości pochwy wg klasyfikacji Pawlaczyka, odnotowano najniższą wartość aktywności CP w grupie kobiet z pośrednim stopniem czystości pochwy.

W pracy Vural i wsp. obserwowali niską aktywność ceruloplazminy u kobiet ciężarnych u których wystąpiło poronienia na tle autoimmunologicznym lub poronienie z niewyjaśnionych przyczyn, w stosunku do kobiet z prawidłowo przebiegająca ciążą oraz nie będących w ciąży [Vural P. 2000].

W prowadzonych badaniach przez Loruro, i wsp. wykazano znacznie wyższe stężenie miedzi, ceruloplazminy oraz aktywność ceruloplazminy u kobiet w trzecim trymestrze ciąży w porównaniu z grupą kontrolna kobiet nie będących w ciąży. Natomiast stosunek aktywności oksydazowej ceruloplazminy do stężenia miedzi i ceruloplazminy był wyższy w grupie kontrolnej. Wyniki tej pracy sugerują, że aktywność oksydazową ceroloplazminy może być czułym wskaźnikiem poziomu miedzi w surowicy krwi matki, a także wskaźnikiem stopnia wyczerpania zasobów miedzi matki w celu radzenia sobie z potrzebami płodu [Louro M.O 2001].

W piśmiennictwie znaleźć można także próby oznaczania aktywności CP w wydzielinie z pochwy ciężarnych. W prowadzonych badaniach przez zespół Ogino i wsp. obserwowano wzrost aktywności CP, co wiązało się z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych [Ogino M. 1999].

Badania parametrów stresu oksydacyjnego prowadzone przez Onaron i wsp. w grupie kobiet ciężarnych borykających się z uporczywymi wymiotami wykazały, że dolegliwości związane z wymiotami nie mają wpływu na stężenie takich parametrów jak stężenie Cp, grup-SH i wodorotlenków. Natomiast mają całkowita aktywność antyoksydantów uległa obniżeniu w tej grupie badanej [Onaron Y. 2014].

W pracy Vitoratos i wsp. oznaczano stężenie ceruloplazminy i aktywności ferroksydazowoj CP w surowicy krwi kobiet w 32-37 tygodniu ciąży ze stanem przedrzucawkowym. W grupie badanych kobiet zaobserwowano obniżenie aktywności CP przy równoczesnym wzroście stężenia CP w porównaniu z grupą

kontrolną kobiet o prawidłowym przebiegu ciąży. Wyniki tej pracy przemawiają za zachwianiem procesów ochrony antyoksydacyjnej w organizmie kobiet ze stanem przzredrzucawkowym, co może przyczynić się do nieprawidłowego rozwoju ciąży [Vitoratos N. 1999].

W pracy prowadzonej przez Tayrab zwrócono uwagę na wzrost stężenia miedzi i aktywności CP w surowicy krwi matki z niskim stężeniem żelaza, hemoglobiny u kobiet ciężarnych w porównaniu z grupą ciężarnych nie wykazującą cech niedokrwistości niedoborowych [Tayrab E. 2013].

Fosset i wsp. oceniali stężenia parametrów gospodarki żelazem badając stężenie żelaza, ferrytyny i rozpuszczalnego receptora transferryny oraz stężenie miedzi, ceruloplazminy i aktywności ceruloplazminyw surowicy krwi kobiet ciężarnych w 34 tygodniu ciąży. Parametrem najbardziej wrażliwym na niedobory żelaza w organizmie okazał się receptor transferryny, którego poziom także wykazywał odwrotna liniową zależność względem żelaza i ceruloplazminy [Fosset C. 2003] .

Szczególną rolę w ochronie oksydacyjnej odgrywają grupy tiolowe (-SH) glutationu, które nadają mu reaktywność i decydują o udziale tego związku w reakcjach antyoksydacyjnych. W prowadzonych badaniach obserwowano najniższe stężenie grup –SH w grupie nosicielek GBS, co może wskazywać na toczący się proces zapalny oraz narastający stres oksydacyjny. Glutation pod wpływem peroksydazy glutationowej może ulegać utlenieniu do GSSG (glutation utleniony), łatwo reaguje z wolnymi rodnikami substancji organicznych, w ten sposób tworząc mniej toksyczny rodnik glutationu. Grupy tiolowe glutationu są w równowadze z grupami tiolowymi białek. Glutation bierze udział w utrzymaniu grup tiolowych białek w stanie zredukowanym, co wpływa na poprawność ich funkcjonowania [Hadden D. 2009]. W badaniu własnym obserwowano niższe ale nie istotnie statystycznie stężenie grup- SH w grupie pacjentek z nieprawidłową czystością pochwy oraz w grupie nosicielek GBS w porównaniu z wartościami pozostałych grup. Może to wskazywać na toczący się proces zapalny oraz narastający stres oksydacyjny. W pracy Llubra i wsp wykazano obniżenie poziomu grup-SH w zależności od stopnia nasilenia rzucawki. Grupy tiolowe zwane cząsteczkami redox wrażliwymi, odgrywają istotną rolę w komórce przeciwdziałając szkodliwym skutkom procesu aktywacji tlenu. Dodatkowo też jako bardzo wczesny

produkt utleniania białek mogą działać jako mechanizmy ochronne w komórkach łożyska minimalizując uszkodzenia płodu.
W badaniach Ciężka i wsp. obserwowali wyższy poziom grup- SH w ślinie pacjentek z cukrzycą w porównaniu do grupy kobiet ciężarnych z fizjologicznym przebiegiem ciąży [Ciężka E. 2011]. Odmienne wyniki badań można tłumaczyć zastosowaniem do analizy innego materiału biologicznego.

W dostępnym piśmiennictwie trudno napotkać na literaturę skupiającą się na analizie parametrów stanu zapalnego i stanu oksydacyjnego w grupie kobiet z prawidłowym przebiegiem ciąży. Nie ulega wątpliwości iż należy kontynuować prace, które ułatwią w przyszłości klinicystom sprawne rozpoznanie infekcji i przyspieszą decyzję o rozwiązaniu ciąży.

7. Wnioski

1. Stężenie IL-6 we krwi mogłoby być użyteczne do rozróżnienia pacjentek ciężarnych z pośrednią czystością pochwy od pacjentek z nieprawidłową czystością pochwy.

2. Nosicielstwo Streptococcus agalactiae u zdrowych kobiet ciężarnych wskazuje na konieczność wykonywania mikrobiologicznych badań przesiewowych, w celu zapobiegania zakażeniom noworodków oraz uniknięcia zbytecznej antybiotykoterapii.

3. Wyniki oceny czystości mikrobiologicznej pochwy u kobiet ciężarnych zawsze należy interpretować w powiązaniu z danymi klinicznymi.

8. Streszczenie w języku polskim i angielskim

Ocena wybranych wykładników stanu zapalnego u kobiet ciężarnych w kontekście czystości mikrobiologicznej pochwy

W okresie ciąży pod wpływem zmian hormonalnych, immunologicznych i anatomicznych dochodzi do częstych zmian składu mikroflory dróg rodnych kobiety. Zmiany te mogą stać się przyczyną licznych powikłań ginekologiczno-położniczych. Wśród drobnoustrojów, które powszechnie bytują w przewodzie pokarmowym i układzie moczowo- płciowym kobiet wymienia się paciorkowce grupy B (*Streptococcus agalactiae,* GBS). Kolonizacja przez *Streptococcus agalactiae* dróg rodnych stanowi istotny czynnik ryzyka okołoporodowego zakażenia noworodków, w tym przede wszystkim sepsy i zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych. Zakażenie to może przyjmować zarówno postać wczesną i późną, często też bywa zbyt późno rozpoznane.

Współcześnie antybiotykoterapii poddaje się okołoporodowo pacjentki będące nosicielkami GBS, jak i te które takiego wyniku badania nie posiadają lub też jest nieaktualny (powyżej 5 tygodni). Powoduje to narażenie znacznej populacji ciężarnych i ich płodów na nie potrzebną antybiotykoterapię.

Celem pracy była próba wytypowania wykładników stanu zapalnego i/lub stresu oksydacyjnego, które pozwoliłyby na alternatywną wobec mikrobiologii biochemiczną identyfikację pacjentek ciężarnych z nieprawidłową czystością pochwy, a szczególnie zagrożonych nosicielstwem *Streptococcus agalactiae.*
Badaniem objęto 118 zdrowych kobiet z prawidłowo przebiegająca ciąża, które były pacjentkami Poradni Ginekologiczno- Położniczej przy ul. Niegolewskich 29 w Poznaniu.

U wszystkich ciężarnych w 35-37 tygodniu ciąży wykonano wymaz z przedsionka pochwy i odbytu oraz pobrano krew. Na podstawie wyniku badania mikrobiologicznego podzielono pacjentki na grupy wg klasyfikacji Pawlaczyka (z prawidłową czystością pochwy, z pośrednią czystością pochwy i z nieprawidłową czystością pochwy) oraz na podstawie nosicielstwa *Streptococcus agalactiae* (GBS+ i GBS-). W surowicy krwi pacjentek oznaczano wybrane parametry stanu zapalnego

(WBC. hsCRP, IL-6, IL-17, TNF-α) i stresu oksydacyjnego ($CP_{OA,}$ FRAP, gr-SH, TBARS).

Nosicielkami GBS było 19,5 % przebadanych kobiet (spośród których nosicielstwo GBS w pochwie wynosiło 17,8%, w odbycie 11,0%). Analizując poziom oznaczanych parametrów stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego nie wykazano istotnych różnic pomiędzy kobietami, GBS+ i GBS-.Na postawie przeprowadzonych badań wykazano istotnie wyższe stężenie IL-6 w grupie kobiet z pośrednia czystości pochwy w porównaniu z grupa kobiet z nieprawidłowa czystością pochwy. Parametry stresu oksydacyjnego nie wykazywały istotnych statystycznie zmian

Uzyskane wyniki pozwoliły na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. Stężenie IL-6 we krwi mogłoby być użyteczne do rozróżnienia pacjentek ciężarnych z pośrednią czystością pochwy od pacjentek z nieprawidłową czystością pochwy.

2. Nosicielstwo Streptococcus agalactiae u zdrowych kobiet ciężarnych wskazuje na konieczność wykonywania mikrobiologicznych badań przesiewowych, w celu zapobiegania zakażeniom noworodków oraz uniknięcia zbytecznej antybiotykoterapii.

3. Wyniki oceny czystości mikrobiologicznej pochwy u kobiet ciężarnych zawsze należy interpretować w powiązaniu z danymi klinicznymi.

Summary

„Evaluation of selected markers of inflammatory process in pregnant women in the aspect of vaginal biocenosis"

During pregnancy often comes to changes of woman's genital tracts' biocenosis due to hormonal, immunologic and anatomic changes. These changes can lead to many gynaecological and obstetrical complications. *Streptococcus agalactiae* (GBS) is mentioned among the microorganisms that are usually present in woman's gastrointestinal and urogenital system. *Streptococcus agalactiae* colonization in genital tracts is an important risk factor of neonate's perinatal infection, above all sepsis and meningitis. This infection can occur as early or late form, sometimes it is diagnosed too late.

Women, who are GBS-carriers and those, who do not have any current result of microbiological examination (no result or the result is older then 5 weeks), are treated with antibiotics. This is why many pregnant women are treated unnecessarily.

The aim of this study was an attempt to find inflammation and/or oxidative stress markers, which would enable (independently of microbiological examination) to identify the pregnant women with abnormal vaginal biocenosis, especially with increased risk of GBS-colonization .

The study was performed in the Obstetric-Gynaecological Outpatient Department in Poznan, 29 Niegolewskich street. The study comprised 118 healthy pregnant women with uncomplicated pregnancy.

In all the pregnant women in 35-37 week of pregnancy was performed vaginal and rectal swab, as well as blood examination. The women were divided into groups according to microbiological examination (according to Pawlaczyk's classification: normal, intermediate and abnormal vaginal biocenosis and according to the GBS-colonization: GBS+ and GBS-). In patients' serum were determined inflammation (WBC, hsCRP, IL-6, IL-17, TNF-α) and oxidative stress markers ($CP_{OA,}$ FRAP, gr-SH, TBARS).

19,5% evaluated patients were GBS-carriers (17,8% in vagina, 11,0% in rectum). The inflammation and oxidative stress markers did not differ significantly between the groups GBS+ and GBS-. The concentration of IL-6 in the group with intermediate vaginal biocenosis was significantly higher in comparison with the group with abnormal vaginal biocenosis. The oxidative stress markers did not differ significantly.

The obtained results allowed us to formulate the following conclusions:

1. The study confirmed the usefulness of evaluation of IL-6 concentration for differentiation between pregnant women with intermediate und abnormal vaginal biocenosis.

2. The presence of *Streptoccocus agalactiae* in heaithy pregnant women indicates the necessity of screening microbiological examinations in order to prevent infections in neonates and to avoid unnecessarily treatment with antibiotics.

3. Results of evaluation of vaginal biocenosis in pregnant women must always be interpreted in connection with clinical data.

9. Piśmiennictwo

1. Andreasen K.R., Uldbjerg N, Ramb J, Bodker B. i wsp.: Cytokines and the risk of preterm delivery in twin pregnancies. Obstet Gynecol., 2012,120(1), 60-8.
2. Badowska-Kozakiewicz A.M.: Biologiczna rola czynnika martwicy nowotworów α w fizjologii i patofizjologii. Przegląd Menopauzalny, 2013, 2, 136–141.
3. Balkus K.A. Lawler R., Mitchell C., Hitti J.: Effects of Pregnancy and Bacterial Vaginosis on Proinflammatory Cytokine and Secretory Leukocyte Protease Inhibitor Concentrations in Vaginal Secretions Journal of Pregnancy. 2010, ID 385981, 3.
4. Bałajewicz-Nowak M., Pityński K., Migdał M.: Wpływ zakażeń kanału szyjki macicy u ciężarnych wywołanych przez Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum na układ antyoksydacyjny. Ginekol Pol., 2011, 82, 732-737.
5. Bałajewicz-Nowak M., Pityński K., Migdał M.: Wpływ zakażeń kanału szyjki macicy u ciężarnych wywołanych przez Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum na układ antyoksydacyjny. Ginekol Pol., 2011, 82, 732-737.
6. Beigi R.H., Yudin M.H., Cosentino L., Meyn L.A., i wsp.: Cytokines, Pregnancy, and Bacterial Vaginosis: Comparison of Levels of Cervical Cytokines in Pregnant and Nonpregnant Women with Bacterial Vaginosis. J. Infect Diseases, 2007, 196(9), 1355-1360.
7. Bigos M., Łysakowska M., Wasiela M.: Zakażenia okołoporodowe o etiologii Streptococcus agalactiae. Post. Mikrobiol.,2012, 51(4:), 299–308.
8. Brimil N., Barthell E., Heindrichs U., Kuhn M. i wsp.:Epidemiologia of *S. agalactiae* colonization in Germany. Int J ed Microbiol, 2006, 296 (1), 39–44.
9. Brunzel N.A. Badanie wydzieliny z pochwy. Diagnostyka laboratoryjna 2010, 2, 417-429.
10. Brzychczy-Włoch M., Gosiewski T., Pawlik D., Szumała-Kąkol A. i wsp. Występowanie hiperwirulentnego klonu ST-17 Streptococcus agalactiae u kobiet ciężarnych oraz noworodków. Przegl. Epidemiol 2012; 66: 395- 401.
11. CDC Prevention of Perinatal Grup B Streptococcal Disease Revised Guidelines from CDC, 2010. MMWR 2010, 59 (RR-10):1-27.
12. Chow S.S., Craig M.E., Jones C.A., Hall B.i wsp.: Differences in amniotic fluid and maternal serum cytokine levels in early midtrimester women without evidence of infection. Cytokine, 2008, 44, 78–84.
13. Ciężka E., Pioruńska-Stolzmann M., Surdacka A.: Ocena wybranych antyoksydantów w ślinie kobiet ciężarnych z cukrzycą przedciążową. Dental forum, 2011: 39, 2, 31-37.

14. Cobo T., Jacobsson B., Hougaard D.M., Skogstrand K. i wsp.: Systemic and Local Inflammatory Response in Women with Preterm Prelabor Rupture of Membranes. PLoS One, 2014, 9(1), e85277.

15. Cobo T., Kacerovsky M., Holst R,M,. Hougaard D.M. I wsp.: Intra-amniotic inflammation predicts microbial invasion of the amniotic cavity but not spontaneous preterm delivery in preterm prelabor membrane rupture. Acta Obstet Gynecol Scand., 2012, 91(8), 930–935.

16. Cyganek K., Hebda-Szydło A., Katra B., Wołkow P. i wsp.: Białko C ostrej fazy u kobiet w czasie ciąży powikłanej cukrzycą ciążową. Diabetologia Praktyczna, 2008, 9,(2) 70–75

17. Discacciati M.G., Simoes J.A., Silva M.G., Marconi C, i wsp.: Microbiological characteristics and inflammatory cytokines associated with preterm labor. Arch Gynecol Obstet., 2011, 283(3), 501-8.

18. Dobrowolska-Redo A., Romejko- Wolniewicz E., Zaręba- Szczudlik J., Czajkowski K.: Porównanie przebiegu porodu, wczesnego połogu i okresu noworodkowego w zależności od flory bakteryjnej obecnej w wymazie z dróg rodnych. Perinatologia, Neonatologia i Ginekologia, 2013, 6(2), 73-80.

19. Fraile M. R., Cabero L., Andreu A., Rao G. G.: Prevention of group Bstreptococcal neonatal disease. A plea for a European Consensus. Microbiol Infec, 2001, 7(1), 245–9.

20. Gargano J.W., Holzman ., Senagore P., Thorsen P. i wsp.: Mid- pregnancy circulating cytokine levels, histologic chorioamnionitis and spontaneous preterm birth J Reprod Immunol. 2008, 79(1), 100–110.

21. Gergely T., Rigó J., Stenczer B., Vásárhelyi B.i wsp.: Increased Prevalence of IL-17-Producing Peripheral Blood Lymphocytes in Pre-eclampsia. American Journal of Reproductive Immunology, 2011, 66 (3), 223-229.

22. Gołąb J., Jakóbisiak M., Lasek W., Stokłosa T.: Immunologia, PWN, 2013.

23. Gospodarek E., Racinowski F.: *Streptocooccus agalactiae*- istotny patogen okresu noworodkowego. Medical and Biological Sciences. 2009, 23(1), 5-10.

24. Grenache D.G., Hankins K., Parvin C.A., Gronowski A.M.: Cervicovaginal interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-2 receptor as markers of preterm delivery. Clin Chem., 2004,50,1839–42.

25. Hadden D.R., McLaughlin C.: Normal and abnormal maternal metabolism during pregnancy. Seminars in Fetal & Neonatal Medicine, 2009, 14, 66–71.

26. Heczko P.B., Niemiec T, Lauterbach R i wsp.: Zalecenia dotyczące wykrywania nosicielstwa paciorkowców grupy B (GBS) u kobiet w ciąży i zapobiegania zakażeniom u noworodków spowodowanym przez ten drobnoustrój., Zakażenia, 2/2008, 87-96.

27. Holst R.M., Hagberg H., Wennerholm U.B., Skogstrand K. i wsp.: Prediction of microbial invasion of the amniotic cavity in women with preterm labour:

analysis of multiple proteins in amniotic and cervical fluids. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 2011, (118) 2, 240–249.

28. Holst, R.M., Hagberg H., Wennerholm, B.U. i wsp.: Prediction of Spontaneous Preterm Delivery in Women With Preterm Labor: Analysis of Multiple Proteins in Amniotic and Cervical Fluids. Obstetrics & Gynecology, 2009, (114)2, 268-277.

29. Hus I., Maciąg E., Roliński J.: Znaczenie limfocytów Th17 w odporności przeciwnowotworowej. Postępy Hig. Med. Dośw., 2010, 64, 244-250.

30. Hvilsom G.B., Thorsen P., Jeune B., BakketeigL.S.: C-reactive protein: a serological marker for preterm delivery? Acta Obstet Gynecol Scand, 2002, 81, 424–429.

31. Ilhan N, Ilhan N, Simsek M.: The changes of trace elements, malondialdehyde levels and superoxide dismutase activities in pregnancy with or without preeclampsia. Clinical Biochemistry, 2002, 35(5), 393–397.

32. Jabłoński L. Podstawy mikrobiologii lekarskiej. PZWL, 1979.

33. Jenkins C., Rhoda W., Judith R., Helen M. i wsp.: Antioxidants their role in pregnancy and miscarriage antioxidants & redox Signaling. September 2000, 2(3), 623-628.

34. Jin W., Dong C.: IL-17 cytokines in immunity and inflammation. Emerging Microbes & Infections, 2013, 2, e60, doi:10.1038/emi.2013.58.

35. Jonsson Y., Rubèr M., Matthiesen L., Berg G. i wsp.: Cytokine mapping of sera from women with preeclampsia and normal pregnancies. Journal of Reproductive Immunology, 2006, 70, 83-91.

36. Jutel M., Solarewicz-Madejek K., Smolińska S. Limfocyty Th17 w alergii i astmie Alergia Astma Immunologia, 2012, 17 (4), 165-171.

37. Kac G., Santos Vaz J., Schlu¨ssel M.M. Moura A.S.,: C-reactive protein and hormones but not IL-6 are associated to body mass index in first trimester of pregnancy. Arch Gynecol Obstet, 2011, 284, 567–573.

38. Kalinka J, Krajewski P, Sobala W, Wasiela M.:The association between maternal cervicovaginal proinflammatory cytokines concentrations during pregnancy and subsequent early-onset neonatal infection. J Perinat Med., 2006, 34(5), 371-377.

39. Karacay Ö., Sepici-Dincel A., Karcaaltincaba D., Sahin D. i wsp.: A quantitative evaluation of total antioxidant status and oxidative stress markers in preeclampsia and gestational diabetic patients in 24–36 weeks of gestation. Diabetes Research and Clinical Practice, 2010, 89,3, 231-238.

40. Kasprowicz A., Białecka A.: Ocena biocenozy pochwy- stopnie czystości pochwy. Diagnosta laboratoryjny, 2008,2, 23-24.

41. Kaur G., Mishra S, Sehgal A, Prasad R.:Alterations in lipid peroxidation and antioxidant status in pregnancy with preeclampsia. Mol Cell Biochem., 2008, 313(1-2), 37-44.

42. Khazardoust S, Javadian P, Salmanian B, Zandevakil F i wsp.: A clinical randomized trial on endocervical inflammatory cytokines and betamethasone in prime-gravid pregnant women at risk of preterm labor. Iran J Immunol., 2012, 9(3), 199-207.

43. Kiekrzakowska M., Majewska A., Kędzierwska J., Sawicka-Grzelak A. i wsp.: Ocena mikroflory bakteryjnej szyjki macicy u kobiet w ciąży. Perinatologia, Neoatologia i Ginekologia, 2012, 5, 126-29.

44. Kishimoto T. Interleukin-6: discovery of pleiotropic cytokine. Arthiritis Res Ther., 2006; 8 (Suppl 2), S2.

45. Kociszewska-Najman B., Oslislo A., Szymusik I., Pietrzak B. i wsp.: Śródporodowa profilaktyka zakażeń paciorkowcami grupy B– doświadczenia własne. Ginekol Pol., 2010, 81, 913-917.

46. Kopyra P, Seremak-Mrozikiewicz A., Drews K. Przydatność oznaczenia PCT, IL-6 oraz CRP w prognozowaniu zakażenia zewnątrzowodniowego i stanu noworodka u ciężarnych z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych. Ginekol Pol., 2010, 81, 336-341.

47. Kotarski J.: Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego dotyczące wykrywania nosicielstwa paciorkowców grupy B (GBS) u kobiet w ciąży i zapobiegania zakażeniom u noworodków. Ginekol. Pol., 2008, 79, 221-223.

48. Kovavisarach E., Ying W.S.,Kanjanahareutai S.: Risk factors related to group B streptococcal colonization in pregnant women in labor. J. Med. Assoc. Tai, 2007, 90, 1287-1292.

49. Kuczyńska K.: Biocenoza pochwy kobiet Studia Medyczne. Akademii Świętokrzyskiej 2003, 1, 17-21.

50. Leclair C.M., Hart A.E. Goetsch M.F., Carpentier H., i wsp.: Group B Streptococcus prevalence in a non obstetric population. J. Low Genit., 2010, 14(3), 162-6.

51. Lida Moghaddam Banaem, Bita Mohamadi, Mohamad Asghari Jaafarabadi, Narges Aliyan Moghadam: Maternal serum C-reactive protein in early pregnancy and occurrence of preterm premature rupture of membranes and preterm birth J. Obstet. Gynaecol., 2012, 38,5, 780–786.

52. Llurba E., Gratacós E., Martín-Gallán P., Cabero L. i wsp.: A comprehensive study of oxidative stress and antioxidant status in preeclampsia and normal pregnancy. Free Radical Biology and Medicine, 2004, 37 (4), 557–570.

53. Louro M.O., Cocho J.A., Tutor J.C.: Assessment of copper status in pregnancy by means of determining the specific oxidase activity of ceruloplasmin. Clin Chim Acta, 2001, 312(1-2), 123-7.

54. Lubecka-Macura A., Kohut M.: Nadrodzina TNF – mechanizmy działania, funkcje biologiczne i możliwości terapeutyczne. Przegląd Gastroenterologiczny, 2010; 5 (6), 303–309.

55. Łukaszewicz M., Mroczko B., Szmitkowski M.: Znaczenie kliniczne interleukiny 6 (IL-6) jako czynnika rokowniczego w chorobie nowotworowej. Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej, 2007, (5-6), 117.

56. Łukaszewski T, Drews K, Seremak-Mrozikiewicz A, Sieroszewski P. i wsp.: The evaluation of the predictive value of TNF-alpha concentration in maternal serum in the prediction of neonatal and maternal infection. Ginekol Pol., 2015, 86(1), 26-32.

57. Łukaszewski T., Drews K.,Seremak-Mrozikiewicz A., Sieroszewski P. i wsp.: Stężenie IL-6 przed i po porodzie w prognozowaniu wrodzonego zakażenia noworodka u kobiet z PPROM. Perinatologia, Neonatologia i Ginekologia, 2013, 6(2), 81-87.

58. Łysakowska M., Bigos M., Wasiela M.: Budowa, regolacja i znaczenie czynników wirulencji szczepów *Streptococcus agalactiae*, Podstawy Mikrobiologii, 2013, 32, 41-52.

59. Maciuk-Janik M., Wojtysiak-Duma B., Duma D.: Ocena analizatora hematologicznego ABX MICROS CRP. IN VITRO EXPLORER. Przegląd medycyny laboratoryjnej, 2004, 1, 17-23.

60. Mardh P.: The vaginal ecosystem. Am J. Obstet. Gynecol., 1991, 165(4), 1163-1168.

61. Martínez-García EA, Chávez-Robles B, Sánchez-Hernández PE, Núñez-Atahualpa L, Martín-Máquez BT IL-17 increased in the third trimester in healthy women with term labor. Am J Reprod Immunol., 2011, 65(2), 99-103.

62. Mączyńska B.: Diagnostyka waginozy bakteryjnej i atypowych zakażeń przenoszonych drogą płciową. Diagnosta laboratoryjny, 2008, 6, 1(16), 13-17.

63. Michalska M.M., Dariusz S., Podhalański P., Mostek K. i wsp.: Ocena skutków stosowania antybiotykoterapii w okresie przedporodowym u kobiet ciężarnych GBS(+). Polski Przegląd Nauk o Zdrowiu, 2013, 2 (35) 102-110.

64. Morgan R. P., Drobek C.O., Bhat G., Saade G.i wsp.:Amniotic fluid and maternal race influence responsiveness of fetal membranes to bacteria. J Reprod Immunol., 2012, 96 (1-2), 68–78.

65. Murray P., Rosenthal K.S., Pfaller M.A.: Mikrobiologia, 2011, 219-227.

66. Niemiec T.: Zakażenia w położnictwie i ginekologii., 2011, 1, 6-37.

67. Niziurski P., Adamczyk O., Gruszka J.: Ocena przydatności samokontrolo pH wydzieliny pochwowej przez kobiety ciężarne we wczesnym wykrywaniu bakteryjnego zakażenia pochwy. Studia medyczne, 2012, 26(2), 49-53.

68. Ogino M., Hiyamuta S., Takatsuji-Okawa M., Tomooka Y.i wsp.:Establishment of a prediction method for premature rupture of

membranes in term pregnancy using active ceruloplasmin in cervicovaginal secretion as a clinical marker. Journal of Obstetrics and Gynaecology Research, 2005, 31. 421-426.

69. Olszanecka-Glinianowicz M., Zahorska-Markiewicz B., Żurakowski A., Glinianowicz M.: Rola czynnika martwicy nowotworu (TNF-α) w kontroli metabolizmu. Wiadomości Lekarskie, 2005, LVIII, 11-12.

70. Onaran Y., Aktepe- Keskin E., Duvan I.C., Simavli S.A.i wsp.: Relationship between oxidant and antioxidant activity in hyperemesis gravidarum. Journal of maternal-fetal & neonatal medicin, 2013, 27(8), 825-8.

71. Onishi R.M., Gaffen S.L.: Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. Immunology, 2010; 129(3), 311–321.

72. Pawlaczyk M., Pawlaczyk M.: Bakteryjna waginoza. Postępy Dermat., 1996, 13, 145-149.

73. Pawlaczyk M: Propozycja wprowadzenia nowego bakterioskopowego sposobu oceny biocenozy pochwy. Klin. Perinat. Ginekol., 2003, 38, 43-50.

74. Pearson T.A., Mensah G.A., Aleksander R.W. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease. Application to Clinical and Public Health Practice: A Statement for Healthcare Professionals From the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association Circulation, 2003, 107, 499-51.

75. Peuchant E, Brun JL, Rigalleau V, Dubourg L. i wsp.: Oxidative and antioxidative status in pregnant women with either gestational or type 1 diabetes. Clin Biochem., 2004, 37(4), 293-8.

76. Piekarski R., Szewczyk L.: Rola limfocytów Th17 w cukrzycy typu 1. Endokrynol. Ped., 2011/10,4(37), 61-68.

77. Pitiphat W, Gillman M.W., Kaumudi J., Joshipura, Paige L. Williams Chester W.Plasma C-reactive protein in early pregnancy and preterm delivery. American Journal of Epidemiology, 2005, 1, 162(11), 1108-13.

78. Pressman E. K., Thornburg L., Glantz J., Earhart A. i wsp.:Inflammatory cytokines and antioxidants in midtrimester amniotic fluid: correlation with pregnancy outcome. American Journal of Odstetrices and Gynecoiogy, 2011, 204, 155,1-155,7.

79. Puszkarska A., Głuszek J.A.: Czynnik martwicy nowotworu i adiponektyna w niewydolności serca. Choroby Serca i Naczyń, 2010, 7 (1), 7–13.

80. Reiko O.M., Gaffen S.L.: Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. Immunology, 2010, 129(3), 311–321.

81. Rode L., K., Larsen H., Holmskov A., Andreasen i wsp.: Cytokines and the Risk of Preterm Delivery in Twin Pregnancies. Obstetrics & Gynecology, 2012, 120(1), 60-66.

82. Romanik M., Ekiel A., Tomana L., Martirosian G.: Waginoza bakteryjna- problemy terapii. Wiadomości Lekarskie. 2077, LX, 1-2.

83. Romanik M., Martiosian G.: Częstość występowania, kryteria diagnostyczne i następstwa bakteryjnego zakażenia pochwy u kobiet ciężarnych. Przegląd Epidemiologiczny, 2004, 58, 547-53.

84. Rudra C.B., Qiu Ch., Robert M. David R.M., Bralley J.A. i wsp.: A prospective study of early-pregnancy plasma malondialdehyde concentration and risk of preeclampsia. Clinical Biochemistry, 2006, 39, 722–726.

85. Rzepka R., Torbé A., Czajka R., Kwiatkowski S.: Szybka ocena stężenia IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej w zagrażającym porodzie przedwczesnym. Ginekol Pol., 2009, 80, 678-681.

86. Schosinsky K.H., Lehmann H.P., Beeler M.F.: Measurement of ceruloplasmin from its oxidase activity in serum by use o- dianisiddinedihydrochloride. Clin. Chem., 1974, 20(12), 1556-1563.

87. Sieroszewski P., Bober Ł. Kłosiński W.: Zakażenia podczas ciąży. Perinatologia, Neonatologia i Ginekologia, 2012, 2(5), 65-84.

88. Sikora J.: Znaczenie czynników mikrobiologicznych w poronieniach i porodzie przedwczesnym– standard postępowania diagnostyczno-leczniczego. Perinatologia, Neoatologia i Ginekologia, 2011, 4(1), 37-43.

89. Słomko Z., Drews K.: Zakażenia perinatalne. PTMP, 2001, 1, 319-324.

90. Słomko Z.: Ginekologia PZWL, 2008 ,2, 972-975.

91. Sobol L.: Zakażenia wywołane przez *Streptococcus agalactiae.* Pielęgniarka Epidemiologiczna, 2012, 15-18.

92. Stapleton R., Kahn J., Evans L.E., Critchlow C.W. i wsp.: Risc factors for group B streptococcal genitourinary tract colonization in prergnant women. Obstet. Gynecol., 2005, 106, 1546-52.

93. Szeto Y.M., Brian Tomlinson, Iris F. F. Benzie: Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation. British Journal of Nutrition, 2002, 87, 55–59.

94. Szewczyk E. M.: Diagnostyka bakteriologiczna., PWN, 2007, 255-257.

95. Szulc-Dąbrowska L., Gieryńska M., Depczyńska D., Schollenberger A.: Limfocyty Th17 w zakażeniach bakteryjnych. Postępy Hig. Med. Dośw., 2015, 69, 398-417.

96. Szulc-Dąbrowska L., Gieryńska M., Depczyńska D., Schollenberger A., Toka F.N.: Limfocyty Th17 w zakażeniach bakteryjnych Postepy Hig Med Dosw., 2015, 69, 398-417.

97. Szwabowicz K., Panasiuk A.: Nosicielstwo paciorkowca grupy B ciężarnych- standardy postępowania. Przegląd Epidemiologiczny, 2012, 66 (1), 33-38.

98. Szymusik I., Kosińska- Kaczyńska K., Pietrzak B, Wielgoś M.: Czy nadszedł czas na zmiany w badanich przesiewowych w kierunku nosicielstwa GBS(+). Ginekologia Polska, 2014, 85: 456-460.

99. Taminato M., Fram D., Torloni M.R., Belasco A.G.: Screening for group B Streptococcus in pregnant women: a systematic review and meta-analysis. Rev Lat Am Enfermagem, 2011, (19) 6,1470-8.

100. Tayrab E, Hamid A. , Idriss M.H., Gaafar M.: Serum Copper and Iron Status in Pregnant Women with Iron Deficiency Anemia , J Physiobiochem Metab 2013,30, 1-3

101. Tchórzewski H.: Zapalenie początek czy koniec choroby? Alergia, Astma, Immunologia, 1996, 1,29-34.

102. Thomakos N., Daskalakis G, Papapanagiotou A, Papantoniou N i wsp.:Amniotic fluid interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha at mid-trimester genetic amniocentesis: relationship to intra-amniotic microbial invasion and preterm delivery. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol., 2010;148(2), 147-51.

103. Thomakos N., Daskalakis G., Papapanagiotou A., Papantoniou N. i wsp.: Amniotic fluid interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha at mid-trimester genetic amniocentesis: relationship to intra-amniotic microbial invasion and preterm delivery. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol., 2009,30,148(2), 147-51.

104. Tomaszewski J.: Profilaktyka zakażeń paciorkowcami grupy B w położnictwie. Zakażenia 4/2012, 76-80.

105. Tsolia M., Psoma M., Gavrili S. i wsp.: Group B Streptococcus colonization of Greek pregnant women and neonates: prevalence, risk factors and serotypes. ClinMicrobiol Infect, 2003, 9, 832–8.

106. Verani J., McGee L., Schrag S.: Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease Revised Guidelines from CDC. Morbidity and Mortality Weekly Report, 2010, 59.

107. Vitoratos N, Salamalekis E, Dalamaga N, Kassanos D, Creatsas G.: Defective antioxidant mechanisms via changes in serum ceruloplasmin and total iron binding capacity of serum in women with pre-eclampsia. European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology, 1999, 84(1), 63-67

108. Vogel I, Goepfert AR, Thorsen P, Skogstrand K. i wsp.: Early second-trimester inflammatory markers and short cervical length and the risk of recurrent preterm birth. J Reprod Immunol., 2007,75, 133–40.

109. Vogel I., Thorsen P., Curry A., Sandager P., Uldbjerg N.: Biomarkers for the prediction of preterm delivery. Acta Obstet Gynecol Scand., 2005, 84, 516–525.

110. Vural P, Akgül C, Yildirim A, Canbaz M.: Antioxidant defence in recurrent abortion. Clin Chim Acta., 2000, 295(1-2),169-77.

111. Wasiela M., Krzemiński Z., Kalinka J., Brzezińska- Błaszczyk E.: Korelacja stężeń wybranych cytokin w wydzielinie pochwowo-szyjkowej u ciężarnych kobiet z różnymi mikroskopowymi obrazami tej wydzieliny. Medycyna doświadczalna i mikrobiologia, 2005, 57, 327-333.

112. Wei S.Q., Fraser W., Luo Z.C.: Inflammatory cytokines and spontaneous preterm birth in asymptomatic women: a systematic review. Obstet Gynecol., 2010, 116(2), 393-401.

113. Weissenbacher T., Laubender R.P., Witkin S.S., Kainer F. i wsp.: Diagnostic biomarkers of pro-inflammatory immune-mediated preterm birth Archives of Gynecology and Obstetrics, 2013, 287(4), 673-685.

114. Wielgoś M., Pietrzak B.: Bacterial vaginosis- diagnostyka i leczenie. Przegląd Menopauzalny, 2012, 5, 356-363.

115. Wierzbicka D, Gromadzka G.: Ceruloplazmina, hefajstyna i cyklopen: trzy multimiedziowe oksydazy uczestniczące w metabolizmie żelaza u człowieka. Postepy Hig Med Dosw., 2014, 68, 912-924.

116. Wilamowska A., Woźniak P., Stetkiewicz T, Oszukowski P: Biocenoza pochwy u kobiet po menopauzie. Przegląd Menopauzalny, 2011, 6, 469-472.

117. Wolmy K., Gołda- Matuszak E.: *Streptococcus agalactiae* (GBS)– charakterystyka szczepów izolowanych z dróg rodnych kobiet w okresie rozrodczym. Medycyna doświadczalna i mikrobiologia, 2010/01, 62(2), 141-151.

118. Wróbel T., Mazur G., Lindner K., Ziółkowska J.: Interleukina 17 jako mediator reakcji zapalnych i angiogenezy. Adv. Clin. Exp. Med., 2005, 14, 3, 555–558.

119. Yagi A.: Imple fluorometric assay for lipoperoperoxide in blood plasma. Biochemical Medicine, 1976, 15, 212-216.

120. Yuksel I., Celik H., Tosun M., Bildircin D. i wsp.: Maternal serum interlukin-6 level in preterm labor. Ginekol Pol., 2013, 84, 368-372.

121. Zaremba M. L., Borowski J.: Mikrobiologia lekarska. PZWL, 2001, 276-320.

122. Zwoździak B., Machczyński M., Karpiński T., Szkaradkiewicz A.: IL-17 i biocenoza pochwyu kobiet ciężarnych, XXVII Zjazd Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów „ Drobnoustroje bez granic” Lublin 2012

123. Żabicka D., Koch A.: Stany zapalne pochwy- czynniki etiologiczne, diagnostyka i leczenie. Nowa klinika, 2008, 15, 5-6.

10. Załączniki

Załącznik nr1/1

UNIWERSYTET MEDYCZNY IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

KOMISJA BIOETYCZNA PRZY UNIWERSYTECIE MEDYCZNYM
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO W POZNANIU

Collegium Maius
ul. Fredry 10
61-701Poznań

tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax. (+48 61) 854 61 07
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 320/11

Na podstawie przepisów Ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz. U. 1997, Nr 28, poz. 152); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz.480); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 11 marca 2005 r. w sprawie szczegółowych wymagań Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. 2005, Nr 57, poz. 500); Ustawy z dnia 6 września 2001r. Prawo farmaceutyczne (Dz. U. z 2004r. Nr 53, poz. 533 ze zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. 2004 nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2005r. zmieniające rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. 2004 Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 4 listopada 2008r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz w sprawie wysokości i sposobu uiszczania opłat za rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. Nr 201, poz. 1247), kierując się Zasadami Prawidłowego Prowadzenia Badań Klinicznych – GCP – opracowanymi w oparciu o Deklarację Helsińską.

Komisja, na posiedzeniu w dniu: **14 kwietnia 2011 r.**

rozpatrzyła wniosek, który przedstawili:

Pani dr hab. Maria Pioruńska- Stolzmann prof. UM
oraz Pan prof. dr hab. Lech Torliński

w sprawie prowadzenia badań w

Katedrze Chemii i Biochemii Klinicznej UM w Poznaniu

Główny badacz: **mgr anal. Anna Blacha**
lek. med. Mariusz Machaczyński

Członkowie zespołu badawczego: **dr hab. Maria Pioruńska- Stolzmann prof. UM**
prof. dr hab. Lech Torliński
prof. dr hab. Andrzej Szkaradkiewicz

Temat badań: **"Ocena wybranych wykładników stanu zapalnego u kobiet ciężarnych w kontekście czystości mikrobiologicznej pochwy".**

Komisja wyraża zgodę na prowadzenie badań

Przewodniczący Komisji

Prof. zw. dr hab. med. Zygmunt Przybylski

Załącznik nr 1/2

Podpisy członków Komisji Bioetycznej - Dotyczy Uchwały nr 320/11 z dnia 14.04.2011r.

prof. dr hab. JANUSZ WIŚNIEWSKI ....

prof. dr hab. ROMAN SZULC ....

prof. dr hab. JANUSZ SZYMAŚ ....

prof. dr hab. WOJCIECH SŁUŻEWSKI ....

prof. dr hab. HENRYK WYSOCKI ....

dr hab. MACIEJ KRAWCZYŃSKI prof. UM ....

dr hab. n. med. ROBERT SPACZYŃSKI ....

dr med. PIOTR TOMCZAK ....

prof. dr hab. PAWEŁ CHĘCIŃSKI ....

prof. dr hab. JANUSZ PALUSZAK ....

ks. prof. dr hab. JERZY TROSKA ....

dr hab. JERZY W. OCHMAŃSKI prof. UAM ....

dr farm. OLIMPIA KLIMASZEWSKA ....

BARBARA LIPIAK ....

Załącznik nr 1/3

KOMISJA BIOETYCZNA
przy
UNIWERSYTECIE MEDYCZNYM
im Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
61-701 Poznań, ul. Fredry 10
tel. (+48 61) 854 62 51, 854 60 60
fax (+48 61) 854 61 07

SKŁAD OSOBOWY KOMISJI BIOETYCZNEJ

z dnia 14.04.2011r.

Lp.	Imię i Nazwisko	Specjalność	Miejsce Pracy
1.	Przewodniczący Komisji **prof. dr hab. Zygmunt Przybylski**	medycyna sądowa	Katedra Medycyny Sądowej UM ul. Święcickiego 6, Poznań
2.	Z- ca Przewodniczącego Komisji **prof. dr hab. Janusz Wiśniewski**	filozof	Wydział Nauk Politycznych i Dziennikarstwa UAM, ul. Umultowska 89A, Poznań
3.	prof. dr hab. Roman Szulc	anestezjologia i reanimacja, otolaryngologia	I Klinika Anestezjologii i Intensywnej Terapii UM, ul. Długa 1/2, Poznań
4.	prof. dr hab. Janusz Szymaś	anatomia patologiczna	Katedra Patomorfologii Klinicznej UM ul. Przybyszewskiego 49, Poznań
5.	prof. dr hab. Wojciech Służewski	pediatria, neurologia dziecięca, choroby zakaźne	Klinika Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej UM ul. Szpitalna 27/33, Poznań
6.	prof. dr hab. Henryk Wysocki	choroby wewnętrzne, kardiologia	Klinika Intensywnej Terapii Kardiologicznej i Chorób Wewnętrznych UM ul. Przybyszewskiego 49, Poznań
7.	dr hab. Maciej Krawczyński prof. UM	genetyka kliniczna, okulistyka	Katedra i Zakład Genetyki Medycznej UM ul. Grunwaldzka 55, Poznań
8.	dr hab. n. med. Robert Spaczyński	ginekologia i położnictwo	Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu UM, ul. Polna 33, 60-535 Poznań
9.	dr med. Piotr Tomczak	onkologia kliniczna, radioterapia	Klinika Onkologii UM, ul. Łąkowa 1/2, Poznań
10.	prof. dr hab. Paweł Chęciński	chirurgia ogólna, naczyniowa i angiologia	Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej oraz Angiologii UM, ZOZ MSWiA ul. Dojazd 34, Poznań
11.	prof. dr hab. Janusz Paluszak	fizjologia kliniczna	Katedra i Zakład Fizjologii UM, ul. Święcickiego 6
12.	ks. prof. dr hab. Jerzy Troska	teologia, etyka	Wydział Teologiczny UAM, ul. Wieżowa 2/4, Poznań
13.	dr hab. Jerzy W. Ochmański prof. UAM	prawnik	Wydział Prawa UAM, ul. Św. Marcin 90, Poznań
14.	dr farm. Olimpia Klimaszewska	farmaceuta	Apteka „Kalifarm"
15.	Barbara Lipiak	pielęgniarka	ZOZ Grunwald

Załącznik nr 2

INFORMACJA DLA PACJENTA

O programie badawczym pt.

”Ocena wybranych wykładników stanu zapalnego u kobiet ciężarnych w kontekście czystości mikrobiologicznej pochwy”

Stara zasada brzmi „Lepiej zapobiegać niż leczyć” Dlatego też pragniemy Panią zaprosić na badania profilaktyczne. Badania, które pragniemy zaproponować obejmują badanie krwi w kierunku wykładników procesu zapalnego oraz posiew mikrobiologiczny z pochwy i z odbytu.

Wyżej wymienione badania są zalecane przez Ministra Zdrowia w celu profilaktyki zakażeń prenatalnych paciorkowcami grupy B (GBS). Wykonanie posiewu w kierunku GBS w zaawansowanej ciąży pozwala zidentyfikować kobiety, u których istnieje ryzyko przeniesienia zakażenia na dziecko. Zakażenie GBS u kobiet ciężarnych zwykle nie powodują objawów, ale bywają niezwykle groźne dla noworodka, jeżeli dojdzie w czasie porodu np. do pęknięcia błon płodowych.

Kobiety ciężarne, u których w badaniu posiewu stwierdzono dodatni wynik w kierunku *Streptococcus agalactiae* powinny otrzymać okołoporodowa profilaktykę, która chroni noworodka przed przeniesieniem na niego zakażenia.

Dzięki Pani udziałowi w programie, będzie można opracować bardziej efektywne sposoby zapobiegania zakażeniom **paciorkowcami grupy B.**

Załącznik 3

FORMULARZ ŚWIADOMEJ ZGODY PACJENTA

na udział w programie badawczym:

”Ocena we krwi wybranych parametrów stanu zapalnego u kobiet ciężarnych w kontekście czystości mikrobiologicznej pochwy”

Ja (imię i nazwisko)…………………………………………………….

Nr badania………..

Wyrażam zgodę na:

Analizę krwi dla oceny wykładników procesu zapalnego i stresu oksydacyjnego

oraz wykorzystanie wyników do opracowania prac naukowych.

Wiem, że w każdej chwili mogę zrezygnować z udziału w badaniach. Zdaję sobie sprawę, że informacje otrzymane w trakcie badań są ścisłą tajemnicą i że moja tożsamość nie będzie ujawniona.

Poznań, dnia……………

Podpis uczestnika programu badawczego	Podpis członka zespołu
…………………………….	……………………………….

Załącznik nr 4

Ankieta

1. **wiek**
   a. mniej niż 18
   b. 18-23
   c. 24-29
   d. 30-35
   e. 36-41
   f. 42 i więcej

2. **wykształcenie**
   a. podstawowe
   b. zawodowe
   c. średnie
   d. niepełne wyższe
   e. wyższe

3. **Narodowość**
   a. Polska
   b. Inna (wpisz jaka)…………………..

4. **Miejsce zamieszkania (kraj)**
   a. Polska
   b. Inny (wpisz jaki) …………………..

5. **Miejsce zamieszkania**
   a. wieś
   b. miasto poniżej 50 tys.
   c. miasto od 50 tys. do 100 tys.
   d. miasto od 100 tys. do 300 tys.
   e. miasto od 300 tys. do 600 tys.
   f. miasto powyżej 600 tys.

6. **Pierwsza miesiączka (wiek) …….**

7. **tydzień ciąży …….**

8. **Czy Pani ciąża była planowana?**
   a. Tak
   b. Nie

9. **Jak dotychczas przebiegała Twoja ciąża?**
   a. bezproblemowo
   b. z drobnymi problemami
   c. z dużymi problemami

10. Czy jest to Pani pierwsza ciąża?

a. Tak
b. Nie (która?) …………………..

11. Czy stosowała Pani przed zajściem w ciążę antykoncepcję?

a. naturalna
b. pigułki hormonalne
c. inne(jakie?)…….
d. nie stosowałam

12. Czy zażywała Pani kwas foliowy przed zajściem w ciążę lub po jej rozpoznaniu?

a. tak przed ciążą
b. tak po rozpoznaniu, że jestem w ciąży
c. odpowiedzi a i b
d. nie stosowałam

13. Czy w czasie ciąży spożywa Pani suplementy soli mineralnych i witamin?

a. Tak
b. Nie

14. Czy chodzi Pani na wyznaczone wizyty lekarskie?

a. Tak
b. Nie

15. Czy w czasie ciąży pali Pani papierosy lub inne wyroby tytoniowe

a. Nie
b. Tak , proszę podać ilość ……………….
c. Zrezygnowałam z palenia papierosów jak tylko dowiedziałam się, że jestem w ciąży

16. Czy przyjmuje Pani jakiekolwiek leki przeciwbólowe lub inne bez konsultacji z lekarzem?

a. Tak (jakie?)

…………………..…………………..……………………..

b. Nie

17. Czy choruje Pani przewlekle na jakąś chorobę?

a. tak, proszę podać jaką…………..

……………………..…………………..

b. nie

Załącznik nr 5

Przedstawienie wyniku badań/ Wzór formularza

WYNIKI BADANIA MIKROBIOLOGICZNEGO

OKREŚLENIE STOPNIA CZYSTOŚCI POCHWY Nr:…

Imię i nazwisko:…………………. PESEL:…………………..

Data badania:…………………..…

Preparat barwiony metodą Gramma

Komórki nabłonka	
Leukocyty	
Lactobacillus spp.	
Inne bakterie	
Grzyby drożdżopodobne	
Clue cells	
Preparat bezpośredni	
Trichomonas vaginalis	
pomiar pH	
pH	
Stopień czystości pochwy	
Komentarz	

11. Spis tabel i rycin

Tab. 1.1. Kryteria rozpoznania bakteryjnego zakażenia pochwy wg Amsela 13
Tab. 1.2. Kryteria rozpoznania bakteryjnego zakażenia pochwy wg Nugenta 14
Tab. 1.3. Klasyfikacja stopni czystości pochwy według Kuczyńskiej w uzupełnieniu Kasprowicza 15
Tab. 4.1. Charakterystyka opisowa grupy badanej kobiet w 35-37 tygodniu ciąży- podział na grupy zgodnie z klasyfikacją wg Pawlaczyka 40
Tab. 4.2. Porównanie grupy badanej kobiet w 35-37 tygodniu ciąży- podział na grupy badane zgodnie z klasyfikacją wg Pawlaczyka. 41
Tab. 4.3. Charakterystyka opisowa grupy badanej- podział ze względu na nosicielstwo Streptococcus agalactiae kobiet w 35-37 tygodniu ciąży (GBS- kobiety nie będące nosicielkami, GBS+ kobiety będące nosicielkami) 43
Tab. 4.4. Porównanie grupy badanej kobiet w 35-37 tygodniu ciąży podział ze względu na nosicielstwo Streptococcus agalactiae kobiet 35-37 tygodniu cięży GBS- ujemny- kobiety nie będące nosicielkami, GBS-dodatni- kobiety będące nosicielkami) 44
Tab. 5.1 .PR1 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa Streptococcus agalactiae i sposobu zakończenia ciąży u kobiet ciężarnych (nieródek) z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będący będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy, vacuum- poród pochwowy z użyciem próżnociągu] 62
Tab. 5.2. PR2 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa Streptococcus agalactiae i sposobu zakończenia ciąży u kobiet ciężarnych (wieloródek) z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy] 64
Tab. 5.3. PR3 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa Streptococcus agalactiae u kobiet ciężarnych z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu 65
Tab. 5.4. PO1 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa Streptococcus agalactiae i sposobu zakończenia ciąży u kobiet ciężarnych z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN-poród siłami natury] 66
Tab. 5.5. PO2 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa Streptococcus agalactiae u kobiet ciężarnych z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu 66
Tab. 5.6. NP1 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa Streptococcus agalactiae i sposobu zakończenia ciąży u kobiet ciężarnych z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy] 67
Tab. 5.7. NP2 (M.M.) Kliniczno-mikrobiologiczna klasyfikacja czystości pochwy wg Pawlaczyka, z uwzględnieniem nosicielstwa Streptococcus agalactiae u kobiet ciężarnych z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu 68
Tab. 5.8. PR1 (M.M.) Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych (nieródek) z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy, vacuum- poród pochwowy z użyciem próżnociągu] 69
Tab. 5.9. PR2 (M.M.) Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych (wieloródek) z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy] 70

Tab. 5.10. PR3 (M.M.) Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu 71
Tab. 5.11. PO1 (M.M.) Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury] 71
Tab. 5.12. PO2 (M.M.) Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu 72
Tab. 5.13. NP1 (M.M.)Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy] 73
Tab. 5.14. NP2 (M.M.) Mikrobiologiczna ocena biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu 74
Tab. 5.15. PR1 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych (nieródek) z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy, vacuum- poród pochwowy z użyciem próżnociągu] 75
Tab. 5.16. PR2 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych (wieloródek) z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy] 76
Tab. 5.17. PR3 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych z prawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu 77
Tab. 5.18. PO1 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN-poród siłami natury] 78
Tab. 5.19. PO2 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych z pośrednią czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu 78
Tab. 5.20. NP1 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny [PSN- poród siłami natury, CC- poród poprzez cesarskie cięcie, forceps- poród pochwowy z użyciem kleszczy] 79
Tab. 5.21. NP2 (M.M.) Laboratoryjna ocena ekosystemu pochwy i określenie miejsca występowania GBS u kobiet ciężarnych z nieprawidłową czystością mikrobiologiczną pochwy, będących pod opieką Szpitala Świętej Rodziny, ale rodzących w innym szpitalu 80
Tab. 5.22. (M.M.) Statystyczna analiza wyników kliniczno-mikrobiologicznej oceny czystości pochwy wg Pawlaczyka (prawidłowa, pośrednia, nieprawidłowa) w aspekcie nosicielstwa GBS u kobiet w ciąży 81
Tab. 5.23. (M.M.) Statystyczna analiza wyników mikrobiologicznej oceny biocenozy pochwy u kobiet ciężarnych, z uwzględnieniem nosicielstwa Streptococcus agalactiae 82
Tab. 5.24. (M.M.) Statystyczna analiza wyników laboratoryjnej oceny ekosystemu pochwy 87
Tab. 5.25. (M.M.) Statystyczna analiza wyników miejsca występowania Streptococcus agalactiae u 23 kobiet ciężarnych 88

Ryc. 5.1 (M.M.) Ocena procentowa klasyfikacji czystości pochwy wg Pawlaczyka u pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa GBS 81
Ryc. 5.2. (M.M) Ocena procentowa występowania Gardnerella vaginalis w pochwie pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa GBS 83

Ryc. 5.3. (M.M.) Ocena procentowa występowania Candida species w pochwie pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa GBS 84
Ryc. 5.4. (M.M.) Ocena procentowa występowania Trichomonas vaginalis w pochwie pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa GBS 85
Ryc. 5.5. (M.M.) Ocena procentowa występowania Gardnerella vaginalis w pochwie pacjentek w ciąży, w zależności od tego, czy były lub nie były nosicielkami Streptococcus agalactiae 86
Ryc. 5.6. (M.M.) Ocena procentowa występowania Candida species w pochwie pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa lub braku nosicielstwa Streptococcus agalactiae 86
Ryc. 5.7. (M.M.) Ocena procentowa występowania Lactobacillus w pochwie pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa Streptococcus agalactiae.. 88
Ryc. 5.8. (M.M.) Ocena procentowa pH pochwy pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa Streptococcus agalactiae 89
Ryc. 5.9. (M.M.) Ocena procentowa testu z KOH u pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa Streptococcus agalactiae 90
Ryc. 5.10. (M.M.) Ocena procentowa występowania Clue cells u pacjentek w ciąży, z uwzględnieniem nosicielstwa Streptococcus agalactiae... 91
Ryc. 5.11. (M.M.) Ocena procentowa występowania Lactobacillus w pochwie pacjentek w ciąży, w zależności od tego, czy były lub nie były nosicielkami Streptococcus agalactiae 92
Ryc. 5.12. (M.M.) Ocena procentowa pH pochwy u pacjentek w ciąży, w zależności od tego, czy były lub nie były nosicielkami Streptococcus agalactiae.. 93
Ryc. 5.13. (M.M) Ocena procentowa testu z KOH u pacjentek w ciąży, w zależności od tego, czy były lub nie były nosicielkami Streptococcus agalactiae.. 94
Ryc. 5.14. (M.M.) Ocena procentowa występowania Clue cells u pacjentek w ciąży, w zależności od tego, czy były lub nie były nosicielkami Streptococcus agalactiae 95
Ryc. 5.15. (M.M.) Ocena procentowa sposobu ukończenia ciąży u 82 kobiet ciężarnych będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny, z uwzględnieniem klasyfikacji czystości pochwy wg Pawlaczyka 96
Ryc. 5.16. (M.M.) Ocena procentowa sposobu ukończenia ciąży u 82 kobiet ciężarnych będących pod opieką i rodzących w Szpitalu Świętej Rodziny, z uwzględnieniem obecności lub braku GBS 97