

Zakażenie wewnątrzrodniowe – nadal więcej pytań niż odpowiedzi

Intraamniotic infection – still more questions than answers

Krzysztof Drews, Wojciech Pieńkowski

Klinika Perinatologii i Chorób Kobietych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Streszczenie

Wystąpienie zakażenia podczas ciąży wiąże się z wieloma niekorzystnymi konsekwencjami dotyczącymi stanu płodu, noworodka oraz kobiety ciężarnej. W artykule przedstawiono aktualne wyniki badań i najnowsze sposoby terapii dotyczące zakażenia wewnątrzrodniowego.

Słowa kluczowe: zakażenie, ciąża, antybiotykoterapia

Gin. Perinat. Prakt. 2016; 1, 4: 141–151

Wstęp

Zakażenie wewnątrzrodniowe oraz jego konsekwencje w dalszym ciągu stanowią jedną z głównych przyczyn okołoporodowej zachorowalności i umieralności matek, płodów i noworodków. Do głównych czynników ryzyka wystąpienia zakażenia wewnątrzrodniowego zalicza się: młody wiek, niski status socjoekonomiczny, przedwczesne pęknięcie błon płodowych, przedłużający się poród oraz współistniejące zakażenie dolnego odcinka dróg rodnych (GBS, *E. coli*). Mimo poprawy opieki perinatalnej i powszechności problemu, zagadnienie to w dalszym ciągu wiąże się z wieloma kontrowersjami dotyczącymi profilaktyki, diagnostyki i skutecznej terapii.

Częstotliwość

Na podstawie danych epidemiologicznych pochodzących ze Stanów Zjednoczonych wykazano, że zakażenie wewnątrzrodniowe występuje w przypadku 1–5% wszystkich ciąż, a w grupie wysokiego ryzyka ilość ta istotnie wzrasta i osiąga 4,0–10,5% [1]. Jego dokładna częstotliwość jest trudna do oszacowania ze względu na różne kryteria diagnostyczne (rozpoznanie na podstawie kryteriów klinicznych, histopatologicznych lub obu naraz), wpływ innych czynników i wiek ciążowy. Szacuje się, że

w około 50% przypadków w etiopatogenezie porodu przedwczesnego główną rolę odgrywa zakażenie [2]. Dane epidemiologiczne potwierdzają, że stanowi ono najważniejszą przyczynę niepowodzeń położniczych szczególnie we wczesnym okresie ciąży. Rozpoznanie zakażenia wewnątrzrodniowego na podstawie badania histopatologicznego popłodu potwierdzono w przypadku 95% porodów między 21. a 24. tygodniem ciąży w stosunku do 10% kobiet rodzących między 33. a 36. tygodniem ciąży [3]. U około 12% kobiet rodzących o czasie na drodze cięcia cesarskiego z powodu braku postępu porodu po wcześniejszym przedwczesnym pęknięciu błon płodowych stwierdza się zakażenie wewnątrzrodniowe [4].

Definicja

W polskiej nomenklaturze położniczo-ginekologicznej nie występuje ścisła definicja terminów związanych z zapaleniem/zakażeniem toczącym się w jamie macicy i w błonach płodowych. Co więcej, zazwyczaj nie rozróżnia się tych dwóch zupełnie różnych pod względem etiopatogenezy stanów chorobowych. W ujęciu klinicznym najczęściej mówi się o zakażeniu wewnątrzmacicznym stwierdzanym nadal w oparciu o klasyczne kryteria Gibbsa [5]. Zakażenie wewnątrzrodniowe to jednoczesne

Adres do korespondencji: Krzysztof Drews, Klinika Perinatologii i Chorób Kobietych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, ul. Polna 33, 60–535 Poznań, tel.: 61 841 92 23

występowanie flory bakteryjnej w jamie owodniowej i zapalenia wewnątrzowodniowego. Termin *chorioamnionitis* – zapalenie błon płodowych – nie jest synonimem zakażenia wewnątrzowodniowego. W ujęciu histopatologicznym zapalenie błon płodowych jest stwierdzane na podstawie obecności infiltracji błon płodowych – kosówki i owodni – neutrofilami. Najczęściej jest ono spowodowane zakażeniem wewnątrzowodniowym. W części przypadków potwierdzony stan zapalny błon płodowych nie wynika z patologicznej obecności mikroorganizmów w płynie owodniowym. To sterylne zakażenie błon pło-

dowych może być skutkiem indukowania odpowiedzi zapalnej „niebezpiecznymi czynnikami” uwolnionymi, jak konsekwencja stresu komórkowego, jej uszkodzenia i śmierci komórek [6]. Definicje terminów związanych z zakażeniem w ciąży przedstawione przez Romero i wsp. zawiera tabela 1.

Mając na uwadze niejednoznaczności dotyczące terminologii i klinicznego rozpoznania stanów zapalnych matki, płodu i popłodu, *Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development* w Stanach Zjednoczonych zorganizował w styczniu 2015 roku panel

Tabela 1. Definicje terminów związanych z zakażeniem w ciąży

Termin	Definicja
Występowanie mikrobów w jamie owodniowej (<i>Microbial invasion of the amniotic cavity</i>)	Obecność mikroorganizmów w płynie owodniowym pobranym za pomocą amniopunkcji potwierdzona hodowlą (posiew) lub technikami biologii molekularnej
Zapalenie wewnątrzowodniowe (<i>Intraamniotic inflammation</i>)	Stwierdzone w płynie owodniowym: – > 50 leukocytów w mm ³ płynu owodniowego – podwyższone stężenie IL-6 > 2,6 ng/ml – podwyższone stężenie MMP-8 > 23 ng/ml
Zakażenie wewnątrzowodniowe (<i>Intraamniotic infection</i>)	Jednoczesne występowanie mikrobów w jamie owodniowej i zapalenia wewnątrzowodniowego
Sterylnie zakażenie wewnątrzowodniowe (<i>Sterile intraamniotic infection</i>)	Występowanie zapalenia wewnątrzowodniowego bez obecności patogenów wykluczonych na podstawie hodowli i technikami biologii molekularnej
Kliniczne zapalenie błon płodowych (<i>Clinical chorioamnionitis</i>)	Podwyższona temperatura ciała (> 37,8 st. C) oraz co najmniej 2 dodatkowe czynniki: – leukocytoza (> 15 G/l) – tachykardia matczyzna (> 100 uderzeń serca/min) – tachykardia płodowa (> 160 uderzeń serca/min) – tkliwość mięśnia macicy – nieprawidłowy, cuchnący płyn owodniowy
Ostre, histologiczne zapalenie błon płodowych (<i>Acute histologic chorioamnionitis</i>)	Obecność neutrofilii w warstwie doczesnowo-owodniowej łożyska
Ostre zapalenie sznura pępowinowego (<i>Acute funisitis</i>)	Zapalenie pępowiny (żyły, tętnic pępowinowych i galarety Whartona)

Tabela 2. Klasyfikacja Potrójne Rozpoznanie Zakażenia – Triple I (*I – infection*)

Terminologia	Cechy charakterystyczne i komentarz
Izolowana gorączka u matki (gorączka potwierdzona)	Temperatura u kobiety ciężarnej mierzona w jamie ustnej powyżej 39,0 st. C lub wyższa, jednorazowy pomiar. Jeżeli temperatura wynosi 38,0–39,0 st. C, należy powtórzyć pomiar po 30 minutach. Jeśli ponownie temperatura wynosi przynajmniej 38,0 st. C – gorączka jest potwierdzona
Podezrenie Potrójnego I	Gorączka bez bezpośredniego klinicznego źródła oraz dodatkowo jedno kryterium z poniższych: – tachykardia płodowa (> 160 uderzeń serca/min przynajmniej przez 10 minut po wykluczeniu w analizie akceleracji, deceleracji i okresowej zmienności – leukocytoza u matki > 15 000 leukocytów we krwi obwodowej bez zastosowania kortykosteroidów – jednoznacznie ropny wyciek z ujścia szyjki macicy
Potwierdzenie Potrójnego I	Wszystkie powyższe kryteria oraz: – obecność bakterii (barwienie metodą Gramma) w próbkach płynu owodniowego z amniopunkcji – niskie stężenie glukozy lub dodatnie wyniki posiewów próbek płynu owodniowego – histopatologiczne potwierdzenie zakażenia

dyskusyjny ekspertów mający na celu uzgodnienie wspólnego stanowiska w wyżej wymienionym zakresie. Eksperti zalecają odejście od stosowanego powszechnie pojęcia *chorioamnionitis* na rzecz opisowych terminów: zapalenie wewnątrzmaciczne – *intrauterine inflammation*, zakażenie wewnątrzmaciczne – *intrauterine infection*, stosowanych osobno lub razem. Na podstawie zmian w nomenklaturze przedstawiono również nową klasyfikację kliniczną – Triple I (Potrójne Rozpoznanie Zakażenia) (tab. 2) [7]. Ma ona na celu unifikację praktycznej terminologii zakażeń występujących w okresie perinatalnym oraz ułatwić wzajemną komunikację między położnikami i neonatologami.

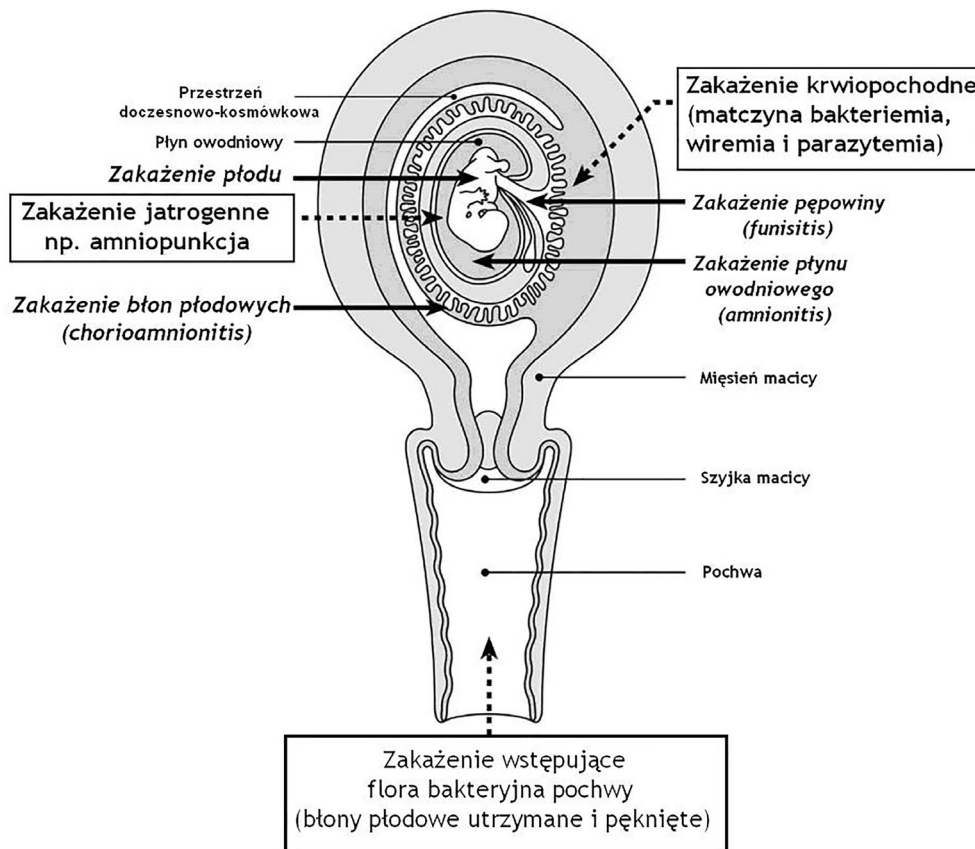
Drogi zakażenia wewnątrzrodniowego

Do zakażenia wewnątrzrodniowego może dojść na drodze:

- infekcji wstępującej z pochwy i szyjki macicy (najczęstszy mechanizm powstawania infekcji);
- infekcji krwionośnej, przezłożyskowej;
- w wyniku wstecznej infekcji z jamy otrzewnej przez jajowody;
- jatrogennej infekcji na skutek inwazyjnych zabiegów diagnostycznych i terapeutycznych (szew okrężny, amniopunkcja, kordocenteza, shunting).

Potencjalne drogi zakażenia wewnątrzrodniowego zaprezentowano na rycinie 1.

Spośród przedstawionych mechanizmów prowadzących do rozwoju zakażenia największą rolę wydaje się odgrywać droga wstępująca. Znajduje to swoje potwierdzenie w obserwacjach klinicznych: zakażenie błon płodowych (*chorioamnionitis*) występuje znacznie częściej w miejscu ich pęknięcia niż pozostałych fragmentach, w większości przypadków zakażeń płuc do których dochodzi *in utero*, stwierdza się równocześnie objawy *chorioamnionitis*, flora bakteryjna odpowiedzialna za rozwój wrodzonych zakażeń przypomina florę bakteryjną pochwy, a w ciąży bliźniaczej zakażenie dotyka części pierwszego płodu [8]. Ryzyko infekcji wstecznej (przez jajowody) oraz jatrogennej (amniopunkcja – 0–1%, szew okrężny 2–8%) jest niskie. Na przestrzeni ostatnich lat szczególnego znaczenia nabrały informacje dotyczące związku między chorobami przyzębia (*periodontal disease*) a zwiększonym ryzykiem porodu przedwczesnego. Do indukowania przedwczesnej czynności skurczowej macicy dochodzi bezpośrednio na drodze krwiopochodnego zakażenia jednostki maczyno-płodowej oraz pośrednio w wyniku wzrostu stężenia czynników prozapalnych, takich jak cytokiny i prostaglandyny. Na podstawie przeprowadzonych badań klinicznych wyka-



Rycina 1. Potencjalne drogi zakażenia wewnątrzrodniowego

Tabela 3. Konsekwencje zakażenia wewnątrzrodniowego

Plód	Noworodek	Matka
FIRS	Posocznica i wstrząs septyczny	Posocznica i wstrząs septyczny
Uszkodzenie tkanek płodu	Krwawienia dokomorowe	Zakażenia połogowe
Zgon wewnątrzmaciczny	Mózgowe porażenie dziecięce	Dystocja szyjkowa
	Zespół zaburzeń oddychania (RDS)	Wzrost odsetka cięć cesarskich
	Dysplazja oskrzelowo-płucna	
	Martwicze zapalenie jelit	
Poród przedwczesny		

FIRS (fetal inflammatory response syndrome) – płodowy zespół odpowiedzi zapalnej

ziano, że ukierunkowane działania profilaktyczne oraz celowana terapia chorób przyzębia u kobiet ciężarnych i przed okresem koncepcji wiążą się ze skutecznym ograniczeniem rozwoju porodu przedwczesnego. Istnieją jednak również prace, w których nie potwierdzono ich skuteczności [9, 10].

Konsekwencje zakażenia wewnątrzrodniowego

Wystąpienie zakażenia w przebiegu ciąży wiąże się z wieloma niekorzystnymi konsekwencjami dotyczącymi stanu płodu, noworodka oraz kobiety ciężarnej (tab. 3).

W zakresie powikłań występujących u ciężarnych do najpoważniejszych można zaliczyć ryzyko wystąpienia wstrząsu septycznego [11]. W aspekcie niekorzystnego wpływu na stan zdrowia płodu i noworodka szczególnie istotne wydają się negatywne konsekwencje związane z uszkodzeniem płodowej tkanki płucnej i ośrodkowego układu nerwowego płodu. Zakażenie wewnątrzrodniowe może prowadzić do rozwoju płodowego zespołu odpowiedzi zapalnej (FIRS, *fetal inflammatory response syndrome*). Noworodki z potwierdzonym FIRS, poza skutkami wynikającymi z wcześniactwa, są zagrożone zwiększonym ryzykiem wystąpienia posocznicy, wstrząsu septycznego, dysplazji oskrzelowo-płucnej, zespołu zaburzeń oddychania oraz mózgowego porażenia dziecięcego [12].

Metody diagnostyczne stosowane w rozpoznaniu zakażenia wewnątrzrodniowego

Objawy kliniczne

Kliniczne objawy zakażenia pojawiają się w przypadku wystąpienia zaawansowanego procesu chorobowego. Zaliczamy do nich według Gibbsa: wzrost temperatury ciała (> 37,8°C), leukocytozę (> 15 G/l), tachykardię matczyną (> 100 uderzeń serca/min) i płodową (> 160 uderzeń

serca/min), tkiwość mięśnia macicy oraz nieprawidłowy, cuchnący płyn owodniowy (w przypadku przedwczesnego pęknięcia błon płodowych). Stwierdzenie podwyższonej temperatury ciała i dwóch wyżej wymienionych objawów spełnia kryteria rozpoznania klinicznego zakażenia błon płodowych [13].

Jednocześnie trzeba podkreślić, że zaprezentowane powyżej kryteria kliniczne rozpoznania w dalszym ciągu nie pozwalają na jednoznaczne potwierdzenie wystąpienia schorzenia. Romero i wsp. w swoim artykule wykazali, że w grupie kobiet ciężarnych, u których rozpoznawano zakażenie na podstawie objawów klinicznych Gibbsa, jedynie u 54% z nich potwierdzono występowanie zakażenia wewnątrzrodniowego związanego z obecnością nieprawidłowej flory bakteryjnej płynu owodniowego [14]. Ta sama grupa badawcza wykazała niską dokładność (*accuracy*) objawów klinicznych stosowanych w klasycznej diagnostyce zakażenia wewnątrzrodniowego wynoszącą 46,7–57,8% dla pojedynczych parametrów. Stwierdzono również, że współwystępowanie u kobiet ciężarnych gorączki oraz trzech lub więcej objawów klinicznych infekcji nie wiązało się ze wzrostem dokładności diagnostycznej. Należy podkreślić, że badanie histopatologiczne popłodu, a nie kliniczne objawy zakażenia w większym stopniu korelują z pozytywnymi wynikami posiewu płynu owodniowego pobranego na drodze amniopunkcji [15]. Należy również oczekiwać, że dalsze prace badawcze pozwolą na ocenę skuteczności nowej klasyfikacji Triple I w codziennej praktyce klinicznej.

Metody biochemiczne

Pomimo postępu w zakresie diagnostyki biochemicznej zakażenia w ciąży, nadal istnieje potrzeba opracowania nowych skutecznych testów mających na celu wykrycie infekcji u kobiet zagrożonych porodem przedwczesnym, szczególnie w grupie kobiet bez przedwczesnego pęknięcia błon płodowych. Stosowane testy biochemiczne mające na celu wykrycie zakażenia wewnątrzrodniowego przedstawiono w tabeli 4. Ze względu na koszty i dostępność zaplecza laboratoryjnego oznaczanie stężenia

Tabela 4. Biochemiczne markery zakażenia wewnątrzrodniowego

Płyn owodniowy	Szyjka macicy	Surowica i pochwa
Bakterie	Bakteryjna waginoza	↑ G-CSF
↓ Glukoza	↑ G-CSF	↑ Interleukina 6
↑ Leukocyty	↑ TNF-α	↑ TNF-α
↑ G-CSF	↑ Interleukina 1	↑ CRP
↑ TNF-α	↑ Interleukina 6	↑ Ferrytyna
↑ Interleukina 1	↑ Interleukina 8	↑ Prokalcytonina
↑ Interleukina 6	↑ Płodowa fibronektyna	
	↑ Ferrytyna	

G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor*) – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów; TNF-α (*tumor necrosis factor alpha*) – czynnik martwicy nowotworu-α; CRP (*C-reactive protein*) – białko C-reaktywne

białka C-reaktywnego (CRP, *C-reactive protein*) pozostaje najczęściej wykorzystywaną metodą w diagnostyce stanów zapalnych, w tym zakażenia wewnątrzrodniowego. Romero i wsp. w swoim artykule wykazali dodatkowo skuteczność oznaczania stężenia CRP w wydzielinie z pochwy u kobiet z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych jako efektywnej metody potwierdzającej obecność zakażenia wewnątrzrodniowego (*cut-off* 10 ng/mL, specyficzność 89% i czułość 45%) [16].

W wielośrodkowym badaniu francuskim obejmującym łącznie 295 kobiet z pękniętymi błonami płodowymi oceniano czułość diagnostyczną wybranych markerów serologicznych w diagnostyce zakażenia wewnątrzrodniowego potwierdzanego na podstawie histopatologicznego badania popłodu. Analiza stężeń CRP, interleukiny 6 (IL-6, *interleukin 6*), interleukiny 8 (IL-8, *interleukin 8*), międzykomórkowej molekuly adhezyjnej-1 (ICAM-1, *intercellular adhesion molecule-1*), receptora ulegającego ekspresji w komórkach szpikowych 1 (TREM-1, *triggering receptor expressed on myeloid cells-1*), matrycy metaloproteinazy 8 (MMP-8, *matrix metalloproteinase-8*), matrycy metaloproteinazy 9 (MMP-9, *matrix metalloproteinase-9*) i ludzkich białek neutrofilów (HNP, *human neutrophil peptides*) była przeprowadzana w 2-dniowych odstępach, łącznie z dniem porodu. Stężenia CRP, IL-6, MMP-8, MMP-9 i HNP były statystycznie wyższe u kobiet z potwierdzonym zakażeniem wewnątrzrodniowym. Jednocześnie w badaniu wykazano, że spośród badanych markerów ocena stężenia CRP charakteryzowała się najwyższą czułością (największe pole pod krzywą ROC). Na podstawie wyników badania potwierdzono kliniczną zasadność stosowania powszechnie dostępnego badania, jakim jest oznaczanie stężenia CRP w diagnostyce zakażenia wewnątrzrodniowego [17].

Nowe formy nieinwazyjnej diagnostyki zakażenia wewnątrzrodniowego koncentrują się na analizie wydzieliny z pochwy (*cervicovaginal fluid*). Spośród analizowanych 9 markerów podwyższone stężenie IL-6 korelowało w sposób najbardziej istotny statystycznie z koloni-

zacja bakteryjną potwierdzaną na drodze amniopunkcji. Stwarza to nadzieje na wykorzystanie tej nieinwazyjnej formy diagnostyki do klinicznej kategoryzacji pacjentek, u których istnieją wskazania do inwazyjnych metod diagnostycznych zakażenia wewnątrzrodniowego [18]. W innym badaniu potwierdzono, że podwyższone stężenia IL-6 oraz czynnika martwiczego nowotworu-α (TNF-α, *tumor necrosis factor alpha*), w wydzielinie z pochwy przy pękniętych błonach płodowych korelują z ryzykiem wystąpienia FIRS oraz *funisitis* [19].

Amniopunkcja

W klasycznym ujęciu rozwoju infekcji wstępującej występowanie mikroorganizmów w jamie owodni jest poprzedzone wcześniejszą kolonizacją błon płodowych. Romero i wsp. w swoich artykułach wykazali jednak, że nie zawsze fakt obecności patogenów w płynie owodniowym był ściśle związany z zakażeniem błon płodowych [20]. Hodowle próbek płynu owodniowego uzyskanych od kobiet ciężarnych z rozpoznaniem porodem przedwczesnym bez pękniętych błon płodowych potwierdzają obecność zakażenia wewnątrzrodniowego od 0 do 24% przypadków. Obserwowany zakres wyników wiąże się z różnicami dotyczącymi zastosowanych metod hodowli pobranego materiału, przyjętej definicji porodu przedwczesnego, stopniem jego zaawansowania (rozwarcie szyjki macicy) oraz wiekiem ciążowym badanych kobiet. W wielu przypadkach zakażenie ma charakter złożonej infekcji [21]. Spośród najczęściej identyfikowanych mikroorganizmów u kobiet z zagrażającym porodem przedwczesnym i zachowanymi błonami płodowymi należy wymienić genitalne uraplazmy (*Ureaplasma parvum* i *Ureaplasma urealyticum*), *Fusobacterium spp.* i mykolazmy (*Mycoplasma hominis*) [22]. W przypadku klinicznego zapalenia błon płodowych u kobiet rodzących o czasie najczęściej wykazuje się obecność *G. vaginalis* i *Ureaplasma spp.* [23]. Do pozostałych drobnoustrojów stwierdzanych w próbkach płynu owodniowego można zaliczyć: *Streptococcus agalactiae*, *Peptostreptococcus*

spp., *Staphylococcus aureus*, *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus viridans*, *Bacterioides* spp. oraz szczepy gram-ujemne, na przykład *Escherichia coli*. Wykorzystanie nowych technik diagnostycznych biologii molekularnej umożliwia wykrycie infekcji bakteryjnej płynu owodniowego u 30–55% kobiet ciężarnych z przedwczesną czynnością skurczową. Najwyższą czułość diagnostyczną otrzymuje się po wykorzystaniu fragmentów rybosomalnego RNA – 16sRNA jako primerów służących amplifikacji materiału genetycznego zakaźnych drobnoustrojów.

Metody biofizyczne i badanie USG

Nieinwazyjne metody diagnostyczne – test niestresowy (NST, *nonstress test*) i ocena profilu biofizycznego płodu – znalazły głównie zastosowanie w zakresie diagnostyki zakażenia wewnątrzowodniowego w przypadku cięż powikłanych przedwczesnym pęknięciem błon płodowych. Większość z nich potwierdziła zależność między nieprawidłowymi wynikami testu niestresowego a stwierdzonym zakażeniem płodu. Na skutek stosowania niejednorodnych kryteriów rozpoznania zakażenia wewnątrzowodniowego ich czułość, pozytywna wartość predykcyjna oraz negatywna wartość predykcyjna wynosiły odpowiednio 36–84%, 14–75%, 18–100%. Zależność między skróceniem długości szyjki macicy a zwiększonym ryzykiem porodu przedwczesnego jest potwierdzonym faktem klinicznym. Dodatkowo, Gomez i wsp. oraz Romero i wsp. wykazali, że długość szyjki macicy może stanowić silny marker zakażenia wewnątrzowodniowego. Pomiar szyjki macicy okazał się najdokładniejszym parametrem mającym na celu określenie ryzyka rozwoju zakażenia wewnątrzowodniowego spośród innych analizowanych danych klinicznych [24, 25]. W innych badaniach potwierdzono, że obecność osadu (*sludge*) przed szyjką macicy w ultrasonografii przezpochwowej może świadczyć o obecności wewnątrzowodniowego biofilmu [26].

W związku z niedoskonałością pośrednich metod wykrycia FIRS (głównie badanie KTG), mając równocześnie na uwadze potencjalne ryzyko działań inwazyjnych (kordocenteza), trwają intensywne prace badawcze w zakresie wczesnej i obiektywnej diagnostyki zakażenia płodu. Dzięki postępowi w zakresie technik obrazowania oraz na podstawie nowej wiedzy dotyczącej patofizjologii noworodka i płodu dotkniętych procesem zapalnym *in utero*, pojawiło się wiele prac oceniających rolę ultrasonografii w diagnostyce FIRS. To „narządowo celowane” badanie dotyczy głównie wpływu odpowiedzi zapalnej płodu na funkcję mięśnia sercowego (ocena całki prędkości przepływu w czasie, stosunku E/A), wzrost indeksu Tei, analiza odkształcania mięśnia sercowego), grasicy (zmniejszona objętość), śledziony (pulsacyjny przepływ w żyłę śledzionowej), gruczołów nadnerczowych (zwiększona objętość) oraz funkcji nerek płodu (zmniejszenie ilości płynu owodniowego) [27].

Badanie histopatologiczne

Badanie histopatologiczne popłodu znajduje swoje zastosowanie w ostatecznym rozpoznaniu zakażenia wewnątrzowodniowego oraz dokładnej ocenie stopnia zaawansowania infekcji. Potwierdzenie nacieku składającego się z granulocytów obojętnochłonnych w obrębie błon płodowych (kosmówka i owodnia) pozwala na potwierdzenie ich zapalenia jako wykładnika zakażenia obejmującego „kompartament” matczyny. Płodowe *vasculitis* i obecność granulocytów obojętnochłonnych w ścianie naczyń kosmówki (*chronic vasculitis*) oraz naczyń pępowiny (*funisitis*) jest potwierdzeniem płodowej odpowiedzi na zakażenie i rozwoju FIRS.

Najpowszechniejsza klasyfikacja oceny stanu zapalnego błon płodowych została przedstawiona przez Redline i wsp. Obejmuje ona jednocześnie analizę kompartamentu matczynego i płodowego – *maternal* i *fetal inflammatory response*. W stosunku do przedziału matczynego pojęcie stadium zaawansowania (*stage*) dotyczy anatomicznego miejsca, to znaczy warstwy łożyska naciekanego przez neutrofile (stadium wczesne, umiarkowane, zaawansowane), natomiast pojęcie stopnia (*grade*) jest związane z nasileniem zmian zapalnych w określonej anatomicznej lokalizacji (stopień łagodny i umiarkowany oraz ciężki). Przyjęta klasyfikacja jest histopatologicznym *lingua franca* oceny procesów zapalnych stwierdzanych w popłodzie i u noworodka [28].

Antybiotykoterapia zakażenia wewnątrzowodniowego

Efektywna terapia potwierdzonego zakażenia wewnątrzowodniowego jest trudna. W praktyce klinicznej efektywna kategoryzacja pacjentów oraz ocena skuteczności terapii nie są możliwe bez wykorzystania inwazyjnych metod diagnostycznych (amniopunkcja). W związku z faktem braku jednoznacznych wytycznych terapii szczególnie interesująca wydaje się praca autorstwa Greenberg i wsp., analizująca kliniczną praktykę w przypadku wystąpienia zakażenia wewnątrzowodniowego w grupie 212 położniczek amerykańskich. W większości przypadków 61,3% ankietowanych opierało kliniczne rozpoznanie zakażenia wewnątrzowodniowego na podstawie niepełnych kryteriów Gibbsa – obecność gorączki oraz stwierdzenie przynajmniej jednego dodatkowego kryterium. W terapii farmakologicznej najczęściej stosowanym schematem było zastosowanie ampicyliny z gentamycyną wraz z innym dodatkowym chemioterapeutyką działającym na florę gram-ujemną. Jednocześnie 30% lekarzy stosowało pojedynczy antybiotyk. Odnotowano również dużą zmienność w zakresie czasu trwania leczenia po porodzie. W badaniu nie wykazano jednoznacznych trendów, potwierdzono znaczą różnorodność w zakresie terapii zakażenia wewnątrzowodniowego w badanej grupie lekarzy [29].

W przypadku rozpoznania zakażenia wewnątrzmacicznego (na podstawie objawów klinicznych lub na drodze amniopunkcji) standardowe postępowanie polega na natychmiastowym rozpoczęciu antybiotykoterapii lub/i ukończeniu ciąży bez względu na czas jej trwania. Powyższa strategia stanowi optymalne postępowanie zarówno w zakresie terapii ciężarnej, jak i płodu. Wielu badaczy wyraża swoją wątpliwość w stosunku do roli antybiotykoterapii jako skutecznej metody leczenia infekcji płodu i ciężarnej wraz z równoczesną próbą przedłużenia czasu trwania ciąży. Należy podkreślić, że aktualnie brakuje ścisłych wytycznych i określonych schematów terapeutycznych przy potwierdzonym zakażeniu wewnątrzrodniowym. Jedyna metaanaliza badająca powyższy problem charakteryzowała się niewielką grupą badanych kobiet (181). Okołoporodowe zastosowanie antybiotyków w porównaniu z antybiotykoterapią bezpośrednio po porodzie wiązało się z ograniczeniem posocznicy u noworodków (RR 0,08) oraz zapalenia płuc (RR 0,15). Powyższe rezultaty nie były istotne statystycznie (liczba badanych kobiet = 45) [30]. Ponieważ w dalszym ciągu są niedostępne wyniki dużych badań porównawczych, większość schematów leczenia opiera się na empirycznej, dożylniej poliantybiotykoterapii (najczęściej ampicylina 2 g co 6 h + gentamycyna 1,0–1,5 mg/kg co 8 h) [31]. Zakres terapeutyczny tych dwóch antybiotyków obejmuje dwa główne patogeny powodujące zakażenia stwierdzane u noworodka – GBS i *E. coli*. U pacjentek uczulonych na penicylinę zaleca się zastosowanie klindamycyny w dawce 900 mg co 8 godzin [32].

Idealny antybiotyk zastosowany w terapii zakażenia wewnątrzrodniowego powinien się cechować: łatwą drogą podania i wysoką doustną biodostępnością, brakiem toksyczności i teratogenności, szerokim spektrum działania na mikroorganizmy związane z zakażeniem wewnątrzrodniowym, działać w kompartmentcie macicznym i płodowym, wykazywać działanie przeciwzapalne oraz działać również na szczepy antybiotykkooporne.

W najnowszych badaniach potwierdzono, że zastosowanie makrolidów starszej generacji, jak erytromycyna i azytromycyna, okazuje się nieskuteczne w terapii infekcji perinatalnych powodowanych mykoplazmami i ureaplazmami. Spowodowane jest to stale wzrastającym odsetkiem szczepów opornych i bardzo niską penetracją antybiotyków do płynu owodniowego wynoszącą jedynie około 2–4%. Istniejącą sytuację może zmienić wprowadzenie do praktyki klinicznej nowych leków. Szczególnie obiecujące wydają się badania związane z zastosowaniem w terapii zakażenia wewnątrzrodniowego makrolidu czwartej generacji – solithromycyny. W badaniach *in vivo* potwierdzono wysoką skuteczność leku w stosunku do patogenów związanych z ryzykiem rozwoju zakażenia wewnątrzrodniowego. Siła jej dzia-

łania w stosunku do zakażeń ureaplazmami 30-krotnie przekraczała wartości obserwowane przy użyciu azytromycyny przy jednoczesnym braku występowania szczepów opornych. W dodatkowych badaniach potwierdzono, że zastosowanie tego makrolidu może ograniczać proces reakcji zapalnej i mieć działanie immunomodulujące, głównie przez wpływ na aktywność jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF kappa B (NF- κ B, *nuclear factor kappa B*). W badaniach *in vitro* linii komórkowych pochodzących z ludzkiego łożyska po użyciu solithromycyny odnotowano spadek produkcji prozapalnych interleukin. Immunomodulujące właściwości leku zostały również potwierdzone na podstawie badań przeprowadzonych na owcach. Należy podkreślić, że efekt immunosupresyjny solithromycyny obserwowano jedynie przy jego wysokich stężeniach, co rodzi ideę ewentualnego bezpośredniego doowodniowego zastosowania w terapii zakażenia wewnątrzrodniowego [33].

Potwierdzeniem potencjalnego braku skuteczności profilaktyki i leczenia stanów zapalnych w ciąży są wyniki najnowszych badań. W pracy autorów koreańskich przeprowadzono ocenę wymazów pochwoowych w kierunku *M. hominis* i *U. urealyticum* w grupie 1035 ciężarnych kobiet w okresie 5 lat hospitalizowanych w szpitalu uniwersyteckim ze względu na powikłania położnicze. W badanej grupie u 571 kobiet (55,2%) stwierdzono obecność mykoplazm; odpowiednio u 472 ciężarnych wyhodowano *U. urealyticum*, u 2 potwierdzono występowanie *M. hominis*, a oba patogeny były obecne u 97 (17,0%) z nich. Ryzyko porodu przedwczesnego było wyższe w grupie kobiet z mieszaną infekcją oraz było skorelowane ze stwierdzaną liczbą patogenów. W badaniu antybiotykkooporności wykazano brak wrażliwości *M. hominis* na erytromycynę, azytromycynę oraz klarytromycynę, natomiast wrażliwość *U. urealyticum* w stosunku do wyżej wymienionych antybiotyków wynosiła odpowiednio 64,0%, 75,2%, 86,0%. Jednocześnie na przestrzeni lat stwierdzono znaczący wzrost oporności *U. urealyticum* na erytromycynę. Oba szczepy cechowały się prawie 100-procentową wrażliwością na antybiotyki najnowszej generacji, jak josamycyna i pristinamycyna [34].

W aspekcie agresywnych form antybiotykoterapii szczególnie interesująca wydaje się praca zaprezentowana również przez autorów koreańskich. W tym retrospektywnym badaniu obejmującym okres 19 lat oceniano wpływ dwóch form antybiotykoterapii w grupie 314 kobiet ciężarnych, u których rozpoznano przedwczesne pęknięcie błon płodowych. U każdej pacjentki wykonywano diagnostyczną amniopunkcję w celu potwierdzenia lub wykluczenia zakażenia wewnątrzrodniowego. Pierwsza grupa kobiet (195 pacjentek) hospitalizowana w latach 1993–2003 roku otrzymywała profilaktycznie ampicylinę lub/i cefalosporyny. U 33 pacjentek w tej grupie zastosowano dodatkowo erytromycynę (23), metronidazol

(15), azatromycynę (8) i gentamycynę (1). Druga grupa składająca się ze 119 kobiet przebywających w szpitalu uniwersyteckim w latach 2003–2013 otrzymywała w ciągu doby 1 g cefitriksonu *i.v.*, klarytromycynę 2 × 500 mg doustnie oraz metronidazol 3 × 500 mg *i.v.* Profilaktyczna antybiotykoterapia w obu grupach była kontynuowana do porodu z wyjątkiem zastosowania metronidazolu, który był podawany nie dłużej niż przez 4 tygodnie. W grupie leczonej zgodnie z drugim, nowszym schematem terapeutycznym w stosunku do pierwszej grupy odnotowano statystycznie dłuższy okres latencji oraz mniejszy odsetek porodów przedwczesnych w okresie 7 dni od pęknięcia błon płodowych, mniejszy odsetek potwierdzonego badaniem histopatologicznym zapalenia błon płodowych i *funitis* oraz, co wydaje się szczególnie istotne, zmniejszony odsetek krwawień dokomorowych oraz mózgowego porażenia dziecięcego. Należy podkreślić, że wyżej wymienione wyniki były istotne statystycznie jedynie w grupie kobiet z potwierdzonym zakażeniem wewnątrzrodniowym. U kobiet bez tego zakażenia złożona terapia antybiotykowa nie miała wpływu na wyniki położnicze i neonatologiczne [35].

Badacze przeanalizowali również wpływ antybiotykoterapii na częstość występowania zakażenia (pozytywna hodowla próbek płynu owodniowego lub *chorioamnionitis* potwierdzone na podstawie badania histopatologicznego) oraz zapalenia wewnątrzrodniowego (stężenie MMP-8 > 23 ng/ml w płynie owodniowym) w tej samej grupie kobiet z PROM. „Agresywna antybiotykoterapia” w drugiej grupie kobiet ciężarnych zmniejszała częstość zakażenia i zapalenia, odpowiednio z 68,8% do 52,1% oraz 75% do 54,2%. W pierwszej grupie pacjentek leczonych według starszego schematu zaobserwowano natomiast wzrost częstości zakażenia z 34% do 58,5% oraz zapalenia w jamie owodni – z 31,7% do 55% [36].

W pracy innej grupy koreańskiej potwierdzono również skuteczność terapii w ciążyach powikłanych przedwczesnym pęknięciem błon płodowych zakończonych porodem przedwczesnym przed 32. tygodniem ciąży. W ocenie dwóch grup badawczych obejmujących 80 kobiet ciężarnych leczonych erytromycyną oraz 86 kobiet, u których zastosowano klarytromycynę, potwierdzono skuteczność terapii makrolidem nowej generacji. W grupie leczonej klarytromycyną odnotowano zmniejszoną częstość histologicznego *chorioamnionitis*, mniejszy odsetek dysplazji oskrzelowo-płucnej oraz krwawień dokomorowych [37].

Idea inwazyjnego leczenia zakażenia wewnątrzrodniowego jest problemem badawczym analizowanym w ograniczonym zakresie. Próba oceny terapii zakażenia wewnątrzrodniowego za pomocą amniocentazy zamieszczona w bazie *Cochrane* obejmowała jedno badanie kliniczne, dlatego też przeprowadzenie metaanalizy było niemożliwe [38]. Wyniki pracy potwierdziły, że zastosowanie przezskórnego amniocentazy u pacjentek nie miało wpływu na

ograniczenie zakażeń noworodka i zmniejszenie częstości poporodowego zapalenia błony śluzowej macicy [39]. Dodatkowo, w piśmiennictwie występuje jeden opis przypadku inwazyjnej antybiotykoterapii zakażenia wewnątrzrodniowego spowodowanego wieloopornym szczepem *Klebsiella pneumoniae* u pacjentki z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych. Leczenie obejmowało zastosowanie przezbrzuszej amniocentazy wraz doowodniowym podaniem klindamycyny w dawce 600 mg z następnym podaniem 400 mg ciprofloksacyliny przez 10 dni. Za skutecznością zastosowanego leczenia przemawia fakt, że u noworodka nie stwierdzono objawów zakażenia i nie wymagał on uzupełniającej antybiotykoterapii [40].

Nowe kierunki badań

Aktualne wyniki badań przeczą wstępnej teorii, która traktuje łożysko jako organ całkowicie sterylny. Prace Aagaard i wsp. były punktem zwrotnym tego dogmatu. Wykazały one występowanie obfitej flory bakteryjnej w łożyskach u kobiet rodzących o czasie. Do najczęściej identyfikowanych bakterii zalicza się *Escherichia coli*, *Prevotella tanneriae*, *Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Streptomyces avermitilis*, *Neisseria polysacchara*, *Neisseria lactamica* i *Fusobacterium spp.* Szczególnie interesujący wydaje się wniosek świadczący o bliskim związku z mikrobiomem łożyska a florą bakteryjną jamy ustnej, a nie pochwy czy też przewodu pokarmowego [41]. Komensalne szczepy bakteryjne mają bezpośredni wpływ na modulację odpowiedzi immunologicznej i tym samym mogą modyfikować odpowiedź zapalną komórek trofoblastu [42]. Zburzenie tej chwiejnej równowagi może skutkować nadmierną aktywacją odpowiedzi zapalnej prowadzącej ostatecznie do przedwczesnej czynności skurczowej i porodu przedwczesnego [43]. Wydaje się, że dalsze opracowanie wyników uzyskanych na drodze projektu ludzkiego mikrobiomu – *Human Microbiome Project* – pozwoli na bardziej szczegółową analizę związku między florą bakteryjną człowieka, w tym dróg rodnych, a funkcjonowaniem układu odpornościowego [44].

Należy jednak podkreślić, że wykorzystanie najnowszych, ultranowoczesnych technik biologii molekularnej w celu identyfikacji ludzkiego mikrobiomu, mimo wysokiej czułości diagnostycznej, nie jest pozbawione wad. Swoistym „kijem w mrowisko” mogą być wyniki pracy opublikowanej zaledwie w czerwcu 2016 roku. Badacze amerykańscy wykazali, że przy niskiej zawartości materiału biologicznego w badanej próbce łożyska (blok tkankowy bez kontaktu z powierzchnią płodową) uzyskiwane wyniki mogą w głównej mierze wykazywać obecność DNA będącego konsekwencją kontaminacji powietrzem lub zastosowanych zestawów laboratoryjnych przy oczyszczaniu DNA. W przedstawionym eksperymencie za pomocą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*) naukowcy

porównywali wyniki zawartości bakteryjnej próbek uzyskanych z jamy ustnej, pochwy i płyty łożyska (blok tkankowy 5 × 5 × 5 mm bez powierzchni błonowej łożyska) od 6 kobiet rodzących o czasie w stosunku do 3 kontrolnych próbek – jałowej posiewówki, posiewówki otwartej przez chwilę w pokoju, w którym przeprowadzano biopsję łożyska, oraz odczynników stosowanych do oczyszczenia DNA [45].

Nowe podejście badawcze obejmuje nie tylko ocenę stężenia pojedynczych markerów związanych ze stanem zapalnym, ale również ocenę ich wzajemnych zależności w etiologii analizowanego stanu chorobowego. To holistyczne podejście obejmujące badanie wspólnej interakcji różnych czynników i ich szlaków metabolicznych na poziomie komórkowym określa się mianem interaktomu (*interactome*). Czynniki o podobnej ekspresji mogą tworzyć kompleksy wchodzące w skład tych samych szlaków metabolicznych lub też brać udział w funkcjonowaniu pętli regulatorowych i transdukcji sygnału komórkowego. Wspólne analizowanie sieci koekspresji w danej jednostce chorobowej nie tylko umożliwia zgłębienie jej patofizjologii, ale jednocześnie pozwala na identyfikację nowych kierunków terapeutycznych. Romero i wsp. poddali analizie wzajemne powiązania 33 interleukin związanych ze stanem zapalnym w 3 grupach kobiet z porodem przedwczesnym: bez zapalenia/zakażenia wewnątrzrodniowego, z zakażeniem wewnątrzrodniowym i zapaleniem wewnątrzrodniowym (bez stwierdzonej flory bakteryjnej w płynie owodniowym). Badacze wykazali, że największy stopień korelacji między analizowanymi interleukinami występuje w grupie kobiet z potwierdzonym zakażeniem wewnątrzrodniowym [46].

Wyniki badań oceniające związek między florą bakteryjną łożyska a występowaniem zakażenia wewnątrzrodniowego oraz powikłań z niego wynikających nabierają szczególnego znaczenia na podstawie najnowszych metod badawczych. Postęp w technikach molekularnych nie tylko umożliwia szybką identyfikację flory bakteryjnej, ale

równocześnie pozwala na czynnościową ocenę szlaków metabolicznych łożyskowego mikrobiomu. Prince i wsp. w swojej pracy potwierdzili związek między zaawansowaniem stanu zapalnego łożyska a składem patogennej flory bakteryjnej głównie pochodzenia genitalnego i oralnego. Autorzy zaobserwowali zwiększoną ilość szczepu *L. crispatus* w łożyskach bez stwierdzonego zakażenia. Mając na uwadze inne prace podkreślające związek między spadkiem ilości *L. crispatus* w pochwie a wzrostem ryzyka porodu przedwczesnego, udział tego szczepu w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej wymaga dalszych badań. W badaniu wykazano również, że przy nieprawidłowej florze bakteryjnej dochodzi do modulacji szeregu szlaków metabolicznych związanych z cyklem życiowym patogenów, a obserwowany wzrost aktywności dotyczył głównie szlaku glukozy-pentozo-fosforanowego, szlaku metabolizmu glicerofosfolipidów oraz nierybosomalnych peptydów grup sideroforów (*siderophore group nonribosomal peptides*) [47].

Podsumowanie

1. W związku z obserwowanym postępem w zakresie nauk podstawowych wczesna diagnostyka oraz skuteczna terapia zakażenia wewnątrzrodniowego stają się coraz bardziej efektywne.
2. Istnieje potrzeba opracowania nowych schematów leczniczych zakażenia wewnątrzrodniowego, które w znaczący sposób ograniczyłyby jego niekorzystny wpływ na stan matek i noworodków.
3. Zastosowanie inwazyjnych metod diagnostycznych zakażenia wewnątrzrodniowego, takich jak amniopunkcja, w wyspecjalizowanych ośrodkach z dostępem do molekularnej diagnostyki mikrobiologicznej może w przyszłości stać się standardem opieki perinatalnej.

Abstract

The intraamniotic infection is associated with significant maternal, fetal and neonatal adverse outcomes. This review presents the results of current clinical research and new treatment options of intraamniotic infection.

Key words: infection, pregnancy, antibiotic therapy

Gin. Perinat. Prakt. 2016; 1, 4: 141–151

Piśmiennictwo

1. Gibbs R.S., Duff P. Progress in pathogenesis and management of clinical intraamniotic infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1991; 164: 1317.
2. Yoon B.H., Romero R., Moon J.B. i wsp. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2001; 185: 1130–1136.
3. Russell P. Inflammatory lesions of the human placenta: clinical significance of acute chorioamnionitis. *Am. J. Diagn. Gynecol. Obstet.* 1979; 2: 127–137.
4. Rouse D.J., Landon M., Leveno K.J. i wsp. The Maternal-Fetal Medicine Units cesarean registry: chorioamnionitis at term and its duration-relationship to outcomes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2004; 191: 211.

5. Gibbs R.S. Diagnosis of intra-amniotic infection. *Semin. Perinatol.* 1977; 1: 71–77.
6. Kim C.J., Romero R., Chaemsaihong P. i wsp. Acute chorioamnionitis and funisitis: definition, pathologic features, and clinical significance. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2015; 213 (4 supl.): S29–52.
7. Apuzzio J.J., Williams S.F. Evaluation and Management of Women and Newborns With a Maternal Diagnosis of Chorioamnionitis: Summary of a Workshop. *Obstet. Gynecol.* 2016; 128: 205–206.
8. Benirschke K. Routes and types of infection in the fetus and the newborn. *AMA J. Dis. Child* 1960; 99: 714–721.
9. Teshome A., Yitayeh A. Relationship between periodontal disease and preterm low birth weight: systematic review. *Pan. Afr. Med. J.* 2016; 24: 215.
10. Corbella S., Taschieri S., Del Fabbro M. i wsp. Adverse pregnancy outcomes and periodontitis: A systematic review and meta-analysis exploring potential association. *Quintessence Int.* 2016; 47: 193–204.
11. Hauth J.C., Gilstrap L.C. 3rd, Hankins G.D. i wsp. Term maternal and neonatal complications of acute chorioamnionitis. *Obstet. Gynecol.* 1985; 66: 59.
12. Gomez R., Romero R., Ghezzi F. i wsp. The fetal inflammatory response syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1998; 179: 194–202.
13. Gibbs R.S. Diagnosis of intra-amniotic infection. *Semin. Perinatol.* 1977; 1: 71–77.
14. Romero R., Miranda J., Kusanovic J.P. i wsp. Clinical chorioamnionitis at term I: microbiology of the amniotic cavity using cultivation and molecular techniques. *J. Perinat. Med.* 2015; 43: 19–36.
15. Romero R., Chaemsaihong P., Korzeniewski S.J. i wsp. Clinical chorioamnionitis at term III: how well do clinical criteria perform in the identification of proven intra-amniotic infection? *J. Perinat. Med.* 2016; 44: 23–32.
16. Shim S.S., Romero R., Jun J.K. i wsp. C-reactive protein concentration in vaginal fluid as a marker for intra-amniotic inflammation/infection in preterm premature rupture of membranes. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2005; 18 (6): 417–422.
17. Caloone J., Rabilloud M., Boutitie F. i wsp. ICAMs Study Group. Accuracy of several maternal seric markers for predicting histological chorioamnionitis after preterm premature rupture of membranes: a prospective and multicentric study. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2016; 205: 133–140.
18. Combs C.A., Garite T.J., Lapidus J.A. i wsp. Obstetrix Collaborative Research Network. Detection of microbial invasion of the amniotic cavity by analysis of cervicovaginal proteins in women with preterm labor and intact membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2015; 212: 482.e1–482.e12.
19. Kunze M., Klar M., Morfeld C.A. i wsp. Cytokines in noninvasively obtained amniotic fluid as predictors of fetal inflammatory response syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016; 215: 96.e1–8.
20. Kim M.J., Romero R., Gervasi M.T. i wsp. Widespread microbial invasion of the chorioamniotic membranes is a consequence and not a cause of intra-amniotic infection. *Lab. Invest.* 2009; 89: 924–936.
21. Romero R., Sirtori M., Oyarzun E. i wsp. Infection and labor. V. Prevalence, microbiology, and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1989; 161: 817–824.
22. Allen-Daniels M.J., Serrano M.G., Pflugner L.P. i wsp. Identification of a gene in *Mycoplasma hominis* associated with preterm birth and microbial burden in intraamniotic infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2015.
23. Romero R., Miranda J., Kusanovic J.P. i wsp. Clinical chorioamnionitis at term I: microbiology of the amniotic cavity using cultivation and molecular techniques. *J. Perinat. Med.* 2015; 43: 19–36.
24. Gomez R., Romero R., Nien J.K. i wsp. A short cervix in women with preterm labor and intact membranes: a risk factor for microbial invasion of the amniotic cavity. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2005; 192: 678–689.
25. Romero R., Miranda J., Chaiworapongsa T. i wsp. Sterile intra-amniotic inflammation in asymptomatic patients with a sonographic short cervix: prevalence and clinical significance. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2014; 24: 1–17.
26. Kusanovic J.P., Espinoza J., Romero R. i wsp. Clinical significance of the presence of amniotic fluid 'sludge' in asymptomatic patients at high risk for spontaneous preterm delivery. *Ultrasound. Obstet. Gynecol.* 2007; 30: 706–714.
27. Mastrolia S.A., Erez O., Loverro G. i wsp. Ultrasonographic approach to diagnosis of fetal inflammatory response syndrome: a tool for at-risk fetuses? *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016; 215: 9–20.
28. Redline R.W., Faye-Petersen O., Heller D. i wsp. Society for Pediatric Pathology, Perinatal Section, Amniotic Fluid Infection Nosology Committee. Amniotic infection syndrome: nosology and reproducibility of placental reaction patterns. *Pediatr. Dev. Pathol.* 2003; 6: 435–448.
29. Greenberg M.B., Anderson B.L., Schulkin J. i wsp. A first look at chorioamnionitis management practice variation among US obstetricians. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* 2012; 2012: 628–362.
30. Chapman E., Reveiz L., Illanes E. i wsp. Antibiotic regimens for management of intra-amniotic infection. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2014; (12): CD010976.
31. Locksmith G.J., Chin A., Vu T. i wsp. High compared with standard gentamicin dosing for chorioamnionitis: a comparison of maternal and fetal serum drug levels. *Obstet. Gynecol.* 2005; 105: 473–479.
32. Duff P. Antibiotic selection in obstetrics: making cost-effective choices. *Clin. Obstet. Gynecol.* 2002; 45: 59.
33. Keelan J.A., Payne M.S., Kemp M.W. i wsp. A New, Potent, and Placenta-Permeable Macrolide Antibiotic, Solithromycin, for the Prevention and Treatment of Bacterial Infections in Pregnancy. *Front. Immunol.* 2016; 7: 111.
34. Lee M.Y., Kim M.H., Lee W.I. i wsp. Prevalence and Antibiotic Susceptibility of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in Pregnant Women. *Yonsei Med. J.* 2016; 57: 1271–1275.
35. Lee J., Romero R., Kim S.M. i wsp. A new anti-microbial combination prolongs the latency period, reduces acute histologic chorioamnionitis as well as funisitis, and improves neonatal outcomes in preterm PROM. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2016; 29: 707–720.
36. Lee J., Romero R., Kim S.M. i wsp. A new antibiotic regimen treats and prevents intra-amniotic inflammation/infection in patients with preterm PROM. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2016; 29: 2727–2737.

37. Chang K.H., Kim H.J., Yu H.J. i wsp. Comparison of antibiotic regimens in preterm premature rupture of membranes: neonatal morbidity and 2-year follow-up of neurologic outcome. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2016; 20: 1–7.
38. Hofmeyr G.J., Kiiza J.A. Amnioinfusion for chorioamnionitis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016; (8): CD011622.
39. Parilla B.V., McDermott T.M. Prophylactic amnioinfusion in pregnancies complicated by chorioamnionitis: a prospective randomized trial. *Am. J. Perinatol.* 1998; 15: 649–652.
40. Tchirikov M., Zhumadilov Z., Winarno A.S. i wsp. Treatment of Preterm Premature Rupture of Membranes with Oligo-/Anhydramnion Colonized by Multiresistant Bacteria with Continuous Amnioinfusion and Antibiotic Administrations through a Subcutaneously Implanted Intrauterine Port System: A Case Report. *Fetal. Diagn. Ther.* 2015; doi: 10.1159/000438483.
41. Aagaard K., Ma J., Antony K.M. i wsp. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci. Transl. Med.* 2014; 6: 237–265.
42. Belkaid Y., Hand T.W. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell.* 2014; 157: 121–141.
43. Racicot K., Kwon J.Y., Aldo P. i wsp. Understanding the complexity of the immune system during pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2014; 72: 107–116.
44. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012; 486: 207–214.
45. Lauder A.P., Roche A.M., Sherrill-Mix S. i wsp. Comparison of placenta samples with contamination controls does not provide evidence for a distinct placenta microbiota. *Microbiome* 2016; 4: 29.
46. Romero R., Grivel J.C., Tarca A.L. i wsp. Evidence of perturbations of the cytokine network in preterm labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2015; 213: 836.e1–836.e18.
47. Prince A.L., Ma J., Kannan P.S. i wsp. The placental membrane microbiome is altered among subjects with spontaneous preterm birth with and without chorioamnionitis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016; 214: 627.e1–627.