

Analiza wydzieliny szyjkowo-pochwowej w diagnostyce przedwczesnego pęknięcia błon płodowych

Analysis of cervicovaginal fluid in the diagnosis of premature rupture of membranes

Knapik Dorota, Olejek Anita

Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej w Bytomiu, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.

Streszczenie

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych (premature rupture of membranes - PROM) występuje u 8% wszystkich ciążarnych, jednak u 3% do pęknięcia pęcherza owodniowego dochodzi przed 37 tygodniem ciąży (preterm PROM – PPRM). Konsekwencje tak wczesnego odpłynięcia płynu owodniowego są bardzo poważne. Poważne powikłania i śmiertelność noworodków urodzonych przedwcześnie wskutek PPRM jest bardzo wysoka i odwrotnie proporcjonalna do wieku ciążowego.

Rozpoznanie PROM stawia się na podstawie wywiadu i badania fizykalnego, a w razie wątpliwości stosuje się test określający pH wydzieliny pochwowej, oraz ultrasonografię i ocenę wskaźnika płynu owodniowego. W trudnych przypadkach pomocna może okazać się analiza wydzieliny szyjkowo-pochwowej, w której oceniano już stężenie gonadotropiny kosmówkowej (beta-HCG), alfa-1 mikroglobuliny płodowej (PAMG-1), białka łączącego insulinopodobnego czynnika wzrostu typu 1 (IGFBP-1) i alfa-fetoproteiny (AFP). Próbowano również zastosować w tym celu inne markery, takie jak interleukina 6 (IL-6), prolaktyna, kreatynina i mleczażny. Kilka testów służących do analizy wydzieliny szyjkowo-pochwowej jest już dostępnych w komercyjnej sprzedaży. W Polsce dostępne są obecnie różne testy oparte na analizie pH, oraz test Actim Prom® oparty na analizie IGFBP-1.

W praktyce klinicznej około 10% przypadków PROM wymaga dodatkowego potwierdzenia, co może być trudne szczególnie w leczeniu otwartym. We współczesnej praktyce klinicznej coraz częściej stosowane są obecnie różnego rodzaju testy przyłóżkowe (tzw. point-of-care testing – POCT). Ich wykonanie nie wymaga laboratorium, specjalistycznego sprzętu ani przeszkolonego personelu.

W pracy przedstawiono tylko te markery, które albo już są stosowane w diagnostyce PROM w formie testów POCT, lub też mogłyby być stosunkowo łatwo zaadoptowane do tego celu.

Słowa kluczowe: **przedwczesne pęknięcie błon płodowych /
wydzielina szyjkowo-pochwowa / diagnostyka / testy diagnostyczne /**

Adres do korespondencji:

Dorota Knapik
Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej w Bytomiu,
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.
41-902 Bytom, ul. Batorego 15,
tel./fax. 32-7861540
e-mail: kardanest@sum.edu.pl

Otrzymano: 10.09.2010
Zaakceptowano do druku: 20.12.2010

Knapik D, Olejek A.

Abstract

Premature rupture of membranes (PROM) complicates approximately 8% of all pregnancies, however in 3% of the cases the membrane rupture occurs before 37 weeks of gestation (preterm PROM – PPRM). The consequences of such an early loss of amniotic fluid are very serious. Serious complications and mortality of neonates born prematurely due to PPRM is very high and inversely proportional to gestational age.

The diagnosis of PROM is based on medical history and physical examination. In case of doubt, a test determining the pH of vaginal secretions and ultrasonography with assessment of amniotic fluid index may be applied. In difficult cases vaginal fluid diagnostic markers are very helpful. Proposed markers include: beta-human chorionic gonadotropin (beta-HCG), placental alpha-microglobulin-1 (PAMG-1), insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) and alpha-fetoprotein (AFP). Other markers were also proposed, namely interleukin 6 (IL-6), prolactin, creatinine and lactates. Several tests for the analysis of cervico-vaginal secretions are already commercially available. In Poland various tests based on the analysis of vaginal pH and a test Actim Prom® based on the analysis of IGFBP-1 are available.

In clinical practice, approximately 10% of cases of PROM require additional confirmation, which can be difficult, especially in the outpatient setting. Various types of bedside tests, the so-called point-of-care testing – POCT, are increasingly used in contemporary medical practice. Their implementation does not require a laboratory, specialized equipment or trained personnel. This paper presents only those markers that either are already used in the diagnosis of PROM in the form of POCT testing, or could be relatively easily adapted for this purpose.

**Key words: premature rupture of membranes / cervico-vaginal secretions /
/ diagnostics / tests /**

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych (*premature rupture of membranes - PROM*) definiuje się jako pęknięcie pęcherza owodniowego przed początkiem akcji porodowej. Problem ten dotyczy 8% wszystkich ciężarnych, a u dziewcząt przed ukończeniem 18 roku życia odsetek ten może być nawet dwukrotnie wyższy [1, 2].

Wśród wszystkich przypadków PROM, najbardziej niebezpieczne z uwagi na swoje konsekwencje jest pęknięcie pęcherza owodniowego przed 37 tygodniem ciąży, co określa się jako przedwczesne pęknięcie błon płodowych przed terminem (*preterm premature rupture of membranes – PPRM*). Problem ten dotyczy zaledwie 3% ciężarnych, jednak PPRM odpowiada za jedną trzecią wszystkich przedwczesnych porodów [3]. Najistotniejszym zagrożeniem jest infekcja wewnątrzmaciczna, a ryzyko jej wystąpienia rośnie wraz z czasem, który upływa od momentu przerwania ciągłości wód płodowych [4]. Ryzyko dla płodu obejmuje wcześniactwo, a także możliwość wystąpienia posocznicy oraz hipoplazji płucnej [5, 6]. Poważne powikłania i śmiertelność noworodków urodzonych wskutek PPRM jest wysoka i odwrotnie proporcjonalna do wieku ciążowego [3].

Zgodnie z ostatnimi wytycznymi *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG) z 2007 roku i *Royal College of Obstetricians and Gynaecologists* (RCOG) z 2006 roku, rozpoznanie PROM stawia się głównie w oparciu o wywiad i badanie fizykalne [1, 7]. Pacjentki często zgłaszają nagły wyciek dużej ilości płynu lub uczucie ciągłego wycieku niewielkich ilości płynu z pochwy. Badanie z użyciem wzierników umożliwia ocenę płynu i stwarza okazję do oceny stanu szyjki macicy, pobrania posiewów oraz potwierdzenia, że nie doszło do niebezpiecznego przemieszczenia pępowiny lub części ciała płodu [3]. Pełne badanie ginekologiczne nie jest wskazane, ponieważ zwiększa ono ryzyko infekcji i zwykle nie wnosi nowych informacji do badania z użyciem wzierników.

W wątpliwych przypadkach klasycznymi od lat czterdziestych ubiegłego stulecia metodami diagnostycznymi pozostaje

test z nitrazyną, określający pH wydzieliny pochwowej (*nitrazine test*) i obserwacja charakterystycznych kryształków w kształcie paproci w rozmazie wydzieliny na szkiełku laboratoryjnym (*ferning*), jednak czułość tych metod nie przekracza 90% i zdarzają się wyniki zarówno fałszywie dodatnie jak i fałszywie ujemne [8]. Interpretacja pierwszego z testów opiera się na założeniu, że pH wydzieliny pochwowej wynosi 4,5-6,0, natomiast płyn owodniowy ma pH w granicach 7,1-7,3. Nitrazyna jest związkiem o barwie żółtej, a zmiana barwy dokonuje się wskutek zmiany pH. Na skutek pęknięcia błon płodowych płyn owodniowy przedostaje się do pochwy, następuje wzrost pH wydzieliny pochwowej i w zależności od stopnia jej alkalizacji, zmiana barwy indykatora z żółtej na niebiesko-zieloną, niebieską lub niebiesko-czarną. Wyniki fałszywie dodatnie mogą wystąpić jako następstwo zanieczyszczenia próbki przez krew, nasienie, alkaliczne antyseptyki lub przy obecności bakteryjnego zapalenia pochwy (*bacterial vaginosis*), natomiast wyniki fałszywie ujemne mogą się zdarzyć, jeżeli wyciek płynu jest niewielki lub występuje zaawansowane małowodzie. W przypadkach, kiedy diagnoza pozostaje niepewna, może pomóc ultrasonografia i ocena wskaźnika płynu owodniowego (*Amniotic Fluid Index – AFI*). Jeżeli i te metody zawiodą, pozostaje wstrzyknięcie specjalnego barwnika (*indigo carmin dye*) do płynu owodniowego i obserwacja czy wstrzyknięty błękitny płyn nie pojawi się w pochwie [1, 3, 7]. W praktyce klinicznej około 10% przypadków PROM wymaga dodatkowego potwierdzenia [9].

Pewna diagnoza PROM ma duże znaczenie, ponieważ niezauważenie problemu podczas wizyty ciężarnej w poradni (gdzie wymienione powyższe testy mogą nie być dostępne) prowadzi do powikłań położniczych w postaci *chorioamnionitis* i do przedwczesnego porodu z wysokim ryzykiem wystąpienia ciężkiej infekcji wewnątrzmacicznej i zgonu noworodka. Z drugiej strony postawienie rozpoznania PROM tam, gdzie nie doszło jeszcze do pęknięcia pęcherza owodniowego, prowadzi do niepotrzebnego przyjęcia do szpitala, a nawet niepotrzebnej indukcji porodu [1].

Analiza wydzieliny szyjkowo-pochwowej w diagnostyce przedwczesnego pęknięcia błon płodowych.

Jest bardzo prawdopodobne, że PROM jest indukowany przez infekcję lub stan zapalny w obrębie łożyska [3, 4], ale jest też możliwe, że istnieje więcej czynników wyzwalających [10]. Rozpoznanie PROM jest bardzo łatwe, jeżeli uszkodzenie pęcherza owodniowego jest duże, ale może być bardzo trudne jeżeli to uszkodzenie jest minimalne. Jest to sytuacja, w której idealna byłaby możliwość zastosowania nieinwazyjnego testu, najlepiej przy użyciu wydzieliny szyjkowo-pochwowej, jednak taki test musi być wiarygodny, prosty i szybki [11]. Analiza wydzieliny szyjkowo-pochwowej wydaje się idealna do tego celu. Nic więc dziwnego, że wielu badaczy zajmowało się już tym zagadnieniem.

W rozpoznawaniu PROM stosowano już wiele różnych markerów, takich jak przede wszystkim gonadotropinę kosmówkową (beta-HCG), alfa-1 mikroglobulinę płodową (PAMG-1), białko łączące typu 1 insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGFBP-1) i alfa-fetoproteinę (AFP). Próbowano również zastosować w tym celu inne markery, takie jak interleukina 6, prolaktyna, kreatynina i mleczany.

Kilka testów jest już dostępnych w komercyjnej sprzedaży. Najszerzej reklamowane obecnie testy to AmniSure® (amerykański test oparty na analizie PAMG-1) oraz Actim Prom® (fiński test oparty na analizie IGFBP-1). Badacze podają sprzeczne dane co do ich użyteczności [8, 12, 13, 14]. W Polsce dostępne są obecnie różne testy oparte na analizie pH (np. BoboSafe®), oraz od niedawna również fiński test Actim Prom®.

Gonadotropina kosmówkowa (beta-HCG)

Markerem, którego użyteczność w diagnozowaniu PROM była prawdopodobnie najczęściej badana, jest gonadotropina kosmówkowa (*beta-human chorionic gonadotropin* – beta-HCG). Beta-HCG to glikoproteina produkowana wyłącznie przez syncytiotrofoblasty w obrębie łożyska. Klinicyści dysponują obszerną wiedzą na temat stężeń beta-HCG we krwi matki, ponieważ jest to marker stosowany w diagnozowaniu zaburzeń w przebiegu wczesnej ciąży [15, 16]. Beta-HCG jest też obecna w moczu ciężarnej (na nim opiera się zasada działania większości testów ciążowych), oraz - w dużych ilościach - w płynie owodniowym. Beta-HCG jest również wydzielana w niewielkich ilościach przez gruczoły szyjki macicy, jednak okazuje się, że w normalnych warunkach (jeżeli nieuszkodzone są błony płodowe) stężenie beta-HCG w wydzielinie szyjkowo-pochwowej jest minimalne. Z tego właśnie względu oznaczanie beta-HCG w płynie szyjkowo-pochwowym może być użyteczne w diagnozowaniu PROM. Jedynym problemem zaburzającym odczyt może być fakt, iż stężenie beta-HCG gwałtownie rośnie, jeżeli w wydzielinie pochwowej obecna jest krew, ponieważ stężenia beta-HCG we krwi matki są bardzo wysokie w ciąży, szczególnie podczas trwania pierwszego trymestru [17].

Zastosowanie beta-HCG w diagnozowaniu PROM zostało po raz pierwszy opisane w Japonii przez Anai i wsp. [9]. Autorzy doszli do wniosku, że skoro wiadomo, że w płynie owodniowym stężenie beta-HCG jest bardzo wysokie, to w przypadku wycieku płynu owodniowego stężenie to powinno raptownie wzrosnąć w wydzielinie szyjkowo-pochwowej. Nie wiedzieli jednak, jakie jest stężenie beta-HCG w pochwie, ponieważ tego nikt wcześniej nie badał. Pobrali więc próbki wydzieliny pochwowo-szyjkowej u 188 ciężarnych w I, II i III trymestrze fizjologicznej ciąży i u 24 ciężarnych z pewnym rozpoznaniem PROM.

Okazało się, że wartości te wyniosły średnio: 37,9mIU/mL w I trymestrze, 9,5mIU/mL w II trymestrze i 6,3 mIU/mL w III trymestrze fizjologicznej ciąży, natomiast u kobiet z PROM były wielokrotnie wyższe i wyniosły średnio aż 420mIU/mL. Okazało się, że badanie przy użyciu betaHCG jest wysoce wiarygodne w wykrywaniu PROM w II i III trymestrze ciąży, przy wyliczonym punkcie odcięcia wynoszącym 50mIU/mL [9].

Wyniki uzyskane przez Anai i wsp. powtórzyli później inni autorzy [8, 13, 17, 18, 19]. Uzyskane wyniki były zasadniczo dość podobne. W pracy Kim i wsp., poziomy beta-HCG u kobiet z potwierdzonym PROM wynosił około 500mIU/mL, zaś dla kobiet z nienaruszonym pęcherzem owodniowym wynosił one około 15mIU/mL. Z krzywej ROC wyliczono, że punkt odcięcia (różnicujący brak PROM lub jego obecność) wyniósł w tym badaniu 39,8mIU/mL, co dało optymalną czułość testu wynoszącą 95,5% oraz specyficzność wynoszącą 94,7% [17]. Grupa badaczy kierowana przez Mangano zaproponowała z kolei punkt odcięcia wynoszący 100 mIU/mL, jednak badana grupa kobiet była niewielka [18]. Jeszcze inni badacze porównali beta-HCG z innymi markerami, uzyskując punkt odcięcia na poziomie 40 mIU/mL [8]. Kolejne informacje dotyczące interpretacji beta-HCG w diagnozowaniu PROM pochodzą z Turcji – punkt odcięcia w tej pracy oceniono na 65mIU/mL [19].

Na podstawie wyników powyższych badań można wysnuć wniosek, iż ocena poziomu beta-HCG w wydzielinie szyjkowo-pochwowej może służyć jako prosty i wiarygodny test w diagnozowaniu PROM, a punkt odcięcia na poziomie 50mIU/mL (wskazany przez badaczy w pierwszej z omawianych prac) jest prawdopodobnie najbardziej wiarygodnym poziomem w diagnozowaniu PROM.

Łożyskowa alfa-mikroglobulina 1 (PAMG-1)

Łożyskowa alfa-mikroglobulina 1 (*placental alpha-microglobulin-1*, czyli PAMG-1) jest proteiną obecną wyłącznie w płynie owodniowym. Wyizolowanie przeciwciał monoklonalnych stworzyło podstawy do zastosowania testu, wykrywającego PAMG-1 w płynie owodniowym w stężeniach zawierających się pomiędzy 2000 a 25000ng/mL. W tej sytuacji jest możliwe wykrycie bardzo małego stężenia płynu owodniowego w wydzielinie pochwowej (rzędu 0,2 do 2,5mcg/L płynu owodniowego w 1ml wydzieliny pochwowej). Tymczasem stężenie PAMG-1 w normalnej wydzielinie pochwowej wynosi od 0,05 do 0,2ng/mL (maksymalnie do 3ng/mL kiedy w wydzielinie obecna jest krew lub w obecności bakteryjnego zapalenia pochwy). Producent proponuje stężenie 5ng/mL jako punkt odcięcia, co wydaje się skutecznie zapobiegać wystąpieniu jakichkolwiek wyników fałszywie ujemnych [14].

Zastosowanie PAMG-1 jako markera opisano po raz pierwszy w 2005 roku w Stanach Zjednoczonych. Do badań włączono 203 ciężarne pomiędzy 15 a 42 tygodniem ciąży, u których PROM potwierdzono za pomocą standardowych metod (w tym z użyciem USG) oraz testu opartego na analizie PAMG-1. U zaledwie 7 pacjentek odnotowano niezgodności pomiędzy wynikiem testu a metodami standardowymi. Czułość testu oceniono na 98,9%, a jego specyficzność na 100% [20].

Kolejna praca została opublikowana przez Lee i wsp. w 2007 roku. Za pomocą PAMG-1 diagnozowano wszystkie kolejne pacjentki z objawami PROM, przyjęte do szpitala w ciągu jednego roku.

Knapik D, Olejek A.

Badaniom poddano 184 ciężarne z podejrzeniem PROM. Podczas pierwszego badania obecność PROM potwierdzono u 76% pacjentek za pomocą standardowych metod (wyciek płynu, test z użyciem pH, oraz badanie mikroskopowe wydzielin pochwowej) i u 88% pacjentek za pomocą testu z użyciem PAMG-1. Dalsza obserwacja potwierdziła obecność PROM u niemal wszystkich badanych, u których tradycyjne testy nie wykryły wycieku wód płodowych. Na podstawie tej pracy autorzy postawili tezę, iż zastosowanie testu z PAMG-1 ma istotną przewagę nad standardowymi testami w diagnostyce PROM.

Test z użyciem PAMG-1 jest obecnie stosowany komercyjnie pod nazwą AmniSure®. Poziom diagnostyczny zastosowany w tym teście wskazuje na dodatni wynik przy poziomie PAMG-1 > 5 ng/mL. Test jest dostępny od 2003 roku. Firma produkująca test (N-Dia, Inc., USA) podkreśla, iż jego zastosowanie nie wymaga użycia wzierników, co różni go od innych testów tego rodzaju. Podkreśla się również, że poziom wykrywalności PAMG-1 został ustanowiony znacznie powyżej „tła”, a więc poziomu występującego fizjologicznie w wydzielinie szyjkowo-pochwowej. Co więcej, producenci zwracają uwagę, że technologia nie jest zaburzana przez obecność krwi i może być zastosowana w każdym wieku ciążowym. Podkreśla się, że test ten może być przechowywany w temperaturze pokojowej. Wszystkie te zalety powodują, iż test ten wydaje się niezwykle obiecujący i być może stanie się w przyszłości standardem w skali globalnej.

Test jest bardzo popularny w Stanach Zjednoczonych, gdzie został dopuszczony do użycia przez FDA (*Food and Drug Administration*), nieco mniejsza natomiast jest jego popularność w Europie. Sytuacja ta może jednak ulec zmianie, ponieważ wyniki ostatnio opublikowanych badań wskazują, że test z użyciem PAMG-1 może być dokładniejszy od stosowanego w wielu krajach europejskich testu z użyciem IGFBP-1 [14].

Białko łączące typu 1 insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGFBP-1)

Białko łączące typu 1 insulinopodobnego czynnika wzrostu (*insulin-like growth factor binding protein-1*, czyli IGFBP-1) jest białkiem produkowaną przez doczesną i przez wątrobę płodu i występuje w bardzo wysokim stężeniu w płynie owodniowym (stężenie to około 100-1000 razy przewyższa stężenie w osoczu krwi). Produkcja tego białka zwiększa się około 4000 do 5000 razy pomiędzy 11 a 16 tygodniem ciąży. Wykrycie IGFBP-1 w wydzielinie z pochwy jednoznacznie wskazuje na sączenie płynu owodniowego. Stężenie tego białka w płynie owodniowym może wynosić 27 ng/mL wkrótce po poczęciu i osiągać poziom ponad 100000 ng/mL w zaawansowanej ciąży, tymczasem stężenia we krwi matki są dość stałe i wynoszą od 58 do 600 ng/mL, tak więc pomiarów nie zaburza szczególnie obecność krwi w wydzielinie pochwowej [14].

Białko IGFBP-1 zostało zastosowane w diagnostyce PROM w postaci komercyjnego testu o nazwie Actim Prom®, produkowanego w Finlandii (Medix Biochemica, Finland). Zgodnie z zaleceniami Niemieckiego Towarzystwa Położnictwa i Ginekologii, test ten jest obecnie stosowany rutynowo w diagnostyce PROM w Niemczech.

Test z użyciem IGFBP-1 nie jest testem nowym. Jego użycie opisano w Stanach Zjednoczonych w 1994 roku, w pracy pochodzącej z nowojorskiej *Mount Sinai School of Medicine* [21]. Autorzy przeprowadzili badania u zdrowych ciężarnych

i u pacjentek z pewnym rozpoznaniem PROM, stwierdzając olbrzymie różnice w stężeniu IGFBP-1 u tych pacjentek (553 vs 3 ng/mL, $p=0,0002$). Kolejne badania przeprowadzono w Szwecji w 1998 roku. W badaniu wieloosrodkowym wzięło udział 6 oddziałów położniczych [22]. Badaniom poddano 174 kobiety, spośród których 46 miało potwierdzony PROM zaś 99 – podejrzenie PROM. W grupie kobiet z pewnym rozpoznaniem PROM, test miał czułość wynoszącą 95,7% a specyficzność wynoszącą 93,1% [22]. W tym samym roku badania oceniające wartość IGFBP-1 przeprowadzili również Kubota i Takeuchi w Japonii, wykazując czułość i specyficzność przekraczające 90% [23]. Okazało się, że wynik testu z IGFBP-1 nie jest zaburzony poprzez rozmaite zanieczyszczenia, rozszerzenie szyjki macicy, a nawet jej skurcze [23]. Autorzy obu tych prac wnioskuje niezależnie od siebie, że test ten jest użytecznym wskaźnikiem w diagnostyce PROM [22, 23].

Użyteczność testu z użyciem IGFBP-1 potwierdzają również późniejsze badania, przeprowadzone w Turcji przez Erdemoglu i wsp. [24] oraz Akercan i wsp. [25]. Pierwsi z cytowanych autorów przeprowadzili badania na dużej grupie 151 ciężarnych, spośród których 36 miało potwierdzony PROM, u 35 PROM był wykluczony, a u kolejnych 80 istniało podejrzenie PROM pomiędzy 20 a 42 tygodniem ciąży. PROM próbowano potwierdzić za pomocą testu z nitrazyną oraz wskaźnika AFI (mierzonego metodą czterokwadrantową, AFI < 80 mm kwalifikowano jako małowodzie). Czułość i specyficzność testu z IGFBP-1 okazała się znacznie wyższa niż testu z nitrazyną i wskaźnika AFI, co więcej – dodatni wynik tego testu wiązał się z 12-krotnie większą szansą na rozwiązanie ciąży w ciągu 7 najbliższych dni [24].

Najciekawsze badania przeprowadzili Akercan i wsp. Przebadali oni 87 ciężarnych pomiędzy 20 a 36 tygodniem ciąży, grupując pacjentki na ciężarne z oczywistym klinicznie PROM (n=25), podejrzanym klinicznie PROM (n=42) i kobiety z nienaruszonymi błonami płodowymi (n=20). Jak można się było tego spodziewać, u kobiet z klinicznie oczywistym PROM, test z IGFBP-1 okazał się dodatni we wszystkich przypadkach (czułość 100%) i ujemny u 19 spośród 20 ciężarnych z nienaruszonymi wodami płodowymi (czułość 95%). Najciekawsze wyniki uzyskano jednak w trzeciej grupie – u 36 kobiet z klinicznym podejrzeniem PROM. W tej grupie 13 kobiet (36%) miało dodatni wynik testu, zaś u 23 ciężarnych (63%) wynik testu był ujemny. U ciężarnych z dodatnim wynikiem testu, ciąża zakończyła się średnio w 31 tygodniu, zaś u ciężarnych z wynikiem ujemnym – w 39 tygodniu, co spowodowało oczywiste, wysoce istotne różnice w wadze i stanie noworodka przy urodzeniu. Co jednak szczególnie ciekawe, 11 spośród 13 (85%) kobiet z dodatnim testem urodziło do 2 tygodni po wykonaniu testu, podczas gdy u kobiet z ujemnym wynikiem testu ciąża trwała ponad 2 tygodnie we wszystkich przypadkach ($p=0,001$). Test wykazał więc 100% czułość i 92% specyficzność dla czasu trwania okresu latentcji wynoszącego mniej niż 2 tygodnie [25].

Poziom diagnostyczny zastosowany w teście z IGFBP-1 wskazuje dodatni wynik przy poziomie IGFBP-1 > 25 ng/mL. Test jest znany i dostępny od wczesnych lat dziewięćdziesiątych ubiegłego stulecia. W chwili obecnej jest on sprzedawany w około 40 krajach, szczególnie w Europie. Nie podlega on dystrybucji w Stanach Zjednoczonych.

W chwili obecnej szeroko reklamowane, komercyjnie produkowane testy to AmniSure® (amerykański test oparty na

Analiza wydzieliny szyjkowo-pochwowej w diagnostyce przedwczesnego pęknięcia błon płodowych.

analizie PAMG-1) oraz Actim Prom[®] (fiński test oparty na analizie IGFBP-1). Pierwszy z nich jest szczególnie popularny w Stanach Zjednoczonych, natomiast drugi – w Europie (szczególnie w Niemczech i w Skandynawii). Nie ulega wątpliwości, że test oparty na analizie IGFBP-1 jest testem starszym i przez to znacznie lepiej poznanym. Który z nich ma jednak wyższą wartość predykcyjną? Trudno to określić, ponieważ firmy produkujące oba wspomniane dwa testy podają sprzeczne dane co do ich użyteczności.

Jedyna dostępna praca na ten temat została opublikowana w 2008 roku w *American Journal of Perinatology* i wskazuje na nieznaczną przewagę testu z zastosowaniem PAMG-1. Warto jednak podkreślić, jaka była metodologia tego badania, które przeprowadzono zaledwie na 20 pacjentkach i to nie w warunkach rzeczywistego scenariusza typowego dla PROM [14]. Pacjentkom pobierano bowiem płyn owodniowy podczas planowego cięcia cesarskiego, a następnie rozcieńczono te próbki 320-krotnie. Dopiero w tych warunkach test z PAMG-1 wykazał się istotnie wyższą dokładnością [14].

Alfa-fetoproteina (AFP)

Oznaczanie poziomu alfa-fetoproteiny (AFP) jest dziś rutynowym testem przeprowadzonym dla potwierdzenia obecności wielu schorzeń. AFP jest białkiem płodowym, które w warunkach fizjologicznych jest produkowane jedynie przez komórki płodowej wątroby oraz zarodkowego pęcherzyka żółtkowego. W stanach fizjologii, w życiu pozapłodowym alfa-fetoproteina pojawia się w osoczu krwi wyłącznie w przebiegu ciąży, i to w ściśle określonych wartościach, których przekroczenie może świadczyć o ciąży bliźniaczej, obumarciu ciąży, lub wadach cewy nerwowej płodu, a także obecności zespołu Downa. W związku z tym AFP może służyć do diagnostyki prenatalnej. AFP jako marker można również wykorzystywać w onkologii, ponieważ jego poziom wzrasta gwałtownie w przebiegu niektórych nowotworów, takich jak np. pierwotny rak wątroby, czy nowotwory jąder [26].

Alfa-fetoproteinę próbowano również wykorzystywać w diagnostyce PROM. Najwcześniejsza z dostępnych prac pochodzi z 1994 roku i została opublikowana we Francji przez Gaucherand i wsp. [27]. Badaniom poddano 133 kobiety z niepowikłaną ciążą oraz 54 kobiety z potwierdzonym PROM, uzyskując dane co do optymalnego punktu odcięcia, wynoszącego 30ng/mL. Następnie badaniom poddano 145 kobiet, u których rozpoznanie PROM na podstawie badania klinicznego i ultrasonograficznego było niepewne. Uzyskano zarówno czułość jak i specyficzność testu na poziomie około 95% [27]. Zbliżone wyniki uzyskała również w dwa lata później Kishida i wsp. [26], korzystając z ulepszanego testu typu przyłóżkowego (*point-of-care*), którego czas odczytu został zredukowany do 90 sekund.

Test z użyciem AFP był porównywany z innymi markerami w diagnostyce PROM. W pierwszej z nich, autorstwa Li i wsp., poziomy AFP, beta-HCG i kreatyniny w wydzielinie szyjkowo-pochwowej porównano u 10 kobiet z fizjologiczną ciążą i z potwierdzonym PROM [12]. Czułość i specyficzność testu z użyciem AFP wyniosła odpowiednio 90% i 100% i była nieco wyższa niż betaHCG, ale bardzo zbliżona do wartości oznaczenia kreatyniny. W grupie kobiet z fizjologiczną ciążą uzyskano średnią wartość AFP na poziomie 0,8ng/ml a u ciężarnych z potwierdzonym PROM – 54ng/ml ($p < 0,0001$) [12]. Kolejna z prac, opublikowana przez Shanin i wsp. [13], porównuje zastosowanie

AFP z beta-HCG oraz rzadziej testowanym markerem, którym jest prolaktyna. Badania te przeprowadzono na dziesięciokrotnie większej populacji, porównując ze sobą 50 kobiet w fizjologicznej ciąży i 50 ciężarnych z potwierdzonym PROM, stwierdzając że AFP jako marker wykazał się najwyższą, wynoszącą 94% czułością i specyficznością [13].

Jeszcze inne porównanie przedstawiono w pracy pochodzącej z Chin w 2003 roku. Autorzy porównali zastosowanie AFP, betaHCG oraz interleukiny 6. Porównanie kilkudziesięciu próbek pobranych u kobiet w trzecim trymestrze fizjologicznej ciąży i u kobiet z identycznym wiekiem ciążowym ale z potwierdzonym PROM wykazało, iż czułość AFP na poziomie 97,7%, oraz specyficzność wynosząca 100%, była najwyższa spośród wymienionych testów [8].

Wykorzystanie AFP jako markera wydaje się atrakcyjne, ponieważ jest on już znany z innych zastosowań (przede wszystkim w onkologii i w diagnostyce prenatalnej), a metodyka oznaczania przy pomocy prostych, przyłóżkowych testów jest dość dobrze opracowana.

Inne markery

W diagnostyce PROM próbowano stosować również inne markery. Część z nich jest powszechnie stosowana w innych celach, a w niektórych przypadkach zainteresowanie wynikało po prostu z łatwości wykonania oznaczenia.

W diagnozowaniu PROM w wydzielinie szyjkowo-pochwowej próbowano oznaczać poziomy interleukiny 6 (IL-6), co jednak okazało się mało przydatne w praktyce. W cytowanym już badaniu Ni i wsp. czułość i specyficzność IL-6 w diagnozowaniu PROM wyniosła odpowiednio 83,7% i 78,9%, a więc była dużo niższa niż akceptowalna. Jest to zrozumiałe, ponieważ poziomy IL-6 jako cytokiny prozapalnej są raczej wykorzystywane do nieco innych celów – oznaczając ich poziom w wydzielinie szyjkowo-pochwowej można przykładowo próbować określić, kiedy nastąpi przedwczesny poród [28]. Obranie tego kierunku poszukiwań było jednak zrozumiałe, ponieważ oznaczanie cytokin prozapalnych jest dość dobrze rozwinięte w technologii prostych testów, które można zastosować przy łóżku chorego.

W diagnostyce PROM próbowano również oznaczać prolaktynę, czego dowodem jest cytowane już badanie Shanin i wsp. [13]. Wiadomo, że płyn owodniowy zawiera wysokie stężenie prolaktyny, która jest produkowana i wydzielana przez doczesną, tak więc można było założyć, że stężenie to będzie o wiele wyższe w wydzielinie szyjkowo-pochwowej u ciężarnych z PROM. Niestety okazało się, że w tym przypadku czułość i specyficzność testów była jeszcze niższa i wyniosła odpowiednio 70% i 76% [13].

Kolejnym markerem, który próbowano oznaczać w wydzielinie szyjkowo-pochwowej dla zdiagnozowania PROM, była kreatynina. Wiadomo, że mocz płodowy jest najistotniejszym źródłem płynu owodniowego w drugiej połowie ciąży. Poziom kreatyniny w płynie owodniowym zwiększa się stopniowo pomiędzy 20 a 32 tygodniem ciąży, a następnie proces ten ulega dalszemu przyspieszeniu i pod koniec ciąży jest on kilkakrotnie wyższy niż w surowicy matki [29]. W badaniu przeprowadzonym przez Li i wsp. [12] potwierdzono, że marker ten jest znacznie łatwiejszy do oznaczenia (a poza tym tańszy) niż np. beta-HCG. W 2004 roku Gurbuz i wsp. [29] potwierdzili stuprocentową czułość i specyficzność tego testu w praktyce klinicznej, jednak

Knapik D, Olejek A.

na stosunkowo niewielkiej populacji. Wydaje się, że określenie użyteczności tego markera jest warte przeprowadzenia dalszych badań.

Ostatnim i zarazem najciekawszym z markerów, który – jak się okazuje – można bardzo łatwo oznaczyć w wydzielinie szyjkowo-pochwowej za pomocą już istniejących prostych metod, jest poziom mleczanów. Od dawna wiadomo, że poziom mleczanów w płynie owodniowym jest o wiele wyższy niż we krwi matki lub płodu i wynosi około 7-9mmol/L [30]. Fakt ten wykorzystano w badaniach przeprowadzonych przez naukowców z *Karolinska Institute* w Szwecji. Badaniom poddano 200 kobiet z podejrzeniem PROM, określając poziom odcięcia wynoszący 4,5mmol/L z krzywej ROC. Dodatkowo, u połowy z nich wykonano równocześnie test z zastosowaniem IGFBP-1 (test Actim Prom®). Okazało się, że test z użyciem mleczanów charakteryzował się czułością wynoszącą 86% i specyficznością wynoszącą 92% w diagnozowaniu PROM. Co ciekawe, stosunkowo niska okazała się użyteczność testu z zastosowaniem IGFBP-1 (który potraktowano w tym badaniu jak test standardowy) – jego czułość wyniosła zaledwie 60%, a specyficzność – 98%, a są to wartości znacznie niższe niż opisywane w literaturze.

Warto zauważyć, że w analizie poziomu mleczanów autorzy zastosowali niezwykle prostą technologię – skorzystali z dostępnego komercyjnie testu Lactate Pro® (Arkray Factory Inc., Japonia), który na co dzień służy do oznaczania stężenia mleczanów w medycynie sportowej i jest powszechnie dostępny. Urządzenie to służy do oceny poziomu mleczanów we krwi pełnej pobranej z opuszki palca lub płątka ucha u sportowców wyczynowych – badania takie przeprowadza się podczas treningów w celu regulacji intensywności wysiłku na poziomie progu beztlenowego [11].

Podsumowanie

W praktyce klinicznej około 10% przypadków PROM wymaga dodatkowego potwierdzenia, co może być trudne szczególnie w leczeniu otwartym. W medycynie coraz częściej stosowane są obecnie różnego rodzaju testy przyłóżkowe (tzw. *point-of-care testing* – POCT). Ich wykonanie nie wymaga laboratorium, specjalistycznego sprzętu ani przeszkolonego personelu. POCT odgrywa już dużą rolę w diagnozowaniu i leczeniu wielu chorób, np. cukrzycy, niewydolności krążenia, zawału serca, czy niektórych nowotworów. Wiele systemów do POCT jest produkowanych fabrycznie jako łatwe do użycia testy paskowe, zatopione w niewielkiej plastikowej kasetce (tak jak np. test ciążowy).

Analiza płynu szyjkowo-pochwowej za pomocą testów POCT dla potwierdzenia rozpoznania PROM w wątpliwych przypadkach może okazać się wkrótce metodą bardzo przydatną, ponieważ testy tego rodzaju są całkowicie nieinwazyjne i mogą być zastosowane w poradni, przez lekarza pierwszego kontaktu.

W niniejszej pracy przedstawiono tylko te markery, które albo już są stosowane w diagnostyce PROM w formie testów POCT, lub też mogłyby być stosunkowo łatwo zaadoptowane do tego celu.

Piśmiennictwo

- Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG) *Guideline Preterm Prelabour Rupture of Membranes*. 2006.
- Olejek A, Binkiewicz P, Nowak L, [i wsp.]. Analiza przebiegu ciąży i porόδów u pacjentek w wieku 14-18 lat rodzących w Katedrze i Oddziale Klinicznym Położnictwa i Ginekologii w Bytomiu w latach 1997-2001. *Ginekol Pol.* 2003, 74, 603-606.
- Simhan H, Canavan T. Preterm premature rupture of membranes: diagnosis, evaluation and management strategies. *BJOG*. 2005, 112, Suppl 1, 32-37.
- Menon R, Fortunato S. Infection and the role of inflammation in preterm premature rupture of the membranes. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2007, 21, 467-478.
- Chaleur C, Rochigneux S, Seffert P, [et al.]. Neonatal outcomes and four-year follow-up after spontaneous or iatrogenic preterm prelabor rupture of membranes before 24 weeks. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2009, 88, 801-806.
- Plucińska A, Hajdúczenia M, Pastusiak M, [et al.]. The impact of premature rupture of membranes (PROM) on neonatal outcome. *Ginekol Pol.* 2010, 81, 277-282.
- American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) Practice Bulletin No 80: Clinical management guidelines for obstetricians – gynaecologists. Premature Rupture of Membranes. 2007.
- Ni C, Jia W, Yi W, [et al.]. Practicability of using vaginal fluid markers in detecting premature rupture of membranes. *Ann Clin Biochem*. 2003, 40, 542-545.
- Anai T, Tanaka Y, Hirota Y, [et al.]. Vaginal fluid hCG levels for detecting premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol*. 1997, 89, 261-264.
- Rudra C, Frederick I, Williams M. Pre-pregnancy body mass index and weight gain during pregnancy in relation to preterm delivery subtypes. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2008, 87, 510-517.
- Wiberg-Itzel E, Chnattingius S, Nordström L. Lactate determination in vaginal fluids: a new method in the diagnosis of prelabour rupture of membranes. *BJOG*. 2005, 112, 754-758.
- Li H, Chang T. Vaginal fluid creatinine, human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein levels for detecting premature rupture of membranes. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2000, 63, 686-690.
- Shahin M, Raslan H. Comparative study of three amniotic fluid markers in premature rupture of membranes: prolactin, beta subunit of human chorionic gonadotropin, and alpha-fetoprotein. *Gynecol Obstet Invest*. 2007, 63, 195-199.
- Chen F, Dudenhausen J. Comparison of two rapid strip tests based on IGFBP-1 and PAMG-1 for the detection of amniotic fluid. *Am J Perinatol*. 2008, 25, 243-246.
- Skalba P, Gajewska K, Bednarska-Czerwińska A. Choriogonadotropina - krytyczna ocena nowych możliwości wykonywania oznaczeń hormonu w diagnostyce medycznej. *Ginekol Pol.* 2004, 75, 221-227.
- Olszewski A, Leibschang J, Przybyłkowska M, [i wsp.]. Ciąża szyjkowa. *Ginekol Pol.* 2004, 75, 869-873.
- Kim Y, Park Y, Kwon H, [et al.]. Vaginal fluid beta-human chorionic gonadotropin level in the diagnosis of premature rupture of membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2005, 84, 802-805.
- Mangano B, Diani F, Faccini G, [et al.]. Proposal of a new test for the diagnosis of PROM based on the determination of hCG in the washing fluid of the posterior vaginal fornix. *Minerva Ginecol*. 2000, 52, 185-188. Italian.
- Esim E, Turan C, Unal O, [et al.]. Diagnosis of premature rupture of membranes by identification of beta-HCG in vaginal washing fluid. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003, 107, 37-40.
- Cousins L, Smok D, Lovett S, [et al.]. AmniSure placental alpha microglobulin-1 rapid immunoassay versus standard diagnostic methods for detection of rupture of membranes. *Am J Perinatol*. 2005, 22, 317-320.
- Lockwood C, Wein R, Chien D, [et al.]. Fetal membrane rupture is associated with the presence of insulin-like growth factor-binding protein-1 in vaginal secretions. *Am J Obstet Gynecol*. 1994, 171, 146-150.
- Darj E, Lyrenäs S. Insulin-like growth factor binding protein-1, a quick way to detect amniotic fluid. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1998, 77, 295-297.
- Kubota T, Takeuchi H. Evaluation of Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-1 as a diagnostic Tool for Rupture of the Membranes. *J Obstet Gynaecol Res*. 1998, 24, 411-417.
- Erdemoglu E, Mungan T. Significance of detecting insulin-like growth factor binding protein-1 in cervicovaginal secretions: Comparison with nitrazine test and amniotic fluid volume assessment. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2004, 83, 622-626.
- Akeran F, Cirpan T, Kazandi M, [et al.]. The value of the insulin-like growth factor binding protein-1 in the cervical-vaginal secretion detected by immunochromatographic dipstick test in the prediction of delivery in women with clinically unconfirmed preterm premature rupture of membranes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005, 121, 159-163.
- Kishida T, Yamada H, Negishi H, [et al.]. Diagnosis of premature rupture of the membranes in preterm patients, using an improved AFP kit: comparison with ROM-check and/or nitrazine test. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1996, 69, 77-82.
- Gaucherand P, Guibaud S, Rudigoz RC, [et al.]. Diagnosis of premature rupture of the membranes by the identification of alpha-feto-protein in vaginal secretions. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1994, 73, 456-459.
- Kalinka J, Wasieła M, Sobala W, [i wsp.]. Ocena przydatności pomiaru stężenia wybranych cytokin prozapalnych w wydzielinie szyjkowo-pochwowej kobiet ciężarnych jako wczesnego markera wystąpienia porodu przedwczesnego. *Ginekol P*. 2005, 76, 704-712.
- Gurbuz A, Karateke A, Kabaca C. Vaginal fluid creatinine in premature rupture of membranes. *Int J Gynaecol Obstet*. 2004, 85, 270-271.
- Fadel H, Northrop G, Misenhimer H, [et al.]. Acid-base determinations in amniotic fluid and blood of normal late pregnancy. *Obstet Gynecol*. 1979, 53, 99-104.