

# Značenje patoloških cervikalnih bioloških agenasa na perinatalni ishod

---

**Bokor, Ana**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:018638>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-28**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Ana Bokor**

**Značenje patoloških cervikalnih bioloških  
agenasa na perinatalni ishod**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2022.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb pod vodstvom doc. dr. sc. Josipa Juras, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2021./2022.

## **Abecedni popis korištenih kratica:**

AAP – American Academy of Pediatrics, eng. (Američka pedijatrijska akademija)

BHSB – Beta-hemolitički streptokok skupine B

CMV – citomegalovirus

CPS – capsular polysaccharide, eng. (kapsularni polisaharid)

DAMP – Damage-associated molecular pattern, eng.

EBV – Epstein-Barr virus

EMB agar – eosyn-methylene blue agar, eng.

EMT – epitelno-mezenhimana tranzicija

EOS – early-onset sepsis, eng. (rana novorođenačka sepsa)

FIRS – fetal inflammatory response syndrom, eng. (sindrom fetalnog upalnog odgovora)

GBS – group B streptococcus, eng. (beta-hemolitički streptokok skupine B, u hrvatskom jeziku označen kao BHSB)

HHV6 – Humani herpes virus 6

HHV7 – Humani herpes virus 7

HIE – hipoksično-ishemična encefalopatija

HMGB1 – High mobility group box1

HPV – Humani papiloma virus

HSV – Herpes simpleks virus

IAP – intrapartalna antibiotska profilaksa

IL-1 $\beta$  – interleukin 1 $\beta$

IVH – intraventricular hemorrhage, eng. (interventrikularno krvarenje)

LOS – late-onset sepsis, eng. (kasna novorođenačka sepsa)

MBA – multiple banded antigen, eng.

MHV68 – murine gammaherpes virus 68

MMP – matriks-metaloproteinaze

NEC – nekrotizirajući enterokolitis

NICHD – National Institute of Child Health and Human Development

PCR – Polymerase chain reaction, eng. (polimerazna lančana reakcija)

PPROM – preterm premature rupture of membrane, eng. (u hrvatskom jeziku PRPV- prerano prijevremeno prsnuće vodenjaka)

PROM – premature rupture of membrane, eng. (preuranjena ruptura plodovih ovoja)

PRPV – prerano prijevremeno prsnuće vodenjaka (prije termina)

RDS – Respiratory Distress Syndrome, eng. (sindrom respiratornog distresa)

SAD – Sjedinjene Američke Države

SIRS – Systemic Inflammatory Response Syndrome, eng. (sindrom sistemskog upalnog odgovora)

TNF- $\alpha$  – tumor necrosis factor- $\alpha$

TSB – Trypticase soy broth, eng. (triptikaza soja bujon)

# SADRŽAJ

## SAŽETAK

## SUMMARY

1. UVOD.....	1
2. FIZIOLOŠKA MIKROBIOTA RODNICE.....	2
3. PATOLOŠKA MIKROBIOTA RODNICE U TRUDNOĆI.....	3
3.1 Beta-hemolitički streptokok skupine B.....	3
3.2 Bakterijska vaginoza.....	5
3.3 <i>Ureaplasma</i> spp.....	6
3.4 <i>Escherichia coli</i> .....	7
3.5 <i>Candida albicans</i> .....	9
3.6 Virusi.....	10
4. MEHANIZAM ASCENDENTNE BHSB INFEKCIJE.....	11
5. NEPOVOLJNI PERINATALNI ISHODI.....	12
5.1 PRIJEVREMENI POROĐAJ.....	13
5.2 PPRM.....	16
5.3 KORIOAMNIONITIS.....	21
5.4 FIRS.....	25
5.5 NOVOROĐENAČKA SEPSA.....	27
5.6 NOVOROĐENAČKA PNEUMONIJA.....	31
5.7 NOVOROĐENAČKI MENINGITIS.....	34
6. PROVOĐENJE CERVIKALNIH BRISEVA.....	37

7.	BHSB CJEPIVO.....	38
8.	ZAKLJUČAK.....	40
9.	ZAHVALE.....	42
10.	LITERATURA.....	43
11.	ŽIVOTOPIS.....	55

## SAŽETAK

Brojni mikrobiološki agensi koloniziraju donje dijelove genitalnog sustava žena, kako tijekom cijelog života, tako i u trudnoći. Iako mnoge vaginalne infekcije u žena prolaze asimptomatski i bez ozbiljnijih posljedica, u trudnoći ti patogeni posebno dobivaju na značaju, s obzirom na to da predstavljaju potencijalnu ugrozu trudnice i ploda. Od značajnih patogena potrebno je izdvojiti beta-hemolitički streptokok skupine B (BHSB) koji ima velik doprinos u morbiditetu i mortalitetu novorođenčadi, ali za koji također postoji vrlo efikasna profilaksa intrapartalnom primjenom antibiotika. Mehanizmima ascendentnog širenja infekcije dolazi do komplikacija poput korioamnionitisa, prijevremene rupture plodovih ovoja i intrauterine infekcije ploda koja može dovesti do sindroma fetalnog upalnog odgovora, a cjelokupna kaskada koju pokreće širenje infekcije nerijetko dovodi do prijevremenog porođaja te posljedično do komplikacija prematuriteta. Osim navedenog, ascendentne infekcije tijekom trudnoće mogu dovesti i do neželjnih perinatalnih ishoda u vidu rane novorođenačke sepse, pneumonije i meningitisa koji predstavljaju značajan rizik za nastanak trajnih ireverzibilnih posljedica na zdravlje djeteta. Ne treba zanemariti ni ostale česte uzročnike poput *Ureaplasma* spp. koji katkada, zbog dijagnostičkog pristupa i metode kultivacije uzorka brisa cerviksa koja je različita nego u slučaju BHSB-a, ostaje neporepoznat. Cilj ovog rada je predstaviti potencijalno štetne biološke agense koji koloniziraju rođnicu, navesti loše perinatalne ishode do kojih isti dovode te na taj način naglasiti važnost preventivnih metoda poput rutinskog provođenja cervikalnih briseva u trudnoći („screening“, eng.) te primjene intraportalne antibiotske profilakse.

Ključne riječi: infekcije u trudnoći, perinatalni ishod, beta-hemolitički streptokok skupine B, probir, prijevremeni porođaj



## **SUMMARY**

### **The significance of pathological cervical biological agents on perinatal outcome**

A number of microbial agents colonize the female lower genital tract throughout the whole life as well as in pregnancy. Even though many vaginal infections in women are asymptomatic and don't leave any serious consequences, in pregnancy, those pathogens are considered especially harmful, because they represent a potential threat for the fetus and the mother. One of the more notable pathogens is group B Streptococcus (GBS), which plays a big role in neonatal morbidity and mortality, but has a very efficient prophylaxis method using intrapartum antibiotics. The ascension of the infection may lead to complications like chorioamnionitis, premature rupture of membranes and intrauterine fetal infection leading to fetal inflammatory response syndrome. This whole cascade can often end with premature birth and thus, prematurity. Apart from this, the ascension of infections may also result in unwanted perinatal outcomes such as early onset neonatal sepsis, pneumonia and meningitis, which carry the risk of irreversible consequences. Other pathogens should not be disregarded, particularly *Ureaplasma* spp., as the diagnostic approach and the method of cultivation of the cervical swab is different than the one for group B Streptococcus and can sometimes remain undiagnosed. The objective of this paper is to present the potentially harmful biological agents, determine unwanted perinatal outcomes which they may lead to and to emphasize the importance of preventive measures, namely routine cervical screening as well as the use of intrapartum antibiotic prophylaxis.

Key words: infections in pregnancy, perinatal outcome, group B Streptococcus, screening, preterm delivery

## 1. UVOD

Patološka kolonizacija rodnice tijekom trudnoće predstavlja najčešći preventabilni rizični čimbenik za razvoj infekcije i posljedično tome neželjenih perinatalnih ishoda. Važno je, prije svega, poznavati fiziološku mikrobiotu rodnice i njene promjene u trudnoći da bismo shvatili kako te varijacije dovode do kolonizacije potencijalno štetnim mikrobiološkim agensima. Beta hemolitički streptokok grupe B (BHSB) kolonizira rektovaginalnu regiju žena u oko 20-25 % žena diljem svijeta, ali njegova prisutnost često ostaje asimptomatska ili neprepoznata. (1) Iako je BHSB najistraženiji mikrobiološki patogen koji uzrokuje komplikacije u trudnoći, ne treba zanemariti i ostale česte uzročnike poput *Ureaplasma* spp., *E. coli*, *C. albicans* te stanja poput bakterijske vaginoze. Problem nastaje kada patogen različitim mehanizmima ascendira iz vagine, preko cerviksa do uterusa te izazove komplikacije poput korioamnionitisa, intrauterinu infekciju ploda ili prijevremeni porođaj. Poznavanje najčešćih patogena, metoda njihove dijagnostike i liječenja ključno je za sprječavanje loših perinatalnih ishoda poput novorođenačke sepse, meningitisa, pneumonije i smrti. U ovom radu cilj je pobliže prikazati cervikalne mikrobiološke agense, mehanizme njihova utjecaja na plod te dijagnostiku i liječenje same infekcije. Osim toga, prikazani su najčešći neželjeni perinatalni ishodi, njihova dijagnostika i procjena težine kroničnih posljedica za djetetovo zdravlje. Sve navedeno govori u prilog provođenja preventivnih mjera poput rutinskih cervikalnih briseva u trudnoći te daje širu sliku o činjenici kako te iste mjere mogu imati veliki značaj za život majke i djeteta, ali i smanjiti teret koji za zdravstveni sustav predstavljaju dugoročne posljedice infekcija u trudnoći.

## 2. FIZIOLOŠKA MIKROBIOTA RODNICE

Fiziološka mikrobiota u rodnici, kao i u ostatku organizma, predstavlja prvu liniju obrane od invazivnih mikroorganizama i svih posljedica infekcije koju oni uzrokuju. Djelotvornost ovog obrambenog mehanizma ovisi o mikrobiološkom sastavu mikrobiote, međusobnoj interakciji mikroorganizama te o njihovoj interakciji s domaćinom, ali i domaćinovim imunskim sustavom. Dominantni mikroorganizam u ovom sustavu je *Lactobacillus* spp. koji je dobro prilagođen na mikrookoliš vagine, a produkcijom mliječne kiseline održava pH optimalnim u vrijednosti oko 3,5. Takav kiseli okoliš djeluje inhibitorno na invazivne mikroorganizme, a osim toga, *Lactobacillus* proizvodi baktericidne spojeve poput bakteriocina i vodikova peroksida. Iz *Lactobacillus* spp. najzastupljeniji su *L. crispatus*, *L. iners*, *L. gasseri* i *L. jensenii*, pri čemu se smatra da je *L. iners* prisutan u vaginalnoj flori u oko 83,5 % žena. (2) Svaki od navedenih sojeva ima različitu otpornost na specifične patogene, pa je tako primjećeno kako žene u kojih je dominantan *L. iners* imaju češće infekcije *Gardnerellom*. (3) U žena reproduktivne dobi, mikrobiota se prema dominantnom mikroorganizmu može podijeliti u 5 CST skupina („community state type“, eng.), od čega u skupinama označenim I, II, III i V prevladava jedan od sojeva iz *Lactobacillus* spp., a u skupini IV neki od fakultativnih ili striktnih anaeroba, primjerice *Prevotella*, *Megasphaera*, *Gardnerella vaginalis*, *Sneathia* i *Atopobium vaginae*, *Dialister*, *Peptoniphilus*, *Eggerthella*, *Aerococcus*, *Finegoldia* ili *Mobiluncus*. (4) Od ostalih komenzala česti su *Corynebacterium*, *Anaerococcus*, *Streptococcus* i *Straphylococcus*, a svim tim organizmima zajedničko je to što su otporni na nizak pH. Neki od navedenih ujedno mogu uzrokovati oportunističke infekcije. Osim pH, na sastav mikrobiote utječu razni čimbenici poput trudnoće, menstruacije, oralnih kontraceptiva, antibiotika, rase, dobi i geografskog smještaja. U trudnoći se događaju brojne fiziološke promjene uključujući hormonske promjene, modulaciju imunskog sustava, prilagodbu mukoze genitalnog sustava te bihevioralne promjene, primjerice u učestalosti seksualne aktivnosti. Sve navedeno dovodi do neizbježne promjene sastava vaginalne mikrobiote u trudnoći. Iako je sastav trudničke mikrobiote značajno manje istražen nego u netrudničke populacije, iz postojećih istraživanja evidentno je da je mikrobiota rodnice u trudnoći manje raznolika s izraženijom predominacijom *Lactobacillus* spp. (5) U nekomplikiranoj trudnoći očekuje se smanjena kolonizacija bakterijama poput *Mollicutes* i *Ureaplasma* spp. (6) Također, sastav se mijenja i tijekom trajanja same trudnoće, što je povezano s varijacijama razine

hormona. Estrogen potiče zadebljanje mukoze, što rezultira i pojačanim odlaganjem glikogena koji služi kao kemotaktički agens za laktobacile koji ga metaboliziraju u mliječnu kiselinu. Taj proces rezultira predominacijom laktobacila i snižavanjem pH, što objašnjava smanjenu raznolikost mikrobiote u trudnoći. (7) Mijenja se i zastupljenost samih laktobacila, s redukcijom *L. crispatus*, a povećanjem broja ostalih predstavnika *Lactobacillus* spp. (6) Sve navedene promjene mikrobiote u trudnoći ključne su u sprječavanju oportunističkih infekcija, a samim time i loših perinatalnih ishoda. Promjene u postpartalnom periodu obilježene su padom broja laktobacila i povećanom zastupljenosti anaeroba, primjerice *Peptoniphilus*, *Prevotella* i *Anaerococcus*. (6)

### 3. PATOLOŠKA MIKROBIOTA RODNICE U TRUDNOĆI

Ascendentna infekcija mikroorganizmima iz rodnice najčešći je preventabilni uzrok neželjenih ishoda trudnoće. Ti invazivni mikroorganizmi mogu biti endogeni oportunisti ili stečeni tijekom trudnoće. S lošijim perinatalnim ishodom povezuje se i smanjena stabilnost, odnosno povećana raznolikost vaginalnog mikrobioma u ranom gestacijskom periodu između prvog i drugog trimestra. (2) Određena odstupanja sastava mikrobiote od onog očekivanog u trudnoći sa sobom nose povećani rizik za komplikacije. Tako je, primjerice, u istraživanju koje su proveli DiGiulio i suradnici (8) utvrđeno je kako se tip mikrobiote CST IV (jedini od pet tipova koji umjesto Laktobacila kao dominantni mikroorganizam ima fakultativnog ili obligatnog anaeroba), dovodi u vezu s prijevremenim porođajem, neovisno o ostalim čimbenicima. Također, *Gardnerella* i *Ureaplasma* istaknute su kao često prisutne u flori trudnica čija trudnoća završi prijevremenim porođajem. (2) Ipak, daleko najistraženiji uročnik ascendentne infekcije u trudnoći je beta-hemolitički streptokok skupine B.

#### 3.1 Beta-hemolitički streptokok skupine B

Beta-hemolitički streptokok skupine B (BHSB), također nazvan *Streptococcus agalactiae*, je gram pozitivna,  $\beta$ -hemolitička bakterija koja asimptomatski kolonizira urogenitalni i

gastrointestinalni trakt. Ipak, kolonizacija rodnice BHSB-om u tijeku trudnoće predstavlja povećani rizik za niz komplikacija i neželjen perinatalni ishod. Fetus je visokoosjetljiv na BHSB te mu tijekom invazivne infekcije prijete akutni morbiditeti poput sepse, pneumonije i meningitisa što posljedično može dovesti do razvoja trajnih negativnih učinaka na zdravlje, posebice razvoj živčanog i respiratornog sustava. U trudnice, BHSB infekcija može dovesti do sepse i postpartalne endometrioze. Patogeneza infekcije je kompleksna i razlikuje se među sojevima. Neki čimbenici virulencije uzrokuju specifičnu patologiju pa se tako primjerice HvgA faktor povezuje s neonatalnim meningitisom, dok drugi čimbenici poput hemolizina sudjeluju u širokom spektru loših perinatalnih ishoda. (4)

BHSB kolonizira rektovaginalnu regiju u oko 20-25 % žena diljem svijeta, sa značajnim varijacijama ovisno o geografskom položaju. Seale i suradnici (1) u svom su radu obradili podatke iz ukupno 85 zemalja i procijenili kako prevalencija kolonizacije BHSB-om varira između minimalno 7 do 14 % na području centralne Amerike i Azije pa sve do 35 % na Karipskom otočju. Europa, Sjeverna Amerika i Australija bilježe sličnu prevalenciju od oko 15-20%. U Africi su zabilježene velike varijacije rezultata, od 14% na zapadu do 25 % na jugu kontinenta. Zbog asimptomatske prirode BHSB kolonizacije u netrudničkoj populaciji teško je pratiti kako se incidencija mijenja tijekom vremena, no evidentno je da broj invazivnih infekcija raste. (4)

Vaginalna mikrobiota sastoji se od širokog spektra noksi i njegov sastav varira s obzirom na rasu, etničku grupu, geografski položaj, ali i tijekom menstrualnog ciklusa i same trudnoće. Odnos između BHSB i ostalih patogena nije u potpunosti istražen, ali smatra se kako neki od njih, primjerice *Prevotella bivia*, *Veillonella* spp., *Eubacterium siraeum* te *Staphylococcus* spp., pogoduju BHSB kolonizaciji. Također, bilježi se učestala ko-kolonizacija s *Candidom albicans*, za što se odgovornim smatra interakcija između BHSB adhezina i površinskog proteina *C. albicans*. (9) S druge strane, prisutnost mikroorganizama koji se dovode u vezu s bakterijskom vaginozom, poput *Prevotella* i *Dialister* spp., potencijalno smanjuje kolonizaciju beta-hemolitičkim streptokokom. (10) Ključnu liniju obrane od kolonizacije patološkim agnesima u rodnicu predstavlja *Lactobacillus* spp. koji metabolizmom glikogena i produkcijom mliječne kiseline održava pH rodnice kiselim.

### 3.2 Bakterijska vaginoza

Bakterijska vaginoza (BV) je stanje disbalansa vaginalne flore uzrokovano redukcijom laktobacila i dominacijom mješovitih anaeroba. CST IV tip mikrobiote koji u normalnim uvjetima sadrži manje laktobacila, a više anaeroba (primjerice *Prevotella*, *Gardnerella vaginalis*, *Fingoldia*, *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*) pokazao se kao rizični čimbenik za razvoj bakterijske vaginoze. U nižim dijelovima genitalnog sustava, mikrobiota je često kontaminirana bakterijama s kože ili iz probavnog sustava poput *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus epidermidis* ili *Escherichia coli*. Naziv „vaginoza“ umjesto izraza „vaginitis“ koristi se zbog izostanka upalnog procesa, a određeni autori smatraju da je najprikladniji izraz „disbioza“. Čak 80 % pacijentica su asimptomatske ili s blagim simptomima poput sivkastog iscjetka neugodna mirisa. Najčešće izoliran mikroorganizam u pacijentica sa simptomima bakterijske vaginoze je *Gardnerella vaginalis*, no ona se može naći i u do 50 % asimptomatskih žena. Prevalencija bakterijske vaginoze ovisi o rasi, geografskom položaju i seksualnoj aktivnosti. Iako se ne smatra tipičnom spolno prenosivom bolesti, češće se javlja u seksualno aktivnijih osoba, a dokazano je kako stanje bakterijske vaginoze olakšava prijenos tipičnih uzročnika spolno prenosivih bolesti kao što su *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis* i HIV. Bakterijska vaginoza često je stanje u trudnoći. Kako je većinom asimptomatske prirode, može se dijagnosticirati oportunističkim probirom ili prilikom obrade zbog drugih indikacija. Rutinsko testiranje nije preporučeno, ali u pacijentica s visokim rizikom od komplikacija potrebno je ovo stanje na vrijeme otkriti i liječiti. U rizičnu skupinu ubrajaju se pacijentice s prijevremenim porođajem ili niskom porođajnom težinom u prethodnim trudnoćama, upalnom bolesti zdjelice u anamnezi te afroamerički etnicitet. Vaginalni iscjedak se javlja u 50 % svih trudnoća, od čega se 16,6 % pripisuje bakterijskoj vaginozi. Potencijalne komplikacije BV-a u trudnoći su prijevremeni porođaj, niska porođajna težina, PPRM (preterm premature rupture of membrane, eng.), korioamnionitis i postpartalni endometritis. (6) U velikoj kohortnoj studiji (11) dokazano je kako su žene s bakterijskom vaginozom u drugom trimestru imale 40 % veću vjerojatnost za prijevremeni porođaj te plod s malom porođajnom težinom, što se pokazalo kao nezavisan čimbenik rizika. Rizik za navedene komplikacije dodatno se povećava ukoliko je uz bakterijsku

vaginozu prisutna i *Mycoplasma hominis*. Do prijevremenog porođaja dolazi ascenzijom mikroorganizama iz rodnice, razvojem upalnog procesa koji zahvaća plodove ovoje i konačno uzrokuje njihovu rupturu. U slučajevima histološki potvrđenog korioamnionitisa posljedično BV, najčešće se izoliraju *Ureaplasma urealyticum* i *Gardnerella vaginalis*. Zbog rizika od supkliničkog oblika korioamnionitisa posljedično bakterijskoj vaginozi, važno je pratiti sve trudnice koje u anamnezi imaju BV, posebice u trudnoći ili pripadaju u poviše navedene rizične skupine. Iako su simptomi blagi, bakterijsku vaginozu u trudnoći u tih skupina svakako je potrebno liječiti kako bi se smanjio rizik od komplikacija. Terapija podrazmijeva vaginalnu ili peroralnu primjenu klindamicina ili metronidazola. Potreba za liječenjem bakterijske vaginoze u nerizičnim trudnoćama i dalje je upitna. (6)

### 3.3 *Ureaplasma spp.*

Mikroorganizmi koji pripadaju u *Ureaplasma spp.* čest su nalaz u sklopu normalne vaginalne mikrobiote, a ujedno su oportunistički patogeni. Procjenjuje se da koloniziraju 40-80 % populacije. To su pleomorfne bakterije bez stanične stijenke, a zbog te su karakteristike otporne na antibiotike poput beta-laktama. Infekcija *U. parvum* i *U. urealyticum* za vrijeme trudnoće predstavlja povećan rizik od neželjenih perinatalnih ishoda kao što su; prijevremeni porođaj, PPRM i klinički korioamnionitis. Prema istraživanju Godenberga i sur., *Ureaplasma spp.* je uz *Mycoplasma hominis* najčešće izoliran patogen u slučajevima prijevremenog porođaja. Do intrauterne infekcije dolazi ascenzijom bakterija iz nižih dijelova genitalnog trakta. Aktivacija neutrofila u sklopu upale potiče sintezu metaloproteinaza koje narušavaju integritet plodovih ovoja rezultirajući PPRM-om. Prisutnost bakterija u amnijskoj šupljini potiče produkciju citokina, a prostaglandini koji posljedično nastaju stimuliraju preuranjene uterine kontrakcije. Smatra se da je prijevremeni porođaj posljedično infekciji *Ureaplasma* u 25-40 % slučajeva potaknut korioamnionitisom. U takvim slučajevima tokoliza je kontraindicirana i potencijalno štetna za plod jer s vremenom raste rizik od razvoja fetalnog inflamatornog sindroma (FIRS). Osim toga, postoji i rizik od intraportalne infekcije ploda, pri čemu je najčešće zahvaćen respiratorni sustav novorođenčeta zbog velikog afiniteta *Ureaplasme* za epitelne stanice. Fetalne i neonatalne infekcije *Ureaplasma* uzrokuju akutne komplikacije poput pneumonije, ali mogu ostaviti i trajne sekvele u obliku kronične plućne bolesti, cerebralnih lezija bijele tvari

ili cerebralne paralize. Iako najčešće zahvaća dišni sustav, *Ureaplasma* se može izolirati iz krvi, aspirata želuca i cerebrospinalnog likvora, što ukazuje na potencijal za uzrokovanje sistemske infekcije. Ometanjem normalne retinalne vaskularizacije infekcija može urokovati prematurnu retinopatiju kod nedonoščadi. Pomoću MBA proteina („multiple banded antigen“, eng.), koji je jedinstven za *Ureaplasma*, bakterija uspješno izbjegava stanice imunskog sustava, što joj omogućava da uzrokuje kronične asimptomatske infekcije i što su na životinjskom modelu (ovca) dokazali Dando i sur. Tijekom infekcije, *Ureaplasma* metabolizira ureu, a to posljedično dovodi do poremećaja pH vrijednosti u amnijskoj tekućini ili plućima ploda te na taj način može oštetiti tkiva neovisno o samom upalnom procesu. *Ureaplasma* se može dokazati u uzorku urina, uretralnog ili endocervikalnog brisa te tkivnom biopsijom endometrija. S obzirom na to da nema staničnu stijenku, izuzetno je osjetljiva na sušenje i promjenu temperature te se stoga uzorci moraju pažljivo tretirati. Bris se uzima dakronskim, poliesterskim štapićem s kalcijevim alginatom i potrebno ga je odmah obraditi ili čuvati na prikladnoj temperaturi. Kultivacija je također osjetljiv proces i koriste se specijalizirani agari s pH indikatorima, a kako je agar obogaćen brojnim spojevima potrebno je koristiti i antibiotike za prevenciju kontaminacije. U novije vrijeme proces je pojednostavljen jer su dostupni komercijalni kitovi. Kako je kultivacija *Ureaplasme* poprilično kompleksan proces, PCR metoda predstavlja optimalnu alternativu u dijagnostici. Antibiotici koji se uobičajeno koriste u liječenju trudnica i novorođenčadi su makrolidi, linkozamidi, streptogramini („MLS skupina“). Zbog velike učestalosti kolonizacije i značajnog utjecaja na loše perinatalne ishode, *Ureaplasma* je patogen na koji je potrebno uspješno detektirati i liječiti tijekom trudnoće, usprkos kompleksnosti kultivacije. (12)

### **3.4 *Escherichia coli***

*Escherichia coli* je čest komezalni mikroorganizam u crijevima čovjeka. Većina sojeva je potpuno bezopasna, no neki specifični sojevi posjeduju faktore virulencije koji im omogućavaju da izazovu infekcije i posljedično njima teške komplikacije. Kod žena se *E. coli* nerijetko pronalazi u rektovaginalnoj regiji, odakle se potencijalno može proširiti u rodnicu te ascendentnim putem dospjeti do ploda. Osim navedenog mehanizma, dijete se može zaraziti i



intrapartalno, prolaskom kroz porođajni kanal. Procjenjuje se kako prevalencija kolonizacije vagine u trudnoći iznosi oko 15 %, a maternalno-neonatalna transmisija varira od 21 % do 35.7 %. (13)

Uz BHSB, *E. coli* drugi je najčešći uzročnik rane novorođenačke sepse u terminske novorođenčadi, a najčešći u skupini prematurusa. Upravo u toj skupini postoji visok rizik od razvoja fulminantnog oblika infekcije i smrtnog ishoda. Tijek same infekcije i perinatalni ishod uvelike ovise o patogenosti soja *E. coli* koji je uzročnik infekcije. Nepovoljni perinatalni ishodi uključuju korioamnionitis, PPRM, prijevremeni porođaj, nisku porođajnu težinu, potrebu za hospitalizacijom, respiratorni distres sindrom, hiperbilirubinemiju i gastrointestinalne simptome. Maternalna kolonizacija *E. coli* patotipa EIEC (enteroinvazivni tip) povezuje se s većom incidencijom novorođenačke hiperbilirubinemije, dok se patotip EPEC (enteropatogeni tip) povezuje s diarejom u novorođenačkom periodu, a tijekom intrauterine infekcije može prouzrokovati disfunkciju surfaktanta i ozljedu pluća. Sojevi koji imaju ekspresiju K1 antigena dovode se u vezu s neonatalnim meningitisom, a čine oko polovine svih sojeva koji koloniziraju vaginu. (14) Kronične posljedice na zdravlje djeteta obično nastaju u sklopu novorođenačke sepse, meningitisa i pneumonije, a uključuju neurorazvojne poremećaje, cerebralnu paralizu, bronhopulmonalnu displaziju te kognitivno zaostajanje. Osim toga, intrauterina ili intrapartalna *E. coli* infekcija novorođenčeta može poremetiti distribuciju fiziološke flore respiratornog i gastrointestinalnog trakta te kože.

Kako je kolonizacija u trudnice *Escherichia coli* najčešće asimptomatska, nerijetko ostaje neprepoznata. Ukoliko dođe do simptomatske uroinfekcije, trudnica se liječi antibiotskom terapijom koja uključuje cefuroksim ili amoksisilin s klavulonskom kiselinom. Tijekom trudnoće, zbog opasnosti od ascenzije patogena u rodnicu, potrebno je liječiti i asimptomatsku bakteriuriju. Neonatalna sepsa empirijski se liječi kombinacijom ampicilina i gentamicina.

Za razliku od kolonizacije BHSB-om za koju je razvijen sustav provođenja briseva i po potrebi uporaba intraportalne antibiotske profilakse, za infekciju *E. coli* nisu razrađeni preventivni protokoli. (13)

### 3.5 *Candida albicans*

Vulvovaginalna kandidijaza, uzrokovana oportunističkim patogenom *Candidom albicans*, smatra se drugim najčešćim oblikom vaginitisa nakon bakterijske vaginoze. To je ujedno i najčešća infekcija donjeg genitalnog trakta u trudnoći, s povećanom incidencijom u drugom i trećem trimestru. (15) Epidemiološke studije su pokazale kako 75 % žena preboli barem jednu epizodu vulvovaginalne kandidijaze tijekom života, a u 40-50 % slučajeva dođe do relapsa. (16) Osim klinički manifestne, u 10-15 % slučajeva infekcija može biti i asimptomatska. Tijekom trudnoće, rizik za razvoj kandidijaze raste s 20 % (kod žena reproduktivne dobi koje nisu trudne) na 30-50 % kod trudnica. Jednim od uzroka toga se smatra povišena razina progesterona i estrogena koji dovode do promjena u mukozi rodnice, povećane produkcije glikogena, ali i promjene sastava same mikrobiote te posljedično do povišene predispozicije za infekcije. (15) Također, imunomodulacija koja se događa tijekom trudnoće može oslabjeti lokalni imunosni odgovor na infekciju *C.albicans*. Simptomatska infekcija podrazumijeva svrbež, pečenje, crvenilo i bijeli „sirasti“ iscjedak. Kandidijaza povećava rizik od brojnih komplikacija kao što su prijevremeni porođaj, pobačaj, PPRM, endometritis, korioamnionitis te neonatalna infekcija. (17) Ovakvi loši perinatalni ishodi kombinacija su ascendentne infekcije, abnormalnog imunosnog odgovora te potencijalno placentalne disfunkcije. U istraživanju koje su proveli Dong i sur. (15) na životinjskom modelu (miš), dokazano je kako kandidijaza u ranoj trudnoći može uzrokovati pobačaj. Osim toga, primjećeno je kako su fetus i placenta u miševa vaginalno inokuliranih *C. albicans* bili značajno manji od onih kontrolne skupine, što ukazuje na to da u ranoj trudnoći kandidijaza može također dovesti do poremećaja diferencijacije placente sa supresijom proliferacije trofoblasta i reduciranim krvnim žilama te posljedično tome uzrokovati intrauterini zastoj u rastu fetusa. (17) Nadalje, prospektivna randomizirana pilot studija Roberta i sur. (18) na devedeset osam trudnica ispod 20. tjedna gestacije pokazala je kako liječenje asimptomatske kandidijaze u trudnica šestodnevnom primjenom klotrimazola može značajno smanjiti rizik od prijevremenog porođaja. (18) Rijetki slučajevi u kojima je *C. albicans* u trudnica uzrokovala korioamnionitis ili intraamnijsku infekciju obično su bili povezani nekim dodatnim rizičnim faktorom poput prolongirane ruptur membrana ili posljedično postupku serklaže. (17) Kongenitalna kandidijaza je rijetka infekcija djeteta *C. albicans* in utero pred kraj trudnoće ili tijekom prolaska kroz porođajni kanal. Najčešća je kutana prezentacija u obliku generaliziranog osipa (eritematozne makule,

papule i/ili pustule), a moguć je razvoj oralne kandidijaze (soor) ili zahvaćanje pupčane vrpce žuto-bijelim papulama. Kutani oblik je obično benignan, no rijetko se infekcija ipak može komplicirati sistemskim manifestacijama poput pneumonije ili sepse. (19) Uvriježeno je mišljenje kako se asimptomatska kandidijaza u zdravih trudnica ne mora liječiti, no istraživanja poput onog koje je proveo Roberts te screening na vaginalnu infekciju *C. albicans* u trećem trimestru koji se provodi u određenim zemljama (Njemačka), pokazali su kako liječenje asimptomatskih infekcija ima benefite u vidu smanjenja rizika od prijevremenog porođaja te razvoja soora i „pelenskog“ dermatitisa u novorođenčadi. Simptomatske infekcije u trudnoći svakako je potrebno liječiti topičkim antimikotikom poput klotrimazola ili imidazola. (17)

### 3.6 Virusi

Osim bakterijskih uzročnika infekcije potrebno je istaknuti i viruse. Virusne infekcije u trudnoći mogu do ploda dospjeti hematogeno ili ascendentnim putem. Virusi su rjeđi i manje istražen uzrok komplikacija posljedično ascendentnoj infekciji, no nisu zanemarivi, s obzirom na to da posljedice takve infekcije mogu biti pogubne. (2) Stout i suradnici (20) u svom su istraživanju otkrili kako se vaginalni virom u trudnoći znatno razlikuje među pojedincima, ali su negativni ishodi trudnoće bili izraženiji u trudnica s promjenjivim, dinamičkim viromom, u usporedbi sa onima u kojih je virom bio stabilan. Nakon ascenzije iz donjeg dijela reproduktivnog trakta, invazivnost virusa ovisi o tropizmu za stanice cerviksa, decidue i placente, ekspresiji staničnih komponenti tih tkiva, ali i specifičnom maternalnom imunom odgovoru. Cervikalne viralne infekcije mogu povećati rizik od prijevremenog porođaja i posljedično tome sve komplikacije koje se na njega nadovezuju. Najčešći virusni patogeni u cerviksu su HHV6, HHV7, HSV, CMV, EBV i HPV. Napredovanje molekularnih tehnologija kao što je PCR olakšalo je identifikaciju virusnih uzročnika i potaknulo istraživanja o njihovom utjecaju na nepovoljan perinatalni ishod. (21) U jednoj od takvih studija, koju su proveli Li i sur. na gotovo 700 000 žena, utvrđeno je kako neliječena genitalna herpes infekcija može udvostručiti rizik od prijevremenog porođaja. (22) Nadalje, u dvije odvojene studije (23, 24) provedene na životinjskom modelu (miš), dokazano je kako virusni patogeni mogu, direktnim djelovanjem na tkivo cerviksa, uzrokovati prijevremeni porođaj. U prvoj studiji (23), promatran je utjecaj murinog herpesvirusa (MHV 68) na tkivo cerviksa u trudnog miša, u

usporedbi s onim reproduktivne dobi koji nije trudan. Utvrđeno je kako visoke razine spolnih hormona, povezane s trudnoćom, povećavaju prijemljivost stanica cerviksa za virus povećavajući ekspresiju cervikalnih staničnih integrina. Druga studija (24) pokazala je kako se u miševa koji su intravaginalno inokulirani virusom HSV-2, rano dogodila remodelacija strome koja je sukladna preuranjenom „sazrijevanju“ cerviksa, odnosno njegova je struktura tkiva nalikovala onoj očekivanoj pred kraj trudnoće. Osim toga, virus je inokuliran u humane cervikalne epitelne stanice u kojima je potaknuo povećanu produkciju hijaluronske kiseline, posljedično stabilizaciji estrogenskih receptora, što također ide u prilog promjeni stromalne arhitekture u smjeru preranog sazrijevanja cerviksa. Ovi primjeri na životinjskom modelu mogu ukazati na potencijalnu ulogu ascendentnih virusnih infekcija u patofiziologiji prijevremenog porođaja te dodatno potvrđuju kako se one ne smiju zanemariti u vidu neželjenih perinatalnih ishoda.

#### **4. MEHANIZAM ASCENDENTNE BHSB INFEKCIJE**

Ascendentna bakterijska infekcija komezalima vaginalnog trakta je predominantni uzrok intra-amnijskih infekcija te posljedično tome i loših perinatalnih ishoda. Iako nepokretan, BHSB uspješno ascendira preko cerviksa u uterus nizom različitih mehanizama. Bakterija potiče gubitak čvrstih veza među stanicama („tight junctions“, eng.) koji rezultira pojačanom ekfolijacijom vaginalnog epitela, što je u normalnim uvjetima mehanizam obrane od mikroorganizama jer se površinski epitel invadiran patogenima na taj način odbacuje. No evidentno je kako BHSB, potičući ovaj proces slabi epitelnu barijeru sluznice, a da se pri tome ne eliminira iz epitela. Osim toga, luči i hijaluronidazu koja razgrađuje hijaluronsku kiselinu ključnu za održavanje polarizacije stanica epitelne barijere, a zatim dolazi u interakciju s epitelnim stanicama cerviksa pomoću vlastitih površinskih proteina poput adhezina i invazina. Upravo ta sposobnost invazije cervikalnih stanica omogućava zaštitu od ekstracelularnog imunološkog odgovora domaćina. (25) Tijekom trudnoće formira se cervikalni mukozni čep od viskoelastične sluzi koji služi kao mehanička barijera prodoru mikroorganizama. Osim toga, mukozni čep sadrži i antimikrobne komponente poput citokina, laktoferina i lizozima. Ipak, veličina i konzistencija mukoznog čepa variraju od trudnice do trudnice, a patološki agensi luče s bakterijskom vaginozom povezane mucinaze koje narušavaju njegovu kvalitetu i

pogoduju ascenziji infekcije. (26) Ključni čimbenik virulencije za pristup amnijskoj šupljini preko korioamnijskih membrana je hemolizin koji ima izravno citotoksično djelovanje na stanice, a osim toga inducira otpuštanje proinflammatornih citokina kao što su IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$  i TNF- $\alpha$ , što rezultira narušavanjem strukture membrana. Na posljetku, invazija amnijske šupljine mikroorganizmima dovodi do opsežnog upalnog odgovora, uključujući infiltraciju membrana neutrofilima te intenzivnu proizvodnju proupalnih citokina, što konačno može rezultirati jednim od brojnih neželjenih perinatalnih ishoda. Primjerice, slabljenje membrana različitim čimbenicima poput matriks metaloproteinaza, apoptoze, oksidativnog stresa i neutrofilnih proteaza može dovesti do preranog prijevremenog prsnuća vodenjaka (PPROM), što nadalje rezultira prijevremenim porođajem. Ključni mehanizam u razvoju PPRM-a je epitelno-mezenhimalna tranzicija (EMT) – epitelne stanice pod utjecajem beta hemolitičkog streptokoka mijenjaju svoju morfologiju u vidu gubitka međustaničnih sveza i retrakcije citoskeleta, što rezultira narušavanjem integriteta tkiva. Pojednosti vezane za mehanizme ascencije beta hemolitičkog streptokoka, njegove interakcije sa stanicama tkiva i imunskim sustavom domaćina te sami čimbenici virulencije i dalje su predmet brojnih istraživanja jer bi njihovo bolje razumijevanje moglo ponuditi efikasnije metode zaštite ploda.

(4)

## **5. NEPOVOLJNI PERINATALNI ISHODI**

Nepovoljnim perinatalnim ishodom smatra se kada porođaj rezultira jednim ili više od navedenih ishoda; mrtvorodenost (nema znakova života s navršениh 28 tjedana gestacije), prijevremeni porođaj, potreba za prijemom na jedinicu intenzivnog liječenja (JIL) te perinatalna asfiksija. U širem smislu, u ovu kategoriju možemo ubrojiti i perinatalne morbiditete poput novorođenačke sepse, meningitisa i pneumonije. Brojni nepovoljni perinatalni ishodi dovode se u vezu s komplikacijama ascendentne infekcije patogena iz rodnice, a ta činjenica ukazuje na važnost pravovremene dijagnoze i liječenja takvih infekcija u trudnoći kako bi se spriječile akutne i kronične posljedice na zdravlje djeteta, ali i smanjio teret na zdravstveni sustav koji predstavljaju takvi perinatalni ishodi.

## 5.1 PRIJEVREMENI POROĐAJ

Prijevremeni porođaj definiran je kao porođaj prije navršenih 37 tjedana gestacije (određeno ultrazvukom, visinom fundusa ili datumom zadnjemenstruacije).

Studije pokazuju da je oko 40 % svih prijevremenih porođaja posredovano infekcijom. Utvrđena je povezanost između cervikalne kolonizacije patogenima, posebice BHSB-om i prijevremenog porođaja. Ključan mehanizam je ascenzija patogena iz rodnice, preko cerviksa do uterusa. Do prijevremenog porođaja dolazi kada bakterijski uzročnici infekcije luče proteaze, ali i preko Toll-like receptora potiču upalne procese, što rezultira otpuštanjem upalnih citokina i kemokina te povećanu produkciju matriks metaloproteinaza koje razgrađuju ekstracelularni matriks plodovih ovoja. (27) Navedeni mehanizam dovodi do prijevremenog prsnuća plodovih ovoja (PROM – premature rupture of membrane, eng.). S druge strane, bakterije potiču upalni odgovor koji, između ostalog, rezultira produkcijom prostaglandina, što potiče kontraktibilnost maternice te dolazi do peuranjenih trudova. (27)

Ova patogeneza posebice je izražena u slučaju ranog prijevremenog porođaja (28.-32. tjedan gestacije). (28) Trećina prijevremenih porođaja u SAD-u povezana je s PPROM-om. (29) Bakterijska invazija amnijske šupljine posljedično diskontinuitetu plodovih ovoja vodeći je uzrok mortaliteta novorođenčadi. Uzrok leži u tome što je novorođenče izloženo takozvanom „dvostrukom udarcu“, odnosno komplikacijama prematuriteta na koje se nadovezuju upalni procesi kao posljedica infekcije te njihove komplikacije. (30)

Iako se određeni postotak intra-amnijskih upalnih procesa naziva sterilnim jer nisu dokazani konkretni patogeni, ipak se smatra da je dio tih upala zapravo posredovan subkliničkim virusnim ili bakterijskim infekcijama, koje se klasičnim dijagnostičkim metodama, poput kultivacije i bojenja po Grammu, ne mogu dokazati. Upravo zbog toga postoji realna potreba da se, uz klasične, koriste i molekularne tehnike u dijagnostici uzroka prijevremenog porođaja. (30) Osim PPROM-om, prijevremeni porođaj može biti potaknut korioamnionitisom. Urushiyama i suradnici koristili su NGS (next generation sequencing, eng.) tehnologiju u analizi uzoraka amniocenteze u žena s korioamnionitisom u drugom trimestru trudnoće te u zdravih kontrola. Pri tome su identificirali 11 bakterija koje se dovode u vezu s korioamnionitisom; *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum*, *Streptococcus agalactiae*, *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus anginosus*, *Sneathia sanguinegens*, *Eikenella corrodens*,

*Prevotella bivia*, *Lactobacillus jensenii*, *Bacteroides fragilis* and *Porphyromonas endodontalis*.(31) Najčešći patogenetski mehanizam koji dovodi do upalnog procesa unutar amnijske šupljine, a posljedično tome i do prijevremenog porođaja, je ascendentna vaginalna infekcija. (30) Osim gore navedenih patogena, smatra se da ulogu u povećanju rizika od prijevremenog porođaja mogu imati i bakterijska vaginoza te vaginalna infekcija patogenima kao što je *Neisseria gonorrhoeae*. (32, 33) Utjecaj kolonizacije *Mycoplasma* i *Ureaplasma* na perinatalni ishod, a samim time i važnost uzimanja specifičnih cervikalnih briseva na ove patogene, i dalje je dvojben. Iako su ovi patogeni čest nalaz u uzorku amnijske tekućine u slučajevima prijevremenog porođaja i PROM-a, također ih se nalazi u velikom postotku vaginalnih briseva u slučaju urednih, terminskih porođaja (*Ureaplasma spp.* u 66 % terminskih trudnoća (34)). Nije u potpunosti jasno zašto su ovi patogeni ponekad benigni komenzali, a ponekad ascendiraju u cerviks i dovode do lošeg perinatalnog ishoda. Na mišjem modelu, Racicot i suradnici dokazali su da bi predisponirajuću ulogu u razvoju amnijske infekcije i prijevremenog porođaja mogla imati virusna infekcija tijekom trudnoće. U studiji koju su proveli, inokulirali su intravaginalno trudne miševe *Ureaplasma urealyticum*, pri čemu nije došlo do ascendentne infekcije u reproduktivnom traktu. Nakon toga, miševe su dodatno inokulirali virusnim patogenom MHV68 (murine gammaherpes virus 68), nakon čega je došlo širenja infekcije, te je *Ureaplasma* detektirana u decidui i limfoidnim agregatima. (35) Vjerojatno je da određene bakterije iz *Ureaplasma spp.*, ovisno genotipu, imaju različitu sposobnost ascendiranja i patogenog djelovanja. *Ureaplasma parvum* dokazana je u brojnim slučajevima prijevremenih porođaja uzrokovanih infekcijom, posebice genotipovi SV1, 3 i 6. SV3 dovodi se u vezu s ranim prijevremenim porođajem (<32 tjedna gestacije). (36, 37) Osim razlika u karakteristikama samih patogena, moguć je i utjecaj geografskog, odnosno etničkog učinka. U svakom slučaju, važno je uzeti ove patogene u obzir pri provođenju rutinskih cervikalnih briseva u trudnoći.

Negativne perinatalne ishode kao posljedicu ascendentne vaginalne infekcije dokazali su Suff i suradnici na životinjskom modelu gdje su trudne miševe vaginalno inokulirali bioluminescentnom *Escherichia coli*. Pratili su ascendentnu progresiju vaginalne infekcije preko cerviksa i placente do fetusa te su zabilježili povećanu incidenciju prijevremenih porođaja, mrtvorodenosti te postnatalnog encefalitisa. (38)

Prijevremeni porođaj može se dodatno klasificirati u vrlo rani prijevremeni (<28 tjedana gestacije), rani prijevremeni (28 do <32 tjedna gestacije) te umjereni do kasni prijevremeni

porođaj (32 do <37 tjedana gestacije). Većina (oko 85 %) prijevremenih porođaja dogodi se nakon 31. tjedna gestacije. Procjenjuje se kako je otprilike 10 % porođaja prijevremeno, s trendom porasta u zadnjih dvadesetak godina. (u RH taj je postotak dugi niz godina oko 5,5 %). Iako je jasno da rizik od komplikacija prijevremenog porođaja pada kako gestacijska dob raste, važno je napomenuti kako i novorođenčad rođena u terminu, ali prije 40. tjedna (38. i 39. tjedan) ima nešto veće rizike od onih rođenih u 40. tjednu gestacije. (39)

Mortalitet kao posljedica prijevremenog porođaja značajno varira u različitim dijelovima svijeta. U razvijenim zemljama novorođenački period (prvih 28 dana života) preživi preko 50 % rođenih s 24 tjedna, a čak 90 % onih koji su rođeni u 28. tjednu gestacije. Za usporedbu, u nerazvijenim zemljama preživi samo 10 % rođenih u 28. tjednu gestacije. (39)

Akutne komplikacije prematuriteta uključuju, među ostalim, nekrotizirajući enterokolitis (NEC), akutni sindrom respiratornog distresa (ARSD), novorođenačku sepsu, intraventrikularno krvarenje te ductus arteriosus persistens. (30)

Nakon porođaja, prematurusi su izrazito skloni infektivnim i neinfektivnim respiratornim smetnjama, a čak 40 % onih koji prežive razvije bronhopulmonalnu displaziju. Među preživjelim prematurusima visoka je stopa hospitalizacije zbog respiratornih infekcija u prvih nekoliko godina života. Nekrotizirajući enterokolitis (NEC) stanje je koje se gotovo isključivo viđa kod djece rođene prije termina. Ovo stanje je obilježeno nekrozom sluznice i dubljih dijelova crijevne stijenke koja može rezultirati razvojem ileusa, perforacijom te smrtnim ishodom. Oni koji prežive NEC u novorođenačkoj dobi imaju veći rizik od razvoja kroničnih posljedica prijevremenog porođaja. Retinopatija nedonoščadi još je jedna od potencijalnih komplikacija prijevremenog porođaja. Viđa se u oko 3 % rođenih prije 28. tjedna gestacije, a očituje se poremećajem vaskularizacije mrežnice koji može rezultirati poremećajima vida različite težine sve do sljepoće. Dovodi se u vezu s prolongiranom terapijom kisikom koja je često potrebna u održavanju nedonoščadi na životu. Još jedna akutna komplikacija prijevremenog porođaja je hipoksično-ishemična encefalopatija (HIE). To je stanje intrapartalne hipoksije koja potencijalno rezultira neurorazvojnim poremećajem i trajnim neurološkim posljedicama. Dijagnostički kriteriji su; pH <7,00 iz krvi umbilikalne arterije, deficit baza <+12 mmol/L, Apgar < ili = 3 u prvih 5 minuta, umjerena ili teška neonatalna encefalopatija i multiorganska disfunkcija u prva 72 sata života. (39)



Prijevremeni porođaj može rezultirati brojnim dugoročnim posljedicama kao što su neurorazvojni i kongnitivni poremećaji, oštećenje vida i sluha, motorički, metabolički, kardiovaskularni te mentalni poremećaji. (40)

Najčešća dugoročna neurorazvojna posljedica prijevremenog porođaja je cerebralna paraliza ili neki srodni blaži poremećaj koordinacije i motorike. Prema provedenim istraživanjima (41), jasno je kako incidencija cerebrale paralize izravno ovisi o gestacijskoj dobi, pa se tako procjenjuje da iznosi oko 14,6 % za izratito rani prijevremeni, 6,2 % za vrlo rani prijevremeni i oko 0,7 % za umjereno rani prijevremeni porođaj. Epilepsija, bilo u sklopu cerebralne paralize ili izolirana javlja se u oko 30 % preživjelih prematurusa. Od kroničnih neurorazvojnih posljedica javljaju se još i senzorno-neuralni gubitak sluha te poteškoće u učenju. Procjenjuje se da oko 7 % prematurusa razvije teže kognitivne poremećaje kasnije u životu. (39)

Trajni poremećaji vida poput miopije i hipermetropije mogu nastati kao posljedica prijevremenog porođaja, što rezultira time da oko 25 % prerano rođene djece do šeste godine razvije potrebu za korekcijom vida naočalama. (39)

## **5.2 PRERANO PRIJEVREMENO PRSNUĆE VODENJAKA (PPROM)**

Prijevremeno prsnuće vodenjaka (PROM) definirano je kao ruptura plodovih ovoja prije početka trudova, a ukoliko se navedeno dogodi prije 37. tjedna gestacije tada se naziva prerano prijevremeno prsnuće vodenjaka (PPROM) te je jedan od glavnih uzroka prijevremenog porođaja (42), posljedice čega su navedene u podnaslovu Prijevremeni porođaj.

Plodovi ovoji građeni su od pet slojeva koji su od fetalne prema maternalnoj strani posloženi kako slijedi; unutarnji amnijski epitel, bazalna membrana, kompaktni sloj, sloj fibroblasta i intermedijarni sloj koji je u dodiru s korionom. Amnion ne sadrži krvne žile niti živce, a epitelni sloj stanica proizvodi kolagen tipa III i IV te glikoproteine laminin i fibronektin. Kompaktni sloj sastoji se od kolagena tipa I i III, a stvaraju ga fibroblasti. Intermedijarni sloj naziva se još i *zona spongiosa*, građen je od kolagena tipa III, proteoglikana i glikoproteina, a čini spoj između amniona i koriona. Korion je deblji od amniona, ali amnion ima veću tenzilnu snagu.

Korion se sastoji od kolagena tipa I, III, IV, V i VI, bazalne membrane i trofoblastnih stanica koje su polarizirane prema maternalnoj strani (decidui). (43) Najčešće mjesto rupture plodovih ovoja je nisko, supracervikalno područje koje naliježe na unutarnje ušće cerviksa (ostium cervicis, lat.), što nazivamo klasičnim PPROM-om. Navedeno se događa iz dva razloga; na ovom je mjestu amnion obično strukturno izmijenjen i slabiji, a to je ujedno i mjesto gdje je olakšan pristup bakterijama ascenzijom iz rodnice.

Najvažniji prevetabilni uzrok PPROM-a je ascendentna bakterijska infekcija. Mikroorganizmi koji ascendiraju iz donjeg genitalnog trakta uzrokuju upalni proces koji rezultira produkcijom kemokina i citokina, a posljedično tome povećava se produkcija matriks-metaloproteinaza. Osim toga, sami patološki agensi luče vlastite proteaze. Navedeni procesi slabe plodove ovoje zbog čega dolazi do njihove rupture, a posljedično tome i do intraamnijske infekcije te izravne ugroze ploda. PPROM ubrzo dovodi do prijevremenog porođaja.

U samom mehanizmu ruptur plodovih ovoja veliku ulogu ima povećana aktivnost određenih enzima, od kojih je važno izdvojiti matriks-metaloproteinaze (MMP). To su enzimi koji razgrađuju intersticijski kolagen, a u najvećoj mjeri pogađaju kolagen tip I. Maymon i suradnici (44) povezuju povišene koncentracije MMP-1 u amnijskoj tekućini s PPROM-om infektivne, ali i neinfektivne prirode. S druge strane, invazija amnijske šupljine patološkim agensima dovodi se u vezu s povišenjem koncentracije aktivnog oblika MMP-9, ali i padom koncentracije aktivnog oblika MMP-2. Iako točan okidač u indukciji ekspresije MMP-9 nije definiran, smatra se da različiti bakterijski produkti, kao i pro-inflamatorni citokini (posebice IL-1 $\beta$  i TNF- $\alpha$ ) djeluju kao parakrini ili autokrini signali za aktivaciju metaloproteinaza u trudnoćama kompliciranim intra-amnijskom infekcijom. (43) Iako je evidentno da medijatori upale imaju neupitnu ulogu u mehanizmu nastanka PPROM-a, važno je naglasiti da razine C-reaktivnog proteina u serumu majke ne koreliraju s težinom upale povezane s PPROM-om te nisu dobar prognostički znak za razvoj korioamnionitisa. (45)

Osim najčešćeg „klasičnog PPROM-a“, postoje i drugi atipični oblici koji mogu predstavljati dijagnostičku poteškoću. Važno je razlikovati stanje koje nazivamo „pre-PPROM“ od takozvanog „visokog-PPROM-a“. Pre-PPROM je stanje u kojem je samo jedan od dva plodova ovoja prekinutog kontinuiteta, zbog čega je volumen amnijske tekućine nepromijenjen i može se zamijeniti sa stanjem visokog PPROM. Visoki PPROM podrazumijeva defekt plodovih ovoja na atipičnoj lokaciji, odnosno mjestu udaljenom od unutarnjeg cervikalnog ušća. Zbog

toga što plodovi ovoji i dalje naliježu na cervikalno ušće, gubitak amnijske tekućine može biti neznatan i neprimjetan. Smatra se da bi se u stanju pre-PPROM hospitalizacija i agresivna antibiotska terapija mogla izbjeći bez posljedica. (43)

Etiologija PPR0M-a je multifaktorijalna, a uključuje infekciju genitalnog trakta, polihidramnij, antepartalno krvarenje, akutnu traumu, pušenje duhanskih proizvoda, PPR0M u prijašnjim trudnoćama te genetski polimorfizam. (43) Kada se uzmu u obzir klinički čimbenici rizika, histološki nalazi plodovih ovoja i mikrobiološki nalazi amnijske tekućine, postoje kumulativni dokazi o vezi između infekcije genitalnog trakta i razvoja PPR0M-a. (46) Histološki, korioamnionitis komplicira gotovo polovinu slučajeva PPR0M-a koji se dogode prije 34. tjedna gestacije. (43) DiGiulio i suradnici (8) analizirali su amnijsku tekućinu u 204 slučaja PPR0M-a i to pomoću dvije metode; PCR testom i kultivacijom. Kombinacijom obje metode u gotovo 50 % (101/204) slučajeva dokazana je bakterijska invazija amnijske šupljine, pri čemu se uspješnijom metodom pokazao PCR. Postoje i druge studije, uključujući onu Kaspera i sur. (47), koje su pokazale kako je PCR superiornija metoda detekcije patogenih agenasa u amnijskoj tekućini sa 72,9 % detektiranih slučajeva, u usporedbi s kultivacijom (27,1 % slučajeva). Također, kultivacijom se propusti detektirati čak do 91 % genitalne mikoplazme. (48) Osim toga PCR nudi veću osjetljivost, brže rezultate (unutar 24 sata) te mogućnost identifikacije patogena koji više nisu vijabilni, dakle i nakon uporabe antibiotika, te je zbog svega navedenog optimalna metoda za analizu amnijske tekućine. Kacerovsky i suradnici (49) doveli su u vezu prisutnost ne-laktobacilnih bakterija u području cerviksa s jakim cervikalnim upalnim odgovorom i povećanom incidencijom invazije amnijske šupljine. Također, patogeni otkriveni u uzorku amnijske tekućine u slučaju PPR0M-a mogu se uvelike razlikovati od patogena pronađenih kultivacijom cervikalnog brisa iste trudnice.

Dijagnoza PPR0M postavlja se pregledom u spekulima na kojem se uočava tekućina u fornixu vagine ili otjecanje amnijske tekućine na cervikalnom ušću – spontano ili prilikom blagog pritiska na fundus maternice ili forsiranog kašlja. Po potrebi se dodatno radi nitrazinski test koji detektira odstupanja od normalnog pH rodnice (4,4) koja ukazuju na prisutstvo amnijske tekućine (pH je oko 8), odnosno na PPR0M. Prisutstvo urina, krvi ili sjemene tekućine može prouzročiti lažne rezultate nitrazinskog testa. Također, PPR0M se može dijagnosticirati instilacijom indigo boje u amnijsku šupljinu tijekom amniocenteze, nakon čega se promatra bojenje tampona umetnutog u rodnicu – tzv. „amnio-dye tampon test“. Dijagnoza oligohidramnija ili anhidramnija ultrazvukom loš je prognostički znak i pokazuje povećan rizik

od razvoja pulmonalne hipoplazije. (43) Kunze i sur. mjerili su razine IL-6 i TNF- $\alpha$  iz vaginalnog sekreta 99 pacijentica s PPROM-om te su se njihove povišene razine pokazale kao dobar prediktor za razvoj sindroma fetalnog inflamatornog odgovora (FIRS – fetal inflammatory response syndrome, eng.). (50) Manualni je pregled kontraindiciran, s obzirom na to da povećava rizik od razvoja korioamnionitisa. (51)

Trećina prijevremenih porođaja u SAD-u dovodi se u vezu s PPROM-om. PPROM u drugom trimestru („mid-trimester PPROM“, eng) definira se kao ruptura plodovih ovoja prije navršenih 28 tjedana gestacije, a događa se u oko 0,4-0,7 % svih trudnoća. Uzrokuje izrazito rani rani prijevremeni porođaj. Povezuje se s visokim neonatalnim mortalitetom te kratkoročnim i dugoročnim morbiditetom. Oko 40 % prematurusa rođenih između 28. i 32. tjedna gestacije koji prežive inicijalni period njege u jedinici intenzivne skrbi umire u idućih 5 godina, a oko 40 % novorođenčadi razvije bronhopulmonalnu displaziju ukoliko se PPROM dogodio prije 25. tjedna gestacije. Djeca koja prežive imaju veću incidenciju fizičkih i razvojnih poremećaja, uključujući poremećaje vida, sluha, neurorazvojne poremećaje, kronične respiratorne bolesti i poremećaje ponašanja. (43)

PPROM se, prema studiji Aziz i suradnika, dovodi u vezu s intraventrikularnim krvarenjem, periventrikularnom leukomalacijom i cerebralnom paralizom. (52) Maternalne komplikacije mogu biti korioamnionitis, sepsa, endometritis te abrupcija placente.

Korioamnionitis kao posljedica PPROM-a predstavlja visok rizik od razvoja rane neonatalne sepse i nekrotizirajućeg enterokolitisa. (53) Kronična inflamacija placente, akutna fetalna inflamacija i uz navedena stanja vezane komplikacije mogu pridonijeti oštećenju razvoja mozga kod vrlo prijevremeno rođene djece. (54) Produljeni interval između PPROM-a i porođaja povezuje se s povećanim morbiditetom i mortalitetom, posebice u vezi s plućnom hipoplazijom u slučaju anhidramnija. Ipak, prema studiji Drassinowera i sur., prolongirani PPROM ne dovodi se u vezu s povećanim rizikom od novorođenačke sepse. (55)

U slučajevima kada se PPROM očituje prije 34. tjedna gestacije, konzervativnim se liječenjem nastoji osigurati zrelost fetalnih pluća, ukoliko nema znakova intramanijske infekcije, fetalnog distresa niti abrupcije placente. Konzervativno liječenje podrazumijeva uporabu kortikosteroida koji potiču sazrijevanje fetalnih pluća i produkciju surfaktanta te kombinaciju antibiotika. (56) U slučaju PPROM-a s  $\leq 32$  tjedna gestacije, indicirani su antibiotici ženama



Ipak, evidentno je da uporaba antibiotika u slučaju PPROM-a smanjuje rizik od komplikacija prematuriteta i postnatalne infekcije, što dodatnu vrijednost dobiva u slabo razvijenim zemljama, gdje je pristup ostalim intervencijama, kao što su kortikosteroidi, terapija surfaktantom i ventilacija, ograničen. (59)

U zapadnim zemljama, BHSB se smatra glavnim patogenom odgovornim za preuranjenu rupturu membrana, no ovisno o geografskom položaju, studije pokazuju različite patogene koji se nalaze na cervikalnim brisevima pacijentica sa PPROM. U kohortnoj studiji, koju su na 200 trudnica s PPROM u iranskoj bolnici u Mashhadu proveli Saghafi i suradnici, nalaz cervikalnih briseva bio je sljedeći: od 200 uzoraka 64 (32 %) kulture su bile negativne, a 136 (68 %) pozitivne; od kojih je u 62 slučaja (31 %) dokazan gram-negativan, a u 58 slučajeva (29 %) gram-pozitivan uzročnik. (60) S druge strane, Ambalpady i suradnici proveli su prospektivnu opservacijsku studiju (56) u Pradyumna Bal Memorial Hospital gdje su u razdoblju od 2019. do 2021. godine pratili 160 trudnica između 28. i 37. tjedna gestacije kojima je dijagnosticiran PPROM. Uzeti su vaginalni brisevi visoko iz rodnice. Od 160 uzoraka, njih 134 (85,09 %) bili su pozitivni, od čega 133 monomikrobijalni, a samo 1 polimikrobijalan. Najzastupljeniji je bio *Enterococcus faecalis* (17,39 %), zatim *Staphylococcus aureus* (14,29 %), *Escherichia coli* (11,18 %) te *Staphylococcus haemolyticus* (6,21 %). Većina izoliranih patogena bila je multirezistentna te osjetljiva na ampicilin, linezolid i vankomicin. *S.aureus* bio je najosjetljiviji na linezolid, zatim gentamicin i vankomicin. I u zapadnim zemljama sve su češći nalazi takozvanih ne-BHSB patogena u etiologiji PPROM-a i prijevremenog porođaja s posebnim naglaskom na *Ureaplasma* spp.

Prema svemu navedenom, neupitna je važnost antibiotske terapije u slučaju PPROM-a, posebice u slučajevima većeg prematuriteta, no empirijsku terapiju potrebno je uskladiti s najčešćim patogenima pronađenim na cervikalnim brisevima u određenoj geografskoj regiji.

### **5.3 KORIOAMNIONITIS**

Korioamnionitis se definira kao intrauterina inflamacija plodovih ovoja – koriona, amniona ili oba simultano. S obzirom na to da se sam naziv „korioamnionitis“ u praksi koristi

izmjenično za upalu infektivne i neinfektivne prirode, te pri tome dolazi do potencijalnih nesporazuma, a metode liječenja za ta dva entiteta su različite, NICHD (National Institute of Child Health and Human Development) predlaže da se termin zamijeni nazivom „Triple I“, odnosno „Trostruki I“ – „Intrauterina Inflamacija ili Infekcija ili oboje“.

Korioamnionitis se smatra okidačem 40-70 % prijevremenih porođaja, s to višom incidencijom što je gestacijska dob niža.

Etiopatogenetski, akutni korioamnionitis najčešće pripisujemo ascendentnoj infekciji koja se preko cerviksa širi u virtualni endometrialno-korionski prostor, a zatim preko plodovih ovoja na amnijsku tekućinu i konačno fetus. Mikrobiološki agensi koji se najčešće pronalaze u urogenitalnom traktu žena sa slikom korioamnionitisa su beta-hemolitički streptokok skupine B (BHSB), *Mycoplasma spp.* te *Ureaplasma spp.*, no važno je napomenuti kako se nalaz cervikalnih briseva te samim time i dominantni uzročnici korioamnionitisa, razlikuju s obzirom na geografsku regiju. Od ostalih patogena potrebno je spomenuti *Gardnerella vaginalis*, *E. coli* te *Candida albicans*. Polimikrobna infekcija viđa se u približno 30 % slučajeva. Moguć je i hematogeni nastanak infekcije, no tada su zahvaćeni placentalni vili i intervilozni prostor, za razliku od ascendentnog puta širenja gdje je primarno zahvaćen koriodecidualni prostor.

Ipak, sama prisutnost bakterija na cervikalnim brisevima nije indikativna za infekciju, s obzirom na to da se vaginalna flora mijenja tijekom trudnoće. Iako se dugo vjerovalo kako je maternica sterilno okruženje, postoje brojni dokazi da je mikrobiota maternice u trudnoći zapravo slična oralnoj, što je u svome radu nazvanom „The Placenta Harbors a Unique Microbiome“ opisao Aagaard. Smatra se kako je upravo to okruženje jedna od bitnih odrednica razvoja imunokompetencije u fetusa. Važno je napomenuti kako je bakterijska kolonizacija amnijske tekućine bez prisutstva upale benigna, što govori da su loši perinatalni ishodi vezani uz korioamnionitis prvenstveno posljedica upalnog procesa, a ne same prisutnosti mikrobioloških patogena.

Iako se korioamnionitis najčešće dovodi u vezu s mikrobiološkom kolonizacijom cerviksa i ascendentnom infekcijom, ne treba zanemariti da se određeni postotak korioamnionitisa smatra „sterilnim“, odnosno da je podležeću infekciju nemoguće dokazati ili je upala neinfektivne prirode. U ovom slučaju okidačem upale smatraju se čimbenici okoliša, primjerice cigaretni dim te upalni medijatori od kojih je važno istaknuti DAMP-ove (Damage-associated molecular pattern, eng.) i HMGB1 (High mobility group box1, eng.). Osim navedenih, u amnijskoj

tekućini pacijentica sa sterilnim korioamnionitisom dokazani su brojni proteini alarmni; S100B, IL-1 $\alpha$ , heat shock proteini i drugi. Važno je napomenuti kako se DAMP i HMGB1 protein aktiviraju prilikom oštećenja stanice, bilo to posredovano mikroorganizmima ili staničnim stresom te se njihove povišene razine ne mogu smatrati dokazom sterilne upale, osim ukoliko je infekcija isključena. Maternalni upalni odgovor potječe iz interviloznog prostora, a fetalni iz žila pupčane vrpce i korionske ploče. Ovakav sterilni oblik upale plodovih ovoja češći je u slučajevima prijevremenog porođaja s intaktnim plodovim ovojem i asimptomatskog kratkog cerviksa. (61)

Kriteriji za postavljanje dijagnoze kliničkog korioamnionitisa su; tjelesna temperatura viša ili jednaka 38 °C te najmanje 2 od idućih kriterija: maternalna tahikardija >100/min, fetalna tahikardija >160/min, otvrdnuće uterusa, iscjedak neugodna mirisa, maternalna leukocitoza (>15\* 10<sup>9</sup>/L). Dijagnoza intra-amnijske infekcije ili inflamacije potvrđuje se amniocentezom.

Ipak, prisutnost jednog ili čak više od ovih znakova ne mora nužno korelirati s postojanjem histopatološkog korioamnionitisa koji definiramo kao difuznu infiltraciju korioamniona neutrofilima. Ukoliko infiltracija zahvaća vilozno stablo, naziva se akutnim vilitisom, a u slučaju zahvaćanja pupčane vrpce akutnim funisitisom. Neutrofili koji infiltriraju koriodeciduu su maternalnog, a oni koji infiltriraju pupčanu vrpcu fetalnog podrijetla te stoga njihova prisutnost ukazuje na razvoj FIRS-a (fetal inflammatory response syndrom, eng.).

Zanimljivo je kako su Roberts i suradnici u radu nazvanom „Acute Histologic Chorioamnionitis at Term: Nearly Always Noninfectious“ (79) u sklopu randomizirane studije utvrdili kako je od 195 trudnica u terminu u njih 67 (34 %) potvrđen korioamnionitis, no od toga je samo 8 (4 %) korioamnionitisa bilo infektivne prirode, što je u kontrastu s mnogo većim postotcima infektivnog korioamnionitisa ranije u trudnoći. U kohortnoj studiji o cervikalnoj kolonizaciji u sklopu PPRM-a koju su proveli Saghafi i suradnici gdje je utvrđeno sljedeće; od 12 slučajeva korioamnionitisa, kulture cervikalnih briseva bile su negativne u 3 slučaja (25 %), a pozitivne u 9 slučajeva (75 %). U ovoj studiji, najčešći patogen izoliran iz cervikalnih briseva bila je *Klebsiella pneumoniae*. (60)

Upalne komplikacije koje nastaju u sklopu korioamnionitisa, bio on infektivan ili „sterilan“, mogu dovesti do neonatalne imune disfunkcije, ali i negativno utjecati na integritet imunskog sustava u osjetljivom razvojnog „prozoru“ te tako dovesti do razvoja kroničnih upalnih bolesti kasnije u životu. (61)



Korioamnionitis nosi velik rizik od izrazito negativnog perinatalnog ishoda. Prema studiji koju su 2014. objavili Garcia i suradnici, klinički dijagnosticiran maternalni korioamnionitis u usporedbi s prematuritetom bez slike korioamnionitisa povezuje se sa značajno povećanom incidencijom RDS-a (Respiratory Distress Syndrome, eng.) (69 % naprema 60,2 %), rane novorođenačke sepse (10,2 % naprema 2,8 %, OR 3,1), NEC-a (necrotizing enterocolitis, eng.) (11,2 % naprema 7,7 %, OR 1,3), intraventrikularnog krvarenja (14,5 % naprema 8,4 %), periventrikularne leukomalacije (8,4 % naprema 5,7 %) i prematurne retinopatije (5,3 % naprema 3,2 %) kod novorođenačadi porođajne mase  $\leq 1500$  g. Gotovo polovica takve novorođenačadi imala je potrebu za terapijom kisikom barem 28 dana, a samim time i veću incidenciju bronhopulmonalne displazije (23,2 % naprema 14,9 %). Korioamnionitis povezuje se i s povećanim mortalitetom novorođenačadi (22,6 % naprema 14,2 %). (62)

Trenutno dostupne intervencije u slučaju korioamnionitisa utemeljene su na uporabi antibiotika, progesterona i antenatalnih kortikosteroida. Algoritam liječenja ovisi o kategoriji korioamnionitisa, gestacijskoj dobi i kliničkom stanju novorođenačeta. Kod terminske novorođenačadi i kasnih prematurusa klinička slika korioamnionitisa može se svrstati u jednu od tri kategorije; izolirana maternalna vrućica, suspektni korioamnionitis i potvrđeni korioamnionitis. U slučaju izolirane maternalne vrućice liječenje novorođenačadi dobrog kliničkog stanja nije pokazalo nikakve učinke te se ne prakticira, a majci se po potrebi daje antibiotik. Kod suspektnog korioamnionitisa kliničko stanje novorođenačeta također određuje tijek liječenja. Novorođenačad koja su asimptomatska i dobrog općeg stanja mogu se monitorirati bez primjene antibiotika, pri čemu je poželjno upotrebljavati neki od dostupnih novorođenačkih sepsa-score kalkulatora. Primjena takvih alata smanjila je neopravdanu uporabu antibiotika u novorođenačadi izloženih korioamnionitisu s 99,7 % na 2,5 %. U slučaju potvrđenog korioamnionitisa novorođenačad se liječi odgovarajućim antibiotikom prema smjernicama. S druge strane, kod novorođenačadi ispod 34. tjedna gestacije preporuka je započeti antibiotsku terapiju, neovisno o tome radi li se o izoliranoj maternalnoj vrućici, suspektnom ili potvrđenom korioamnionitisu. (61) Ipak, usprkos terapiji, zbog perzistentne upalne reakcije često se razvijaju morbiditeti te dugoročne sekvele na imunski sustav.

#### 5.4 FIRS – SINDROM FETALNOG UPALNOG ODGOVORA

Sindrom fetalnog upalnog odgovora prvi je puta opisan u trudnica s visokim rizikom od intraamnijske infekcije, najčešće nastale ascendentnim širenjem vaginalnih patoloških mikroorganizama s posljedičnom upalom, rupturom plodovih ovoja te prijevremenim porođajem. Intraamnijski upalni procesi povezani su s lošim perinatalnim ishodom, bilo da su posredovani mikroorganizmima ili sterilni - posredovani alarminima ili nastali u sklopu aloimunizacijskih reakcija. (63) U ranim stadijima intrauterine inflamacije prevladava maternalni imunosni odgovor s infiltracijom plodovih ovoja upalnim stanicama. Povišene razine kemokina unutar korio-amnionskih membrana i decidue potiču takvu infiltraciju maternalnim neutrofilima. Ukoliko upalni proces neometano progredira, aktiviraju se fetalni leukociti koji dovode do dramatičnog porasta koncentracije proinflammatoryh citokina poput IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8 i IL-18, kao i kemokina IL-8, CXCL6, CXCL10. Ovakva eskalacija upalnog procesa naziva se FIRS – Fetal Inflammatory Response Syndrome, eng. (61) Takav disregulirani upalni odgovor smatra se ekvivalentom sindroma sistemskog upalnog odgovora – SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome, eng.) u odraslih. Kako se radi o sistemskom odgovoru, u sam proces uključeni su brojni organi poput hematopoetskog sustava, timusa, slezene, nadbubrežnih žlijezda, pluća, srca, jetre, mozga, uha, oka i kože. Kao klinički kriterij za postavljanje dijagnoze FIRS-a uzimaju se povišene koncentracije IL-6 u fetalnoj plazmi iz umbilikalnih krvnih žila (>11 pg/mL). Ovaj marker fetalnog upalnog odgovora dobar je prediktor prijevremenog porođaja te povećanog rizika od razvoja ozbiljnih neonatalnih morbiditeta. Njegove je koncentracije moguće istovremeno mjeriti u amnijskoj tekućini i u krvi iz umbilikalnih krvnih žila te na taj način usporediti intenzitet upalnog odgovora u intrauterinom mediju, ali i u organizmu samog fetusa. (63) Također, IL-17A pokazao se kao neizostavna komponenta fetalnog inflamatornog odgovora te potencijalno pridonosi razvoju kroničnih upalnih stanja posljedično intrauterinim upalnim reakcijama, a dokazano je kako njegovu produkciju potiču ekstracelularni patogeni koji u „sterilni“ uterus dospijevaju ascendentnim putem iz rodnice. (61)

Od neželjenih ishoda trudnoće uzrokovanih FIRS-om, važno je istaknuti prijevremeni porođaj koji sa sobom nosi brojne trenutne komplikacije, ali i dugoročne posljedice na zdravlje djeteta. U studiji koju su proveli Romero i suradnici (64), utvrđeno je kako je među pacijenticama koje

su prilikom prijema imale dijagnozu PPROM-a, a bez pretermijskih trudova, značajno veća incidencija prijevremenog porođaja unutar 48 i 72 sata ukoliko je došlo do razvoja FIRS-a (48 sati: 88 %, 72 sata: 88 %) u usporedbi s onima u kojih FIRS nije dokazan (48 sati: 29,7 %, 72 sata: 35 %). U istoj studiji utvrđeno je usporedbom upalnih parametara u amnijskoj tekućini i krvi fetusa (dokaz FIRS-a), kako znatno veći učinak na prijevremeni porođaj ima upalni odgovor fetusa, nego intraamnijski upalni proces.

Histološki, dokazom FIRS-a smatramo znakove akutne placentalne inflamacije koju možemo raščlaniti na akutni korioamnionitis koji se pripisuje maternalnom upalnom odgovoru te akutni funisitis i korionski vaskulitis koji se pripisuju fetalnom upalnom odgovoru. Funisitis je karakteriziran infiltracijom umbilikalne vene (stadij 1) ili umbilikalnih arterija (stadij 2) neutrofilima. Korionski vaskulitis predstavlja inflamaciju krvnih žila površine korionske ploče placente. Intenzitet upale u svim histološkim oblicima FIRS-a odgovara visini koncentracije markera upale; IL-6 i CRP. (63)

Također, u komplikacije FIRS-a ubrajaju se mnogi neonatalni morbiditeti poput respiratornog distres sindroma, suspektne ili dokazane neonatalne sepse, pneumonije, NEC-a, intraventrikularne hemoragije te bronhopulmonalne displazije. U istraživanju koje su proveli Jung i suradnici (9), incidencija navedenih morbiditeta iznosila je 77,8 % kod dokazanog FIRS-a, nasuprot 29 % u slučaju da nema znakova upalnog odgovora fetusa, što čini FIRS dobrim nezavisnim prediktorom nepovoljnog perinatalnog ishoda, pod uvjetom da je dijagnoza postavljena prije porođaja, kako bi se isključila mogućnost utjecaja intrapartalnih komplikacija na ishod trudnoće. (63)

Dugoročne sekvele uključuju bronhopulmonalnu displaziju, neurorazvojne poremećaje poput cerebralne paralize, prematurnu retinopatiju te sensorineuralni gubitak sluha. (63)

Postoji nekoliko terapijskih pristupa u slučaju FIRS-a; inducirani porođaj, antibiotska terapija te imunomodulacija upalnog odgovora. Cilj inducirano porođaja je izbaviti fetus iz nepovoljne okoline inflamiranog uterusa, no za pretermijske slučajeve podrazumijeva sve rizike koje sa sobom nosi prijevremeni porođaj. Antibiotskom terapijom smanjuje se intenzitet infekcije, a samim time utječe se djelomično na intenzitet upale te se smanjuje rizik od razvoja komplikacija. Obećavajućima su se pokazale imunomodulatorne metode poput IL-1 blokade visokim dozama anakinre te blokada IL-6 puta rekombinantnim humaniziranim

monoklonskim protutijelima koje su uspješno korištene u liječenju COVID-19 bolesti uzrokovane SARS-CoV-2 virusom te su trenutno predmet istraživanja kao terapija FIRS-a.

Modulacija disreguliranog fetalnog inflamatornog odgovora uporabom antimikrobnih i protuupalnih lijekova te terapija stanicama (cell-based therapy, eng.) imaju obećavajuće učinke na smanjenje novorođenačkog mortaliteta i morbiditeta posljedično FIRS-u.

## 5.5 NOVOROĐENAČKA SEPSA

Novorođenačka sepsa definira se kao sistemska bakterijska, virusna ili gljivična infekcija koja predstavlja životno ugrožavajuće stanje u terminske novorođenčadi i nedonoščadi. Pogađa 4 do 22 novorođenčeta na 1000 živorođene djece, a mogućnosti intrapartalnog screeninga i primjena antibiotika smanjili su težinu kliničke slike i učestalost nepovoljnih ishoda sepse u novorođenčadi u posljednjih dvadesetak godina. Ipak, sepsa se i dalje ubraja u 10 najčešćih uzroka smrti u novorođenačkom periodu. Novorođenačka sepsa može se prema vremenu koje je prošlo od porođaja do nastupa septičkog stanja podijeliti na ranu (early-onset sepsis, EOS, eng.) i kasnu novorođenačku sepsu (late-onset sepsis, LOS, eng.). Rana novorođenačka sepsa (EOS) najčešće je posljedica vertikalno prenesene infekcije s majke na dijete, a demonstrira se unutar prva 72 sata od porođaja. Kasna sepsa (LOS) očituje se nakon prva 72 sata života, a najčešće je infekcija na novorođenče prešla horizontalnim putem, odnosno iz njegova okruženja (rodilište). Važno je naglasiti da je moguće, iako rijetko, da se vertikalna transmisija infekcije očituje nešto kasnije pa se okarakterizira kao kasna novorođenačka sepsa. (65)

Jedan od rizičnih čimbenika za razvoj bilo kojeg od dva oblika novorođenačke sepse je niža gestacijska dob. Prematurusi vrlo niske porođajne mase (<1500 g porođajne težine) su posebno rizična skupina. Od maternalnih čimbenika rizika važno je izdvojiti korioamnionitis, peripartalnu vrućicu majke te u slučaju PPRM-a vrijeme proteklo od ruptur plodovih ovoja do porođaja. Geografske razlike u incidenciji i ishodima neonatalne sepse sukladne su razlikama razvijenosti zemalja u kojima se promatraju te ovise razini kvalitete skrbi. Osim prematuriteta, od novorođenačkih čimbenika rizika važno je izdvojiti kongenitalne anomalije. Sam boravak u jedinici intenzivne njege povećava rizik od razvoja sepse. (65)

Gotovo 70 % slučajeva rane neonatalne sepse pripisuje se infekciji BHSB-om i *E. coli*, s jasnim razlikama među terminskom novorođenčadi i nedonoščadi. Kod terminske djece BHSB uzrokuje oko 45 %, a *E. coli* svega 10-15 % slučajeva. U nedonoščadi situacija je obrnuta pa tako *E. coli* uzrokuje 50 %, a BHSB 20-25 % slučajeva. (66) Iako je BHSB infekcija nešto češća, *E. coli* se povezuje s generalno lošijim ishodima. Od ostalih patogena potrebno je izdvojiti *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., gram-negativne bacile (*Enterobacter* spp., *Haemophilus influenzae*) te *Listeriu monocytogenes*. Polimikrobne infekcije su rjetke. (65)

Prema kohortnoj studiji koju su proveli Saghafi i sur., od 200 slučajeva PPRM, njih 7 rezultiralo je neonatalnom sepsom; od čega je gram-negativnim bacilima bilo uzrokovano 5 slučajeva (66,6 %), gram-pozitivnim kokcima 1 (16,7 %) i Candidom također 1 slučaj (16,7 %). (60)

Prema smjernicama Američke pedijatrijske akademije (American Academy of Pediatrics, AAP), u svrhu prevencije neonatalne sepse i ostalih komplikacija ascendentne infekcije tijekom trudnoće, preporuka je provoditi screening na BHSB kolonizaciju u gestacijskom periodu od 36 0/7 do 37 6/7, kao i u svih trudnica s anamnezom prijevremenog porođaja u prethodnim trudnoćama. Davanje intraportalne antibiotske profilakse (IAP) 4 sata prije porođaja preporučuje se u slučajevima pozitivnog BHSB screeninga, antenatalne BHSB bakteriurije, infekcije ploda BHSB-om u prethodnoj trudnoći, kod prijevremenog porođaja, kod nepoznatog BHSB statusa u terminu u slučaju da je maternalna temperatura 38°C ili više te u slučaju PROM-a koji traje 18 ili više sati. IAP je potrebno razmotriti i u žena kod kojih su otpočeli trudovi, BHSB status je nepoznat, a bile su prethodno kolonizirane jer rizik od ponovne kolonizacije iznosi oko 50 %. (65)

Klinička prezentacija sepse u novorođenčadi često je nespecifična i varira s obzirom na uzročnika, gestacijsku dob i izvor infekcije. Dijagnostika se stoga dijeli na procjenu rizika, kliničku opservaciju, rezultate hemokulture i laboratorijske nalaze. Od kliničkih nalaza potrebno je izdvojiti; temperaturnu nestabilnost, bljedoću kože, cijanozu, petehije, letargiju, iritabilnost, tremor, visokofrekventni plač, tahikardiju/bradikardiju, hipotenziju, apneju ili tahipneju, distenziju abdomena, emezu, proljev i oliguriju. Preglede je potrebno provoditi svakih 4 do 6 sati te započeti s empirijskom terapijom ukoliko se znakovi i simptomi pojave unutar 48 sati od porođaja. Hemokultura se smatra zlatnim standardom u dijagnostici

neonatalne sepse. Veći rizik od lažno negativnog nalaza u novorođenčadi s blagom bakterijemijom zabilježen je pri uzimanju uzorka krvi volumena 0,5 mL u usporedbi s uzorkom 1 mL. Nedostatak hemokulture kao dijagnostičke metode za otkrivanje neonatalne sepse je upravo taj što se u praksi često prikupi neadekvatna količina krvi, što rezultira lažno negativnim nalazom. Oko 30 % novorođenčadi s pozitivnom hemokulturom ima pozitivnu kulturu cerebrospinalnog likvora te se ista provodi pri sumnji na razvoj meningitisa u sklopu novorođenačke sepse. Novije metode kao što su PRC i „microarray“ imaju veću osjetljivost i specifičnost od hemokulture, a rezultati su brzo dostupni. Također, microarray metodom moguće je detektirati specifični patogen i njegovu osjetljivost na antibiotik. Iako još nisu ušle u svakodnevnu uporabu, ove metode predstavljaju potencijal za novi zlatni standard u dijagnostici novorođenačke sepse. Od suportivnih laboratorijskih nalaza potrebno je izdvojiti kompletnu krvnu sliku i upalne markere, za što je uzorak najbolje uzeti 4-6 sati nakon porođaja. Ovi su nalazi vrlo nespecifični, ali nizak apsolutni broj neutrofila i povišen omjer nezrelih i ukupnih neutrofila ukazuju na infekciju te vrlo rano, uz prisutne kliničke znakove i simptome, mogu pobuditi sumnju na novorođenačku sepsu. Uloga upalnih markera, posebice CRP-a i prokalcitonina, diskutabilna je u dijagnostici rane novorođenačke sepse jer se njihove razine (posebice prokalcitonina) fiziološki povisuju nakon porođaja. Ipak, normalne razine serijskog CRP-a i prokalcitonina (8, 24 i 48 sati po porođaju) imaju visoku negativnu prediktivnu vrijednost. Novija istraživanja ukazuju na presinapsin kao najpouzdaniji upalni marker u ranoj neonatalnoj sepsi, s obzirom na dobru osjetljivost i specifičnost, negativnu prediktivnu vrijednost te manju podložnost fiziološkom porastu uzrokovanom porođajem. (65)

Procjena rizika od razvoja rane neonatalne sepse kod prematurusa zahtjeva poseban pristup te je stoga AAP izdala posebne smjernice koje su prikazane u Tablici 1. Za razliku od termiske novorođenčadi, u prematurusa vrlo niske porođajne težine trombocitopenija se može protumačiti kao indikator infekcije te se pronađe u 3 od 4 slučaja s hemokulturom pozitivnom na gram negativnog uzročnika.

Empirijska terapija novorođenačke sepse podrazumijeva antibiotike širokog spektra, najčešće kombinaciju beta-laktamskog aminopenicilina (ampicilin) i aminoglikozida (gentamicin). Uporaba aminoglikozida zahtijeva pomno praćenje pacijenta s obzirom na „o koncentraciji

ovisne“ učinke te potencijalnu ototoksičnost i nefrotoksičnost. U slučaju kliničke sumnje na tešku sepsu ili gram-negativni meningitis, potrebno je u empirijsku terapiju dodati i cefalosporin treće generacije, najčešće cefotaksim koji osigurava penetraciju u CNS i pokriva ampicilin-rezistentne gram-negativne mikroorganizme. Antibiotička terapija može se ukinuti nakon 36 do 48 sati kod novorođenčeta dobrog općeg stanja s negativnom hemokulturom. Kako maternalni intrapartalni antibiotici mogu rezultirati lažno negativnom hemokulturom kod novorođenčeta, sva simptomatska novorođenčad čije su majke primile IAP trebaju primiti desetodnevnu empirijsku antibiotičku terapiju.

Tablica 1: Procjena rizika za razvoj rane novorođenačke sepse (EOS) u prematurusa

<b>Procjena rizika za razvoj rane novorođenačke sepse (EOS) u prematurusa</b>	
<b>Rizični čimbenici</b>	<b>Metode pristupa</b>
<b>Nizak rizik</b>	
Maternalne indikacije (preeklampsija, placentalna insuficijencija, intrauterini zastoje u rastu)	Monitoriranje bez laboratorijskog testiranja Monitoriranje uz hemokulturu Uvođenje empirijske terapije u slučaju nestabilnosti kliničke slike
Sectio caesarea	
Izostanak trudova	
Indukcija trudova	
<b>Visok rizik</b>	
Prijevremeni porođaj	Hemokultura
Prijevremeno prsnuće vodenjaka	Uvođenje empirijske antibiotičke terapije
Korioamnionitis ili intrauterina infekcija	Kultura cerebrospinalnog likvora
Cervikalna insuficijencija	
Nesigurni otkucaji fetalnog srca	

Preuzeto i modificirano iz rada Glaser MA (65)

Dugotrajne posljedice neonatalne sepsse najizraženije su u nedonoščadi vrlo niske porođajne težine te nije u potpunosti jasno koliki je u tom slučaju doprinos prematuriteta, a koliki same infekcije. Neke od potencijalnih posljedica su; zaostajanje u rastu i razvoju, cerebralna paraliza, konvulzije, potreba za terapijskim kisikom, bronhopulmonalna displazija, kognitivni deficiti, poremećaji vida i sluha te poremećaji motoričkog razvoja.

Mortalitet od novorođenačke sepsse uvelike ovisi o gestacijskoj dobi i patogenu, no procjenjuje se kako u terminske djece za EOS iznosi 2-3 %, a za LOS 0,3 %. kod prematurusa rođenih između 22. i 24. tjedna gestacije iznosi čak 50 % za EOS, a 4 % za LOS. (65)

S obzirom na težinu stanja koje predstavlja rana neonatalna sepsa, visok mortalitet te brojne dugoročne posljedice na zdravlje djeteta, ključno je rano postaviti dijagnozu kombinacijom više dijagnostičkih pristupa; procjenom rizika, prepoznavanjem kliničkih znakova te hemokulturom, ali i pravovremeno započeti provođenje empirijske terapije. Iznimno je važno provoditi preventivne metode kao što su screening majke na najčešće patogene tijekom trudnoće te uvođenje intraportalne antibiotske profilakse.

## **5.6 NOVOROĐENAČKA PNEUMONIJA**

Pneumonije koje se manifestiraju u razdoblju po porođaju – kongenitalne i neonatalne pneumonije često je teško dijagnosticirati i liječiti jer su kliničke manifestacije u novorođenčadi nespecifične, a patološki procesi su isprepleteni s brojnim fiziološkim promjenama koje nastaju posljedično porođaju. Upravo zbog toga, kao i u slučaju neonatalne sepsse, laboratorijski nalazi imaju ograničenu vrijednost u dijagnostici. Osim toga, radiološki nalazi na plućima potencijalno mogu biti posljedica neinfektivnih upalnih procesa, primjerice aspiracije mekonija. (67)

Kongenitalna pneumonija obično je posljedica transplacentalnog prijenosa patogena, a nastaje tijekom sistemske infekcije majke koja može, ali i ne mora biti simptomatska. U slučaju asimptomatske infekcije majke dijagnostika je dodatno otežana. Patogeni se iz krvotoka majke preko posteljice prenose u organizam ploda.



Neonatalna pneumonija nastaje intrauterinom ili postnatalnom infekcijom. Dijeli se na rani i kasni oblik, pri čemu se rani oblik tipično prezentira u periodu od prvih 48 sati do kraja prvog tjedna života. Kasni oblik novorođenačke pneumonije očituje se u 2. do 4. tjednu života te do njega najčešće dolazi horizontalnim prijenosom patogena iz djetetove okoline.

Intrauterina pneumonija smatra se posebnom podskupinom rane neonatalne pneumonije. Očituje se tijekom porođaja kao mrtvorodenje ili u slučaju živorođenog djeteta kao niski zbroj po Apgarovoj ili teški respiratorni distres djeteta. (67)

Etiologija rane novorođenačke pneumonije usko je povezana s etiologijom novorođenačke bakterijemije i meningitisa. Osim toga, intrauterina pneumonija često je vezana s korioamnionitisom te je za razumijevanje same novorođenačke pneumonije potrebno poznavanje procesa koji joj prethode. (67) Pretpostavlja se kako mehanizam kojim nastaje intrauterina i rana neonatalna pneumonija uključuje kombinaciju inficirane amnijske tekućine i/ili kolonizaciju porođajnog kanala s fetalnom asfiksijom. Ascendentna infekcija patogenima iz rodnice dovodi do korioamnionitisa te širenja patogena u amnijsku tekućinu, a forsirani udisaji djeteta u sklopu asfiksije potiču aspiraciju inficirane amnijske tekućine te posljedičnu pneumoniju. (68) Inficiranu amnijsku tekućinu dijete aspirira in utero ili tijekom porođaja.

Barnett i sur. u svom su istraživanju otkrili kako je intrauterina i rana neonatalna pneumonija prisutna u 10-38 % mrtvorodenih, a u 20-63 % živorođenih koji su naknadno umrli. Kao najveći čimbenici rizika navode se niska gestacijska dob i mala porođajna težina. (69)

Najčešći patogeni koji se dovode u vezu s kongenitalnom i neonatalnom pneumonijom prikazani su u Tablici 2.

Kao i u brojnim drugim ozbiljnim stanjima u novorođenčadi, klinička slika novorođenačke pneumonije poprilično je nespecifična. Sumnja se postavlja kada novorođenče ima neke od idućih znakova respiratornog distresa; ubrzano, nazalno ili otežano disanje, frekvencija disanja >60/minuti, uvlačenje pomoćne dišne muskulature, kašalj i/ili hropci. Od ostalih znakova valja izdvojiti vrućicu, cijanozu i odbijanje hrane. Klinička slika, kao i laboratorijski nalazi mogu se uvelike poklapati sa slikom novorođenačke sepse. Novorođenačku pneumoniju nije lako razlikovati od neinfektivnih respiratornih stanja poput aspiracije mekonija, bolesti hijalinih membrana ili prolazne tahipneje. (67)

Tablica 2: Najčešći patogeni koji se dovode u vezu s kongenitalnom i neonatalnom pneumonijom

<b>Najčešći patogeni koji se dovode u vezu s kongenitalnom i neonatalnom pneumonijom</b>	
<b>Bakterije</b>	<b>Virusi</b>
<i>Escherichia coli</i>	Herpes simplex virus
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Respiratorni sincicijski virus (RSV)
<i>Beta-hemolitički streptokok skupine B</i> (BHSB)	Virus parainfluenzae (1, 2 i 3)
<i>Klebsiella</i> spp.	Humani citomegalovirus (CMV)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Virus influenzae (A i B)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Humani adenovirus
<i>Proteus</i> spp.	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<i>Enterococcus</i> spp.	
<b>Gljive</b>	
Candida albicans	
<b>Atipične bakterije</b>	
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Ureaplasma</i> spp.	<i>Treponema pallidum</i>

Preuzeto i modificirano iz rada Glaser MA (65)

Obrada novorođenčeta pri sumnji na pneumoniju uključuje RTG toraksa, kompletnu krvnu sliku, upalne parametre te hemokulturu i kulturu sputuma. Hemokultura iz uzorka od najmanje 1 mL ključni je dijagnostički korak, s obzirom na to da je veliki postotak novorođenačkih pneumonija hematogenog porijekla. Uzorak je potrebno uzeti s različitih mjesta u vremenskim razmacima, no treba imati na umu kako je cirkulirajući volumen krvi u novorođenčadi ograničen, a osim toga, ponavljano uzimanje uzoraka stvara dodatan stres za organizam. Osim

hemokulture, u obzir dolaze i urinokultura te kultura uzorka dobivenog endotrahealnom aspiracijom ukoliko postoji potreba za intubacijom.

Za liječenje novorođenačke pneumonije Svjetska zdravstvena organizacija preporučuje kao prvu liniju antibiotske terapije ampicilin svakih 12 sati u prvom tjednu života, a zatim svakih 8 sati od 2. do 4. tjedna života. Uz navedeno se primjenjuje i jedna dnevna doza gentamicina. Umjesto ampicilina može se razmotriti benzilpenicilin ili amoksicilin, a alternativa gentamicinu su tobramicin i amikacin. U drugoj liniji antimikrobne terapije mogu se razmotriti cefalosporini treće generacije ili kloramfenikol (samo ukoliko se ne radi o prematuritetu). (67)

Potporna terapija uključuje kisik, pomno praćenje oksigenacije, termoregulaciju, kontrolu razine glukoze u krvi te optimalno hranjenje, po potrebi na nazogastričnu sondu.

Ipak, kao i u slučaju novorođenačke sepse, ključna je prevencija ovog stanja pravovremenim provođenjem screeninga na vaginalne mikrobiološke patogene te prevencijom ascendentne infekcije u trudnoći.

## **5.7 NOVOROĐENAČKI MENINGITIS**

Usprkos napretku dijagnostičkih metoda i razvoju antimikrobne terapije, novorođenački meningitis i dalje predstavlja ozbiljnu ugrozu za život novorođenčeta, ali i uvelike doprinosi razvoju trajnih neuroloških deficita diljem svijeta. Djelomično je to posljedica povećanog preživljenja prematurusa čiji je prijevremeni porođaj prouzročen intrauterinom infekcijom, a posljedično se razvija sepsa i meningitis. Osim toga, odsutnost specifičnih kliničkih nalaza u novorođenčadi otežava proces postavljanja dijagnoze. (70)

Također, novorođenčad je izrazito rizična dobna skupina za razvoj meningitisa zbog nezrelosti humoralne i celularne imunosti, a posebice su ugroženi prematurusi rođeni prije 32. tjedna gestacije jer raspolažu s neadekvatnim titrom maternalnih protutijela.

Prema istraživanju koje su proveli Klein i Marcy, incidencija bakterijskog meningitisa u novorođenčadi iznosi oko 0,15 do 0,5 na 1000 živorođene djece. U skupini novorođenčadi vrlo niske porođajne težine ta je incidencija čak 10-15 puta veća. Meningitis se razvije u oko 25 % novorođenčadi sa sepsom.

Panel dominantnih patogena razlikuje se ovisno o geografskom smještaju, no kao značajan uzročnik ističe se beta-hemolitički streptokok skupine B. Smatra se da u SAD-u uzrokuje čak 50 % bakterijskog meningitisa u novorođenčadi. Na drugom mjestu po značaju nalazi se K1-pozitivna *Escherichia coli*. Treći najčešći patogen je *Listeria monocytogenes*. (70)

BHSB-om uzrokovan meningitis klasificira se s obzirom na vrijeme koje je prošlo od porođaja do manifestacije simptoma. Može se očitovati unutar prvih 24 sata života ili tijekom prvog tjedna, često u sklopu rane neonatalne sepsse zajedno sa simptomima dišnog sustava i tada se naziva ranim neonatalnim meningitisom. Plod se zarazi tijekom ascendentne infekcije patogenima iz rodnice nakon rupture plodovih ovoja ili u sklopu korioamnionitisa. Osim toga, moguća je i intrapartalna infekcija prolaskom kroz kolonizirani porođajni kanal. Ipak, češće se razvija nakon prvog tjedna, a unutar prva tri mjeseca života kao izolirana bolest bez prethodnih perinatalnih komplikacija. (71)

Upalni proces zahvaća moždane ovojnice, subarahnoidni prostor i parenhimalne krvne žile, što zajedno pridonosi ozljedi neurona. Bakterijski patogeni probijaju krvno-moždanu barijeru te dovode do kaskade brojnih upalnih i imunskih procesa koji, između ostalog, uključuju i nastanak oksidativnog stresa. Posljedično dolazi do lipidne peroksidacije, oštećenja mitohondrija i narušavanja krvno-moždane barijere. Svi navedeni procesi mogu dovesti do akutnih, ali i kroničnih oštećenja funkcije centralnog živčanog sustava. (71)

Klinički simptomi i znakovi poprilično su nespecifični, a u više od 30 % slučajeva mogu biti asimptomatski. Najčešće se manifestiraju simptomi sepsse u sklopu koje meningitis i nastaje, a to su; temperaturna nestabilnost, respiratorni distress, žutica i apneja. Znakovi specifični za nadražaj CNS-a poput letargije, fokalnih epileptičkih napada, povraćanja, iritabilnosti i nadražaja kranijalnih živaca, rjeđe se uočavaju. Ispupčenje fontanele prisutno je u oko 25 %, a kočenje šije u 15 % slučajeva. Konvulzije se češće uočavaju ukoliko je uzročnik meningitisa BHSB. Pogoršanje stanja prethodno stabilnog novorođenčeta s meningitisom upućuje na porast intrakranijalnog tlaka te može uključivati prisutnost komplikacija poput apscesa ili hidrocefalusa. (70)

Definitivna dijagnoza novorođenačkog meningitisa postavlja se na temelju ispitivanja cerebrospinalnog likvora i hemokulture. Uzorak cerebrospinalnog likvora nije poželjno uzimati kod nestabilne novorođenčadi sa simptomima respiratornog distresa, šoka ili trombocitopenijom. Uzeti uzorak šalje se na mikrobiološku analizu koja uključuje pregled

mikroskopskog preparata te kulturu likvora s antibiogramom. Osim toga, provodi se biokemijska analiza likvora, koja u novorođenčadi zbog fiziološki povećane propusnosti krvno-moždane barijere (posebice izraženo u prematurusa), može imati varijabilne rezultate. Stoga je u novorođenčadi potreban izostanak sva tri parametra bakterijske infekcije CNS-a u cerebrospinalnom likvoru (snižena koncentracija glukoze, povišena koncentracija proteina i pleocitoza) kako bi se na temelju nalaza isključila dijagnoza meningitisa. Usprkos uskoj povezanosti novorođenačkog meningitisa sa sepsom, procjenjuje se kako 15-30 % novorođenčadi s meningitisom ima negativne hemokulture, a oko 15 % novorođenčadi s negativnom hemokulturom ima pozitivnu kulturu cerebrospinalnog likvora. Zbog toga je preporučljivo provesti obje pretrage, ukoliko to kliničko stanje djeteta dopušta. Kontrolne kulture cerebrospinalnog likvora trebale bi postati negativne 24-72 sata po uvođenju optimalne antibiotske terapije ukoliko se radi o BHSB patogenu, a nešto kasnije (do 84 sata) ako se radi o gram-negativnom uzročniku. PCR također ima dobru osjetljivost i specifičnost u obradi uzorka cerebrospinalnog likvora pri dijagnostici novorođenačkog meningitisa. (70)

Akutne komplikacije novorođenačkog meningitisa su brojne i teške. Moguć je razvoj moždanog edema, hidrocefalusa, ventrikulitisa, moždanog krvarenja s posljedičnom ishemijskom ozljedom neurona. Ventrikulitis predstavlja terapijski izazov zbog loše penetracije sustavnih antimikrobnih lijekova u sustav moždanih komora. Ove komplikacije mogu se otkriti i pratiti slikovnim metodama, pri čemu prednost ima magnetna rezonanca mozga. Ipak, kod donošenja odluka o potrebi za hitnom neurokirurškom intervencijom, prednost se daje kompjutoriziranoj tomografiji. Kod prisutnosti neuroloških simptoma u vidu konvulzija potrebno je napraviti elektroencefalografiju. (70)

Novorođenački meningitis može ostaviti brojne dugoročne posljedice na funkciju središnjeg živčanog sustava. Težina posljedica proporcionalna je duljini trajanja infekcije središnjeg živčanog sustava, odnosno duljini pozitivnih kultura cerebrospinalnog likvora. Smatra se kako sekvele poput gluhoće, sljepoće, cerebralne paralize, konvulzija, hidrocefalusa ili kognitivnih ograničenja ostaju u 25-50 % novorođenčadi koja preživi epizodu meningitisa. Serijske slikovne metode (MR) mogu dati okvirnu procjenu opsežnosti trajnih posljedica, no one nažalost postaju potpuno jasne tek po završetku djetetova razvoja. (71)

Liječenje se bazira na intenzivnoj antimikrobnoj terapiji. Empirijska terapija uključuje kombinaciju ampicilina ili cefalosporina treće generacije s gentamicinom, no izbor lijekova je

varijabilan s obzirom na lokalne smjernice i geografske razlike u osjetljivosti patogena na antibiotike. Terapija se obično provodi 21 dan od posljednje pozitivne kulture cerebrospinalnog likvora, no u slučaju nekompliciranog BHSB meningitisa može se reducirati na 14 dana. Povećana incidencija *E. coli* opravdava korištenje treće generacije cefalosporina u liječenju novorođenačkog meningitisa. Prema istraživanju Schaada i sur. iz 1995. godine, dodavanje fluorokinolona u terapiju tijekom prvih 5 dana liječenja smanjuje rizik od dugoročnih neuroloških posljedica. Prisutnost komplikacija poput ventrikulitisa i apscesa zahtijeva produljenje terapije na 4-8 tjedana, odnosno do normalizacije nalaza na slikovnim pretragama. (71)

Visok mortalitet (oko 10 % u razvijenim zemljama) i teški morbiditeti koji nastaju kao posljedica novorođenačkog meningitisa pridodaju važnosti preventivnih mjera poput maternalnog screeninga na vaginalne patogene te provođenja intrapartalne antibiotske profilakse.

## **6. PROVOĐENJE CERVICALNIH BRISEVA**

Ključna metoda prevencije loših perinatalnih ishoda uzrokovanih ascendentnim infekcijama mikrobioloških patogena iz rodnice jest „screening“ metodom provođenja vaginalnih, odnosno cervikalnih i rektalnih briseva u trudnoći. Generalno, screening se može podijeliti u dvije kategorije; mikrobiološki te onaj utemeljen na rizičnim čimbenicima. Mikrobiološki ili univerzalni screening podrazumijeva uzimanje briseva u sklopu praćenja trudnoće u točno određenoj gestacijskoj dobi. Tako se, primjerice u SAD-u te nekim europskim zemljama, uključujući Hrvatsku, prakticira provođenje screeninga između 35. i 37. tjedna gestacije. S druge strane, screening koji se temelji na čimbenicima rizika provodi se samo u rizičnim trudnoćama, primjerice ako je infekcija evidentna, odnosno simptomatska ili ako su u prethodnim trudnoćama postojale komplikacije ili neželjen perinatalni ishod. Ovakav se pristup prakticira u zemljama poput Švedske i Ujedinjenog Kraljevstva. (60)

Na području Amerike i Kanade najčešće izoliran patogen na cervicalim brisevima u vezi s PPRM-om i prijevremenim porođajem bio je BHSB, te se sukladno tome u tim zemljama kao antibiotska profilaksa propisuje ampicilin. (72) Nasuprot tome, Saghafi i suradnici iz Hospital

of Mashhad University of Medical Sciences proveli su kohortnu studiju koja je u razdoblju 2015. i 2016. godine pratila 200 žena u svrhu utvrđivanja povezanosti pozitivnih nalaza cervikalnih briseva i PPRM te neželjenih ishoda trudnoće. Mikrobiološki nalaz bio je sljedeći: najčešće izolirani mikroorganizam bio je *E. coli* (24,2 %), zatim koagulaza negativni Stafilokok (27,2 %) te Enterokok i *Candida albicans* (11,7 %) svaki. Suprotno očekivanom, BHSB bio je zastupljen sa samo 2,2 %. Sukladno tome, u hemokulturi novorođenčadi Gram-negativni bacili bili su zastupljeni sa 66,6 %, a Gram-pozitivni koki i *Candida* sa samo 16,7 %.

(60) U opisanoj kohortnoj studiji, svakoj su ispitanici uzeta po dva brisa endocervikalnog kanala. Prvi je bris pohranjen u TSB (Trypticase soy broth, eng. - triptikaza soja bujon) neselektivni medij i poslan u laboratorij na rutinsku detekciju bakterija i bojenje po Gramu. Kulture su nasadene na krvni agar (ovčja krv) i na EMB (Eosyn-methylene blue) agar koji služi selektivnom bojenju Gram-negativnih bakterija te su rezultati evaluirani nakon 24 sata. Drugi je bris pohranjen u Lim broth (Todd Hewitt broth) medij selektivan za BHSB te je nakon inkubacije 24-48 sati na 35 °C u laboratoriju uzorak nasaden na krvni agar, a zatim su BHSB kolonije identificirane CAMP testom i testom hidrolize hipurata.

Navedene studije pokazuju raznolikost nalaza na cervikalnim brisevima te potencijalnu potrebu za „proširenjem vidika“ u kontekstu dijagnostike cervikalne kolonizacije patogenima u trudnoći u svrhu prevencije nepovoljnih perinatalnih ishoda.

Ipak, ne treba zanemariti potencijalno štetan učinak ekscesivne intraportalne primjene antibiotika na crijevnu floru novorođenčeta, što može ostaviti trajne posljedice na funkciju probavnog sustava kasnije u životu. Ova je tema predmet daljnjih istraživanja. (73)

## **7. BHSB CJEPIVO**

Brojni čimbenici virulencije različitih sojeva beta hemolitičkog streptokoka utječu na razinu njihove invazivnosti. Jednim od ključnih čimbenika smatra se sijalinizirani kapsularni polisaharid CPS (capsular polysaccharide, eng.). Trenutno je poznato deset kapsularnih serotipova (Ia, Ib, II-IX), od kojih se šest (Ia, Ib, II-V) smatra odgovornim za 98 % kolonizacije BHSB-om. Distribucija serotipova pokazuje geografske varijacije pa se tako serotipu III pripisuje gotovo 25 % kolonizacija diljem svijeta, ali samo 10 % na području Afrike i Azije.

BHSB CPS konjugiran na imunogeni proteinski nosač čini osnovu cjepiva. (60) Prema istraživanju Chiarot i suradnika iz 2018. godine (74), vakcinacija trudnih štakora cjepivom koje sadrži CPS III konjugat smanjilo je vaginalnu kolonizaciju, korioamnionitis i vertikalnu transmisiju, što je potaknulo nastavak kliničkih istraživanja na ljudima. U netrudnica, cjepivo je induciralo povišenje titra protutijela na BHSB i odgodilo vaginalnu i rektalnu kolonizaciju (Hillier i sur., 2018.). (75) Ipak, glavno je ograničenje navedenog cjepiva to što pokriva samo jedan od šest ključnih serotipova. Stoga je razvijeno Novartis/GSK trovalentno cjepivo koje sadrži serotipove Ia/Ib/III te se prema istraživanju Swamy i sur. iz 2020. (76) smatra sigurnim za primjenu u trudnica, a uspješno povisuje titar protutijela na BHSB koja se transplacentalno prenose na fetus. Važno je napomenuti kako ni trovalentno cjepivo ne sadrži sve klinički relevantne serotipove te postoji bojazan da će uporaba cjepiva potaknuti selekciju neobuhvaćenih sojeva, posebice s obzirom na to da se kod koinfekcije različitim serotipovima BHSB-a pojavljuje fenomen razmjene kapsule („capsule switching“, eng.). Posljedično toj spoznaji, nametnula se potreba za šesterovalentnim cjepivom te je razvijen Pfizer GBS6 – šesterovalentni CPS konjugat koji sadrži serotipove Ia, Ib, II, III, IV i V. Cjepivo je potaknulo produkciju opsonofagocitskih protutijela u vakciniranih Rhesus makakija te efektivno zaštitilo novorođenu mladunčad od smrtnih BHSB infekcija (Buurman i sur., 2019.) (77) Ovo je cjepivo dobro tolerirano od strane zdravih odraslih osoba te potiče stvaranje visokog titra protutijela na BHSB (Absalon i sur., 2021.) (78), no potrebno je ispitati imunogeničnost i efikasnost u trudničkoj populaciji. Alternativu cjepivima baziranim na cijelom CPS-u, koja su kompleksna za proizvodnju, predstavljaju cjepiva sa specifičnim CPS epitopima koji se mogu kemijski sintetizirati nakon mapiranja epitopa kristalografijom X-zrakama te je istraživanje ove opcije također u tijeku. Trenutno se istražuju i ostali čimbenici virulencije kao potencijalna meta za razvoj cjepiva.

S obzirom na to da je novorođenačka populacija pogođena brojnim ozbiljnim komplikacijama BHSB infekcije, poput meningitisa i sepse, a da zbog prirode svog nezrelog imunskog sustava nisu kandidati za cijepljenje, vakcinacija trudnica BHSB cjepivom čini se kao potencijalno uspješna i višestruko korisna metoda zaštite novorođenčadi.



## 8. ZAKLJUČAK

Iz svega navedenog, evidentno je kako brojni različiti čimbenici imaju utjecaj na ishod vaginalne kolonizacije mikrobiološkim agensima u trudnoći. Iako s jedne strane ta kolonizacija često ostaje ograničena i prolazi asptomatski, s druge je strane širok spektar komplikacija i dugoročnih posljedica na zdravlje djeteta.

Fiziološka mikrobiota vagine u trudnoći značajno se razlikuje od one u netrudnica. Izraženija je stabilnost sastava mikrobiote, s povećanjem broja protektivnih laktobacila, a smanjenjem broja ostalih mikroorganizama. Odstupanja od ovakvog stabilnog sastava predstavljaju predispoziciju za nastanak ascendentne infekcije.

Određeni organizmi poput BHSB, *E. coli*, *Ureaplasma* spp., *Candide albicans* te uzročnika bakterijske vaginoze, zbog svojih karakteristika i mehanizama ascenzije predstavljaju posebnu ugrozu za majku i plod. Komplikacije koje takve infekcije uzrokuju mogu se podijeliti na one izražene tijekom trudnoće i nakon porođaja.

Tijekom same trudnoće prijete opasnost od razvoja korioamnionitisa, prijevremenog prsnuća plodovih ovoja, intrauterine infekcije ploda i razvoja fetalnog upalnog odgovora te prijevremenog porođaja. Nakon porođaja mogu se razviti komplikacije u vidu novorođenačke sepse, meningitisa i pneumonije koje nose visoku smrtnost.

Glavni zajednički rizični čimbenici svim nepovoljnim ishodima infekcije u trudnoći su niska gestacijska dob, mala porođajna težina te priroda infekcije, odnosno sam uzročnik.

Novorođenčad u koje se razvije FIRS ima velik rizik za razvoj dugoročnih sekvela koje uključuju bronhopulmonalnu displaziju, neurorazvojne poremećaje poput cerebralne paralize, prematurnu retinopatiju te sensorineuralni gubitak sluha. (63) Novorođenačka sepsa potencijalno uzrokuje zaostajanje u rastu i razvoju, konvulzije, trajne respiratorne smetnje, kognitivne deficite, poremećaje vida i sluha te poremećaje motoričkog razvoja. (65) Novorođenački meningitis može ostaviti brojne dugoročne posljedice na funkciju središnjeg živčanog sustava poput gluhoće, sljepoće, cerebralne paralize, konvulzija, hidrocefalusa ili kognitivnih ograničenja ostaju u 25 do čak 50 % novorođenčadi koja preživi epizodu meningitisa. (71)

Navedene dugoročne posljedice infekcije tijekom trudnoće uvelike narušavaju kvalitetu života zahvaćenog pojedinca i njegove obitelji, ali predstavljaju i značajan teret za zdravstveni sustav. Financijski troškovi uključuju medikamentoznu terapiju, skupe slikovne metode za praćenje razvoja živčanog sustava kao što je magnetna rezonanca te često mukotrpne i dugogodišnje metode fizikalne terapije. Oboljela djeca, a nerijetko i barem jedan od njihovih roditelja ili skrbnika, odnosno njegovatelja, predstavljaju u budućnosti radno nesposobnog pojedinca te je stoga neupitan negativan utjecaj ovog problema na cijelo društvo.

Sve u ovom radu navedene činjenice naglašavaju važnost prevencije komplikacija infekcije u trudnoći. Kao glavna metoda izdvaja se rutinski „screening“ svih trudnica u prozoru 35.-37. tjedna gestacije provođenjem cervikalnih briseva na BHSB.

Organizirana prevencija infekcija u trudnoći ima potencijal za postizanje još većeg učinka uključivanjem šireg spektra mikrobioloških agenasa u proces „screeninga“ te možebitnim uvođenjem cjepiva za beta-hemolitički streptokok skupine B u kalendar cijepljenja, ukoliko se u budućnosti dokaže njegova učinkovitost.

## 9. ZAHVALE

Zahvaljujem mentoru doc. dr. sc. Josipu Jurasu, dr. med. na savjetima i stručnoj pomoći tijekom pisanja ovog rada.

Hvala mojoj majci Anici koja je sve ove godine strpljivo podnosila teret mog studija i na taj mi način omogućila da se cijeli život bavim onime što istinski volim. Ne postoji veći poklon koji se može čovjeku dati. Beskrajno ti hvala jer si vjerovala u mene i onda kada ja nisam.

Hvala tati Viti i sestri Martini za bezuvjetnu podršku.

Hvala Anji i Rei jer su me naučile učiti.

## 10. LITERATURA

1- Seale AC, Bianchi-Jassir F, Russell NJ, Kohli-Lynch M, Tann CJ, Hall J et al. Estimates of the Burden of Group B Streptococcal Disease Worldwide for Pregnant Women, Stillbirths, and Children. [Internet] *Clin Infect Dis*. 2017;65(suppl\_2):S200-S219.

doi:10.1093/cid/cix664 [Pristupljeno 20.4.2022.] Dostupno na:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29117332/>

2- Gupta P, Singh MP, Goyal K. Diversity of Vaginal Microbiome in Pregnancy: Deciphering the Obscurity. *Front Public Health*. [Internet] 2020;8:326. Published 2020 Jul 24. [pristupljeno 15.5.2020.] doi:10.3389/fpubh.2020.00326 Dostupno na:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7393601/>

3- Verstraelen H, Verhelst R, Claeys G, De Backer E, Temmerman M, Vaneechoutte M. Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that *L. crispatus* promotes the stability of the normal vaginal microflora and that *L. gasseri* and/or *L. iners* are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora. *BMC Microbiol*. (2009) 9:116. 10.1186/1471-2180-9-116

4- Brokaw A, Furuta A, Dacanay M, Rajagopal L, Adams Waldorf KM. Bacterial and Host Determinants of Group B Streptococcal Vaginal Colonization and Ascending Infection in Pregnancy. [Internet] *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:720789. Published 2021 Sep 3.

doi:10.3389/fcimb.2021.720789 [Pristupljeno 18.4.2022.] Dostupno na:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34540718/>

5- Freitas AC, Chaban B, Bocking A, Rocco M, Yang S, Hill JE, Money DM; VOGUE Research Group. The vaginal microbiome of pregnant women is less rich and diverse, with lower prevalence of Mollicutes, compared to non-pregnant women. *Sci Rep*. [Internet] 2017 Aug 23;7(1):9212. [Pristupljeno 15.5.2020] doi: 10.1038/s41598-017-07790-9. PMID:

28835692; PMCID: PMC5569030. Dostupno na:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5569030/>

- 6- Jayaram PM, Mohan MK, Konje J. Bacterial vaginosis in pregnancy - a storm in the cup of tea. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2020 Oct;253:220-224. doi: 10.1016/j.ejogrb.2020.08.009. Epub 2020 Aug 27. PMID: 32889328.
- 7- Brotman RM, Ravel J, Cone RA, Zenilman JM. Rapid fluctuation of the vaginal microbiota measured by Gram stain analysis. *Sex Transm Infect.* (2010) 86:297–302. 10.1136/sti.2009.040592
- 8- DiGiulio DB, Romero R, Kusanovic JP, Gomez R, Kim CJ, Seok KS et al. Prevalence and diversity of microbes in the amniotic fluid, the fetal inflammatory response, and pregnancy outcome in women with preterm pre-labor rupture of membranes. *Am J Reprod Immunol.* 2010;64:38–57
- 9-Cools P., Jespers V., Hardy L., Crucitti T., Delany-Moretlwe S., Mwaura M., et al. . (2016). A Multi-Country Cross-Sectional Study of Vaginal Carriage of Group B Streptococci (GBS) and Escherichia Coli in Resource-Poor Settings: Prevalences and Risk Factors. *PLoS One* 11 (1), e0148052. 10.1371/journal.pone.0148052
- 10-Rosen G. H., Randis T. M., Desai P. V., Sapra K. J., Ma B., Gajer P., et al. . (2017). Group B Streptococcus and the Vaginal Microbiota. *J. Infect. Dis. (Oxford Univ. Press)*, 744–751. 10.1093/infdis/jix395
- 11-Livengood CH. Bacterial vaginosis: an overview for 2009. *Rev Obstet Gynecol* 2009;2(1):28–37.
- 12- Sprong, K. E., Mabenge, M., Wright, C. A., & Govender, S. (2020). *Ureaplasma species and preterm birth: current perspectives. Critical Reviews in Microbiology, 1–13.* doi:10.1080/1040841x.2020.1736986
- 13- Liu TH, Wang HP, Cho FN, Wang JL, Hung CH, Chiou YH et al. Rectovaginal Colonization With Pathogenic *Escherichia coli* During Pregnancy And Neonatal Outcomes. [Internet] *Infect Drug Resist.* 2019 Sep 30;12:3103-3112. doi: 10.2147/IDR.S207857 [Pristupljeno 21.6.2022.] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31686871/>

- 14- Watt S, Lanotte P, Mereghetti L, Moulin-Schouleur M, Picard B, Quentin R. *Escherichia coli* strains from pregnant women and neonates: intraspecies genetic distribution and prevalence of virulence factors. *J Clin Microbiol.* 2003;41(5):1929-1935.  
doi:10.1128/JCM.41.5.1929-1935.2003
- 15- Dong Z, Fan C, Hou W, Rui C, Wang X, Fan Y et al. Vaginal Exposure to *Candida albicans* During Early Gestation Results in Adverse Pregnancy Outcomes via Inhibiting Placental Development. *Front Microbiol.* [Internet] 2022 Feb 24;12:816161. doi: 10.3389/fmicb.2021.816161. PMID: 35281308; PMCID: PMC8908259 [Pristupljeno: 19.5.2022.] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8908259/>
- 16- Jaeger M., Plantinga T. S., Joosten L. A., Kullberg B. J., Netea M. G. (2013). Genetic basis for recurrent vulvo-vaginal candidiasis. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 15 136–142.  
10.1007/s11908-013-0319-3
- 17- Aguin TJ, Sobel JD. Vulvovaginal candidiasis in pregnancy. *Curr Infect Dis Rep.* [Internet] 2015 Jun;17(6):462. doi: 10.1007/s11908-015-0462-0. PMID: 25916994.[Pristupljeno 19.5.2022.]  
Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25916994/>
- 18- Roberts CL, Rickard K, Kotsiou G, Morris JM. Treatment of asymptomatic vaginal candidiasis in pregnancy to prevent preterm birth: an open label pilot randomized controlled trial. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2011;11:18. T
- 19- Darmstadt GL, Dinulos JG, Miller Z. Congenital cutaneous candidiasis: clinical presentation, pathogenesis, and management guidelines. *Pediatrics.* 2000;105(2):438.
- 20- Stout MJ, Tuuli MG, Macones GA, Wylie TN, Wylie KM. 30: Diversity of the vaginal virome is associated with preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* (2018). 218:S23  
10.1016/j.ajog.2017.10.441

21- Racicot K, Mor G. Risks associated with viral infections during pregnancy. *J Clin Invest*. 2017 May 1;127(5):1591-1599. doi: 10.1172/JCI87490. Epub 2017 May 1. PMID: 28459427; PMCID: PMC5409792

22- Li DK, Raebel MA, Cheetham TC, Hansen C, Avalos L, Chen H et al. Genital herpes and its treatment in relation to preterm delivery. *Am J Epidemiol*. 2014 Dec 1;180(11):1109-17. doi: 10.1093/aje/kwu242. Epub 2014 Nov 12. PMID: 25392064.

23- Racicot K, Cardenas I, Wünsche V, Aldo P, Guller S, Means RE et al. Viral infection of the pregnant cervix predisposes to ascending bacterial infection. *J Immunol*. 2013 Jul 15;191(2):934-41. doi: 10.4049/jimmunol.1300661. Epub 2013 Jun 10. PMID: 23752614; PMCID: PMC4153356.

24- McGee D, Poncil S, McAuliffe M, Smith A, Racicot K. Cervical viral infection causes estrogen receptor stabilization and premature cervical ripening. *Am J Reprod Immunol*. 2016;76:G86 [Internet, pristupljeno 18.5.2022.] Dostupno na: [https://theasri.org/resources/Documents/PDF\\_AJRI-Program-Book-2016.pdf](https://theasri.org/resources/Documents/PDF_AJRI-Program-Book-2016.pdf)

25-Buscetta M., Papasergi S., Firon A., Pietrocola G., Biondo C., Mancuso G., et al. . (2014). FbsC, A Novel Fibrinogen-Binding Protein, Promotes Streptococcus Agalactiae-Host Cell Interactions. *J. Biol. Chem*. 289, 21003–21015. 10.1074/jbc.M114.553073

26-Olmsted S. S., Meyn L. A., Rohan L. C., Hillier S. L. (2003). Glycosidase and Proteinase Activity of Anaerobic Gram-Negative Bacteria Isolated From Women With Bacterial Vaginosis. *Sex Transm. Dis*. 30, 257–261. 10.1097/00007435-200303000-00016

27- Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet*. 2008 Jan 5; 371(9606):75-84.

28- Mendz GL, Kaakoush NO, Quinlivan JA. Bacterial aetiological agents of intra-amniotic infections and preterm birth in pregnant women. *Front Cell Infect Microbiol* 2013; 3: 58.

- 29- Clark EAS, Varner M. Impact of preterm PROM and its complications on long-term infant outcomes. *Clin Obstet Gynecol.* 2011;54:358–69
- 30- Stinson, L. F., & Payne, M. S. (2019). Infection-mediated preterm birth: Bacterial origins and avenues for intervention. [Internet] *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology.* doi:10.1111/ajo.13078 [Pristupljeno 15.3.2022.] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31617207/>
- 31- Urushiyama D, Suda W, Ohnishi E et al. Microbiome profile of the amniotic fluid as a predictive biomarker of perinatal outcome. *Sci Rep* 2017; 7: 12171.
- 32- Donders GG, Desmyter J, De Wet DH, Van Assche FA. The association of gonorrhoea and syphilis with premature birth and low birthweight. *Genitourin Med* 1993; 69(2): 98–101.
- 33- Balu RB, Savitz DA, Ananth CV, Hartmann KE, Miller WC, Thorp JM et al. Bacterial vaginosis, vaginal fluid neutrophil defensins, and preterm birth. *Obstet Gynecol* 2003; 101(5 Pt 1): 862–868.
- 34- Capoccia R, Greub G, Baud D. *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* and adverse pregnancy outcomes. *Curr Opin Infect Dis* 2013; 26(3): 231–240.
- 35- Racicot, K., Cardenas, I., Wünsche, V., Aldo, P., Guller, S., Means, R. E. et al. Viral infection of the pregnant cervix predisposes to ascending bacterial infection. [Internet] *J Immunol* 2013; 191(2): 934–941 doi: 10.4049/jimmunol.1300661 [Pristupljeno 22.3.2022.] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4153356/>
- 36- Payne MS, Ireland DJ, Watts R, Nathan E, Furfaro L, Kemp MW et al. *Ureaplasma parvum* genotype, combined vaginal colonisation with *Candida albicans*, and spontaneous preterm birth in an Australian cohort of pregnant women. [Internet] *BMC Pregnancy Childbirth* 2016; 16: 312. doi: <https://doi.org/10.1186/s12884-016-1110-x> [Pristupljeno 23.3.2022.] Dostupno na: <https://bmcpregnancychildbirth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12884-016-1110-x>



37- Rittenschober-Böhm J, Waldhoer T, Schulz SM, Stihsen B, Pimpel B, Goeral K et al. First trimester vaginal Ureaplasma biovar colonization and preterm birth: Results of a prospective multicenter study. *Neonatology* 2018; 113: 1–6.

38- Suff N, Karda R, Diaz JA, Ng J, Baruteau J, Perocheau D et al. Ascending vaginal infection using bioluminescent bacteria evokes intrauterine inflammation, preterm birth, and neonatal brain injury in pregnant mice. [Internet] *Am J Pathol* 2018; 188(10): 2164–2176 doi: 10.1016/j.ajpath.2018.06.016. [Pristupljeno 18.3.2022.] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30036519/>

39- M.J. Platt, Outcomes in preterm infants, *Public Health*, Volume 128, Issue 5, 2014, Pages 399-403, ISSN 0033-3506, <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2014.03.010>.

Dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0033350614000638>

40- Blencowe H, Lee AC, Cousens S, Bahalim A, Narwal R, Zhong N et al. Preterm birth-associated neurodevelopmental impairment estimates at regional and global levels for 2010. *Pediatr Res*. 2013 Dec; 74 Suppl 1:17-34.

41- Himpens E, Van den Broeck C, Oostra A, Calders P, Vanhaesebrouch P. Prevalence, type, distribution and severity of cerebral palsy in relation to gestational age: a meta-analytical review. *Dev Med Child Neurol* 2008;50:334e40

42- Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Spong CY, Dashe JS, Hoffman BL, et al. 24th Ed. New York: McGraw-Hill; 2014. *Williams Obstetrics*; pp. 829–854

43- Tchirikov M, Schlabritz-Loutsevitch N, Maher J, Buchmann J, Naberezhnev Y, Winarno AS et al. Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): etiology, diagnosis, classification, international recommendations of treatment options and outcome. *J Perinat Med*. 2018 Jul 26;46(5):465-488.

- 44- Maymon E, Romero R, Pacora P, Gervasi MT, Bianco K, Ghezzi F et al. Evidence for the participation of interstitial collagenase (matrix metalloproteinase 1) in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183:914–20
- 45- Stepan M, Cobo T, Musilova I, Hornychova H, Jacobsson B, Kacerovsky M. Maternal serum C-reactive protein in women with preterm prelabor rupture of membranes. *PLoS One.* 2016;11:e0150217.
- 46- Reynolds *HD*. Bacterial vaginosis and its implication in preterm labor and premature rupture of membranes. A review of the literature. *J Nurse Midwifery.* 1991 Sep-Oct; 36(5):289-96.
- 47- Kasper DC, Mechtler TP, Bohm J, Petricevic L, Gleiss A, Spergser J et al. In utero exposure to *Ureaplasma spp.* is associated with increased rate of bronchopulmonary dysplasia and intraventricular hemorrhage in preterm infants. *J Perinat Med.* 2011;39:331–6.
- 48- Oh KJ, Lee SE, Jung H, Kim G, Romero R, Yoon BH. Detection of ureaplasmas by the polymerase chain reaction in the amniotic fluid of patients with cervical insufficiency. *J Perinat Med.* 2010;38:261–8.
- 49- Kacerovsky M, Vrbacky F, Kutova R, Pliskova L, Andrys C, Musilova I et al. Cervical microbiota in women with preterm prelabor rupture of membranes. *PLoS One.* 2015;10:e0126884.
- 50- Kunze M, Klar M, Morfeld CA, Thorns B, Schild RL, Markfeld-Erol F et al. Cytokines in noninvasively obtained amniotic fluid as predictors of fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215:96.e1–8.
- 51- Chauleur C, Rochigneux S, Seffert P, Chene G, Billiemaz K, Collet F. Neonatal outcomes and four-year follow-up after spontaneous or iatrogenic preterm prelabor rupture of membranes before 24 weeks. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2009;88:801–6.

52- Aziz N, Cheng YW, Caughey AB. Neonatal outcomes in the setting of preterm premature rupture of membranes complicated by chorioamnionitis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009 Sep; 22(9):780-4

53- Garcia-Munoz Rodrigo F, Galan Henriquez G, Figueras Aloy J, Garcia-Alix Perez A. Outcomes of very-low-birth-weight infants

54- Kozinszky Z, Sikovanyecz J, Pasztor N. Severe midtrimester oligohydramnios: treatment strategies. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2014;26:67–76.

55- Drassinower D, Friedman AM, Obican SG, Levin H, Gyamfi-Bannerman C. Prolonged latency of preterm premature rupture of membranes and risk of neonatal sepsis. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214:743.e1–6.

56- Ambalpady PA, Samantroy S, Mishra A, Panda J, Pattnaik D, Jena P. Microbiome Diversity in Vaginal Fluid and Sensitivity Patterns in Preterm Premature Rupture of Membrane Cases. [Internet] *Cureus.* 2022 Jan 6;14(1):e20999. doi: 10.7759/cureus.20999. [Pristupljeno 3.3.2022.] Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8820494/>

57- Lee J, Romero R, Kim SM, Chaemsaithong P, Yoon BH. A new antibiotic regimen treats and prevents intra-amniotic inflammation/infection in patients with preterm PROM. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29:2727–37.

58- Lee J, Romero R, Kim SM, Chaemsaithong P, Park C-W, Park JS et al. 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;29:707–20.

59- Cousens S, Blencowe H, Gravett M, Lawn JE. Antibiotics for pre-term pre-labour rupture of membranes: prevention of neonatal deaths due to complications of pre-term birth and infection. *Int J Epidemiol*. 2010;39(Suppl 1):i134–43

60- Saghafi N, Pourali L, Ghazvini K, Maleki A, Ghavidel M, Karbalaeeizadeh Babaki M. Cervical bacterial colonization in women with preterm premature rupture of membrane and pregnancy outcomes: A cohort study. *Int J Reprod Biomed*. 2018 May;16(5):341-348.

61- Jain VG, Willis KA, Jobe A, Ambalavanan N. Chorioamnionitis and neonatal outcomes. [Internet] *Pediatr Res*. 2022 Jan;91(2):289-296. doi: 10.1038/s41390-021-01633-0. Epub 2021 Jul 1. [Pristupljeno 28.3.2022.] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34211129/>

62- Garcia-Munoz Rodrigo F, Galan Henriquez G, Figueras Aloy J, Garcia-Alix Perez A. Outcomes of very-low-birth-weight infants exposed to maternal clinical chorioamnionitis: a multicentre study. *Neonatology*. 2014;106:229–34.

63- Eunjung Jung, Roberto Romero, Lami Yeo, Chong Jai Kim, Stanley M. Berry, Chaur-Dong Hsu. The fetal inflammatory response syndrome: the origins of a concept, pathophysiology, diagnosis, and obstetrical implications. [Internet] *Seminars in fetal and neonatal medicine*. vol 25, 4, 101146, Aug. 01, 2020 October 22,2020 doi: <https://doi.org/10.1016/j.siny.2020.101146> [Pristupljeno 4.4.2022.] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33164775/>

64- Romero R, Gomez R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Edwin SS et al. A fetal systemic inflammatory response is followed by the spontaneous onset of preterm parturition. [Internet] *Am J Obstet Gynecol*. 1998 Jul;179(1):186-93. doi: 10.1016/s0002-9378(98)70271-6. [Pristupljeno 4.4.2022.] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9704786/>

65- Glaser MA, Hughes LM, Jnah A, Newberry D. Neonatal Sepsis: A Review of Pathophysiology and Current Management Strategies. *Adv Neonatal Care*. [Internet] 2021 Feb 1;21(1):49-60. doi: 10.1097/ANC.0000000000000769. PMID: 32956076. [Pristupljeno: 25.5.2022.] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32956076/>

66- Simonsen KS, Anderson-Berry AL, Delair SF, Davies HD. Early-onset neonatal sepsis. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(1):21-47. doi:10.1128/CMR.00031-13.

67- Michael D. Nissen, Congenital and neonatal pneumonia, *Paediatric Respiratory Reviews*, Volume 8, Issue 3, 2007, Pages 195-203, ISSN 1526-0542, <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2007.07.001>.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1526054207000644>

68- Duke T. Neonatal pneumonia in developing countries. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005; 90: F211–F219.

69- Barnett ED, Klein JO. Bacterial infections of the respiratory tract. In: Remington JS, Klein JO, ed. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. Philadelphia: WB Saunders, 2001; pp. 1006–1018.

70- Olivier Baud, Yannick Aujard, Chapter 114 - Neonatal bacterial meningitis, Editor(s): Olivier Dulac, Maryse Lasseigne, Harvey B. Sarnat, *Handbook of Clinical Neurology*, Elsevier, Volume 112, 2013, Pages 1109-1113, ISSN 0072-9752, ISBN 9780444529107, <https://doi.org/10.1016/B9780444529107.000301>. Dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444529107000301>

71- Barichello T, Fagundes GD, Generoso JS, Elias SG, Simões LR, Teixeira AL. Pathophysiology of neonatal acute bacterial meningitis. *J Med Microbiol*. 2013 Dec;62(Pt 12):1781-1789. doi: 10.1099/jmm.0.059840-0. Epub 2013 Aug 14. PMID: 23946474.

72- Zeng LN, Zhang LL, Shi J, Gu LL, Grogan W, Gargano MM, et al. The primary microbial pathogens associated with premature rupture of the membranes in China: a systematic review. *Obstet Gynecol*. 2014 Dec; 53(4):443-51.

73- Patras KA, Nizet V. Group B Streptococcal Maternal Colonization and Neonatal Disease: Molecular Mechanisms and Preventative Approaches. *Front Pediatr.* 2018 Feb 22;6:27. doi: 10.3389/fped.2018.00027. PMID: 29520354; PMCID: PMC5827363.

74- Chiarot E., Spagnuolo A., Maccari S., Naimo E., Acquaviva A., Cecchi R. et al. . (2018). Protective Effect of Group B Streptococcus Type-III Polysaccharide Conjugates Against Maternal Colonization, Ascending Infection and Neonatal Transmission in Rodent Models. [Internet] *Sci. Rep.* 8 (1), 2593. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20609-5> [Pristupljeno 21.4.2022.] Dostupno na: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-20609-5>

75- Hillier S. L., Ferrieri P., Edwards M. S., Ewell M., Ferris D., Fine P., et al. . (2019). A Phase 2, Randomized, Control Trial of Group B Streptococcus (GBS) Type III Capsular Polysaccharide-Tetanus Toxoid (GBS III-TT) Vaccine to Prevent Vaginal Colonization With GBS III. *Clin. Infect. Dis.* 68, 2079–2086. 10.1093/cid/ciy838

76- Swamy G. K., Metz T. D., Edwards K. M., Soper D. E., Beigi R. H., Campbell J. D., et al. . (2020). Safety and Immunogenicity of an Investigational Maternal Trivalent Group B Streptococcus Vaccine in Pregnant Women and Their Infants: Results From a Randomized Placebo-Controlled Phase II Trial. *Vaccine* 38, 6930–6940. 10.1016/j.vaccine.2020.08.056

77-Buurman E. T., Timofeyeva Y., Gu J., Kim J. H., Kodali S., Liu Y., et al. . (2019). A Novel Hexavalent Capsular Polysaccharide Conjugate Vaccine (GBS6) for the Prevention of Neonatal Group B Streptococcal Infections by Maternal Immunization. *J. Infect. Dis.* 220, 105–115. 10.1093/infdis/jiz062

78-Absalon J., Segall N., Block S. L., Center K. J., Scully I. L., Giardina P. C., et al. . (2021). Safety and Immunogenicity of a Novel Hexavalent Group B Streptococcus Conjugate Vaccine in Healthy, Non-Pregnant Adults: A Phase 1/2, Randomised, Placebo-Controlled, Observer-Blinded, Dose-Escalation Trial. *Lancet Infect. Dis.* 21, 263–274. 10.1016/S1473-3099(20)30478-3

79 - Roberts DJ, Celi AC, Riley LE, Onderdonk AB, Boyd TK, Johnson LC et al. Acute histologic chorioamnionitis at term: nearly always noninfectious. [Internet] PLoS One. 2012;7(3):e31819. doi: 10.1371/journal.pone.0031819. Epub 2012 Mar 7. [Pristupljeno 28.3.2022.] Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22412842/>

## 11. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 29. 7. 1996. godine u Osijeku. Osnovnoškolsko obrazovanje stekla sam u Osnovnoj školi Ljudevita Gaja, a potom završila Isusovačku klasičnu gimnaziju s pravom javnosti u Osijeku.

2015. godine preselila sam u Zagreb i upisala Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Velik dio kliničkih vještina stekla sam u Kliničkom bolničkom centru Zagreb te u Domu zdravlja Zagreb – Centar.

Ana Bokor