

**Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Hradci Králové**

**VLIV MIKROBIÁLNÍHO OSÍDLENÍ POCHVY RODIČKY  
NA PRŮBĚH PORODU A STAV NOVOROZENCE**

**Miloš Velemínský**

**Disertační práce**

**Doktorský studijní program: *gynekologie a porodnictví***

**Školitel: doc. MUDr. Jindřich Tošner CSc.**

**Hradec Králové**

**2008**

*Prohlašuji, že jsem disertační práci vypracoval  
samostatně s využitím uvedených pramenů a literatury.  
Finanční podporu zajistilo NZZ prof. MUDr. Miloš Velemínský, s.r.o.*

.....

## SOUHRN

**Úvod:** Vaginální infekce patří k závažným rizikovým faktorům ovlivňujícím průběh těhotenství. Mezi komplikace patří především syndrom předčasného porodu a předčasný odtok vody plodové a s nimi související rozvoj patologických stavů matky i novorozence.

**Cíl studie:** Systematické zpracování údajů, které by zhodnotily vztah mikrobiálního osídlení genitálního traktu rodičky k PROM a pPROM a k rozvoji intraamniální infekce. Vyšetření zánětlivých markerů v pupečnickové krvi vhodných pro včasnou identifikaci novorozenců s rizikem časně novorozenecké sepse.

**Typ studie:** Prospektivní klinická studie

**Metodika:** Soubor tvořilo 152 rodiček a 152 novorozenců splňujících vstupní kritéria. Rodičky byly rozděleny do třech skupin. Skupinu A tvořily rodičky přijaté s předčasným odtokem plodové vody po ukončeném 37. týdnu těhotenství (PROM) (52), skupinu B rodičky s předčasným odtokem plodové vody před ukončeným 37. týdnem těhotenství (pPROM) (47), skupinu C rodičky přijaté k porodu bez PROM po ukončeném 37. týdnu těhotenství (53). U všech rodiček byla při příjmu provedena kultivační vyšetření moči, stěry z pochvy na kultivační, mikroskopické, mykologické a parazitologické vyšetření a na vyšetření mykoplasmat a ureaplasmat, a stěry z hrdla děložního na chlamydie. Po porodu plodu a přerušení pupečnicku následoval odběr mateřské venózní krve na vyšetření C-reaktivního proteinu (CRP) a odběr pupečnickové krve na vyšetření IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  a sICAM-1. Placenta byla histologicky vyšetřena se zaměřením na přítomnosti chorioamnionitis.

**Výsledky:** U rodiček bez PROM byl častěji prokázán MOP I ( $p < 0,0001$ ). U rodiček s PROM v termínu porodu byl častěji prokázán MOP VI ( $p < 0,01$ ). Průkaz *Streptococcus viridans* byl spojen s vyšším rizikem časně novorozenecké sepse ( $p < 0,001$ ). Průkaz *Escherichia coli* byl spojen s vyšším výskytem chorioamnionitis a/nebo funisitis ( $p < 0,002$ ). Průkaz chorioamnionitis a/nebo funisitis byl spojen s vyšším rizikem časně novorozenecké sepse ( $p < 0,001$  resp.  $p < 0,0001$ ). Senzitivita a specifita mediátorů zánětu jako skríningu rizika časně novorozenecké sepse byla pro IL-6 (80 %, 97 %), TNF- $\alpha$  (36 %, 94 %), IL-8 (87 %, 97 %), sICAM-1 (83 %, 95 %).

**Závěr:** V naší studii jsme prokázali význam *Streptococcus viridans* pro riziko časně novorozenecké sepse a *Escherichia coli* pro rozvoj chorioamnionitis. Stanovili jsme senzitivitu a specifitu IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  a sICAM-1 jako skrínigového vyšetření rizika časně novorozenecké sepse.

**Klíčová slova:** vaginální mikroflóra – intraamniální infekce – PROM – pPROM – chorioamnionitis – cytokiny – časná novorozenecká sepse – skrínig

## SUMMARY

**Introduction:** Vaginal infections belong to important risk factors affecting the course of pregnancy. The most important complications are pre-term delivery syndrome and premature rupture of membranes (PROM) which are related to severe mothers and newborns pathology.

**Target of the study:** Systematic data processing for evaluation of the genital micro-flora and its relationship to PROM and intraamniotic infection. Examination of umbilical cord inflammatory markers as a screening for newborns at risk of early-onset neonatal sepsis.

**Type of the study:** A prospective clinical study

**Methods:** The group included 152 women and 152 newborns. The women were divided into 3 groups: group A – women admitted with PROM after completed 37<sup>th</sup> week of pregnancy (52); group B – women with pre-term PROM before completed 37<sup>th</sup> week of pregnancy (47); group C – women without PROM, delivering after 37<sup>th</sup> week of pregnancy (53). At admission, cultivation urine examinations, vaginal smears for microscopic, mycological, and parasitological examinations and examinations for mycoplasmata and ureaplasmata, and cervical smears for examination of chlamydia were provided. After delivering the foetus and cutting the umbilical cord, the mother venous blood was sampled for C-reactive protein (CRP) examination and the umbilical blood was sampled for IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  and sICAM-1 examination. The placenta was histologically examined for chorioamnionitis.

**Results:** MOP I was more frequent in women without PROM ( $p < 0,0001$ ). MOP VI was more frequent in women with PROM ( $p < 0,01$ ). *Streptococcus viridans* was associated with higher risk of early-onset neonatal sepsis ( $p < 0,001$ ). *Escherichia coli* was associated with more frequent histological finding of chorioamnionitis or funisitis ( $p < 0,002$ ). In chorioamnionitis or funisitis was higher risk of early-onset neonatal sepsis ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,0001$ ). Sensitivity and specificity of inflammatory mediators used for screening for newborns at risk of early-onset neonatal sepsis was: IL-6 (80 %, 97 %), TNF- $\alpha$  (36 %, 94 %), IL-8 (87 %, 97 %), sICAM-1 (83 %, 95 %).

**Conclusion:** In our study *Streptococcus viridans* was associated with higher risk of early-onset neonatal sepsis and *Escherichia coli* was associated with more frequent histological finding of chorioamnionitis. Sensitivity and specificity of IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  a sICAM-1 for screening of the early-onset neonatal sepsis risk were determined.

**Key words:** vaginal microflora – intraamniotic infection – PROM – pPROM – chorioamnionitis – cytokines – early onset neonatal sepsis – screening

Poděkování patří především **doc. MUDr. Jindřichovi Tošnerovi, CSc.** za jeho cenné rady, podporu a nezištnou pomoc. Dále pak **prim. MUDr. Petru Sákovi, PhD.**, primáři gynekologicko-porodnického oddělení Nemocnice České Budějovice a.s., **prim. MUDr. Milanu Hanzlovi** (neonatologie), **Ing. Marii Kašparové** (vedoucí centrálních laboratoří), **prim. MUDr. Janě Příkladné** (patologie), **prim. MUDr. Evě Žampachové** (bakteriologie a virologie), **prim. MUDr. Nadě Mallátové** (parazitologie a mykologie) a **Mgr. Janě Kalenské** (Zdravotně sociální fakulta JU).

Zvláštní poděkování patří **prof. MUDr. Pravoslavovi Stránskému, CSc.** za neocenitelnou pomoc při statistickém zpracování výsledků.

Největší poděkování za podporu a pomoc však patří celé mé rodině.

## OBSAH

1. Úvod do problematiky	8
1.1 Fyziologie poševního prostředí	8
1.1.1 Poševní ekosystém	9
1.1.2 Fyziologické mikrobiální osídlení pochvy	10
1.2.2.1 Mikrobiální obraz poševní (MOP)	11
1.2 Infekce plodového vejce	12
1.2.1 Epidemiologie	13
1.2.2 Etiopatogeneze intraovulární infekce	14
1.2.3 Zánětová reakce plodu (FIRS)	17
1.2.4 Zánět placenty, pupečníku a plodových obalů	17
1.2.4.1 Histologicko – patologická klasifikace	19
1.2.5 Rizikové faktory	21
1.2.5.1 Mikrobiální osídlení pochvy	22
1.2.5.1.1 Bakteriální vaginóza	23
1.2.5.2 Předčasný odtok vody plodové	24
1.2.5.3 Předčasný porod	27
1.2.6 Klinický obraz perinatálních infekcí	30
1.2.6.1 Maternální syndrom infikovaného amnia	31
1.2.6.2 Fetální syndrom infikovaného amnia	32
1.2.6.3 Časná novorozenecká sepse	32
1.2.6.3.1 Riziko časně novorozenecké sepse	32
1.3 Cytokiny a další mediátory zánětu	33
1.3.1 Interleukin – 1 (IL-1)	33
1.3.2 Interleukin – 6 (IL-6)	34
1.3.3 Interleukin – 8 (IL-8)	34
1.3.4 Tumor nekrotický faktor alfa (TNF- $\alpha$ )	35
1.3.5 Solubilní intercelulární adhezivní molekula – 1 (sICAM-1)	35

2. Hypotézy a cíle disertační práce	36
3. Materiál a metodika	38
3.1 Definice výzkumného souboru	38
3.1.1 Popisné charakteristiky souboru	40
3.2 Provedení	41
3.3 Metodika odběru stěrů z pochvy a z hrdla děložního a zpracování biologického materiálu	42
3.4 Metodika odběrů mateřské a pupečnickové krve a biochemického zpracování	43
3.5 Vyšetření placenty	45
3.6 Statistické zpracování	46
4. Výsledky	48
4.1 Mikrobiální osídlení	48
4.2 Hladiny mediátorů zánětu v pupečnickové krvi	49
4.3 Histologická vyšetření placent	53
4.4 IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ a sICAM-1 jako skrínig rizika časně novorozenecké sepse (statistika)	56
5. Diskuse	64
5.1 Komentář výsledků – mikrobiální osídlení	65
5.2 Komentář výsledků – histologická vyšetření placent	77
5.3 Komentář výsledků – mediátory zánětu v pupečnickové krvi	78
6. Závěr	86
7. Přehled literatury	87

## **1. ÚVOD DO PROBLEMATIKY**

Vaginální infekce patří k nejvýznamnějším rizikovým faktorům, které mohou v těhotenství přispět k rozvoji mnoha patologií. Mezi nejzávažnější a zároveň nejčastější patří rozvoj syndromu předčasného porodu a předčasný odtok vody plodové. S těmito klinickými situacemi pak úzce souvisí rozvoj patologických stavů matky i novorozence. Ze strany matky sem patří nejrůznější zánětlivé komplikace časného puerperia, ze strany novorozence pak například prematurita, časná novorozenecká sepsa a další infekční komplikace v časném novorozeneckém období. Výskyt infekcí v perinatálním období tak výrazně ovlivňuje mortalitu a morbiditu matek i novorozenců. Proto je tato problematika právem středem zájmu porodníků i neonatologů.

Normální mikrobiální osídlení pochvy těhotné ženy hraje důležitou roli v ochraně matky a tedy i plodového vejce, jeho narušení se pak může stát spouštěcím mechanismem kaskády rozvoje výše uvedených patologických stavů.

Vzhledem k neustálému rozvoji diagnostických možností, které nám přinášejí moderní laboratorní metody, a k potřebě urychlit a zpřesnit diagnostiku rizikových stavů jak u matky, tak u novorozence, rozhodl jsem se v rámci klinické studie, která se stala podkladem pro mou disertační práci, najít rizikové faktory v mikrobiálním osídlení pochvy rodiček, které by mohly přispět k předčasnému otoku plodové vody, a to zvláště jako součást syndromu předčasného porodu. Další součástí pak bylo pokusit se najít skriningový laboratorní test, který by umožnil rychle, včas a s co největší přesností vytipovat novorozence s rizikem rozvoje časně novorozenecké sepse. Histologické vyšetření placent pak bylo použito k dalšímu hodnocení spolehlivosti konkrétního testu.

### **1.1 Fyziologie poševního prostředí**

Fyziologické osídlení pochvy je závislé na mnoha faktorech. Nejvýznamněji ho ovlivňují věk ženy, její hormonální stav, fáze menstruačního cyklu, gravidita, intimní hygiena atd. Poševní prostředí je dnes chápáno jako jakýsi ekosystém. Jeho základními složkami je poševní epitel, mikrobiální flóra a komplexní interakce mezi hostitelem a mikroorganismem a interakce mezi jednotlivými bakteriálními druhy. Pokud dojde z nejrůznějších příčin k narušení této křehké rovnováhy, dojde ke klinické manifestaci zánětu. I mikroorganismy asymptomaticky



osidlující pochvu se za určitých změněných podmínek mohou stát vyvolavateli poševních zánětů. V této souvislosti se používá termín kolonizace pochvy daným mikroorganismem.

### **1.1.1 Poševní ekosystém**

Poševní ekosystém představuje přirozenou ochranu genitálního ústrojí ženy před rozvojem zánětlivých onemocnění. Za jeho základní složky jsou považovány:

**Slizniční imunitní systém** je tvořen sekrečním imunoglobulinem A (IgA) (který je produkován v děložním hrdle), leukocyty, lymfocyty, makrofágy a poševním transudátem.

**Hormonální hladiny menstruačního cyklu**, především estrogenu, vedou u žen v reprodukčním věku k zesílení poševní stěny, ke zvýšení obsahu glykogenu v cyklicky se odlupujících epitelových buňkách a k osídlení pochvy laktobacily, pH se stává kyselé.

**Endogenní poševní flóru** tvoří směs aerobních a anaerobních mikroorganismů, které jsou ve vzájemné rovnováze a které je schopen slizniční imunitní systém pochvy tolerovat. Její složení je u každé ženy individuální a závisí mj. na exogenních a endogenních vlivech (hormonální hladiny a jejich změny, sexuální aktivita, manipulace v pochvě, celkové choroby ženy, antibiotická léčba atd.). V jednom gramu poševního sekretu můžeme normálně najít asi  $10^6$  bakterií, přičemž patogeny od komenzálů nelze spolehlivě odlišit. Za příznivých podmínek může i jindy neškodný mikrob vyvolat onemocnění.

Zásadní úloha v regulaci endogenní poševní flóry je přisuzována laktobacilům. Mezi hlavní funkce laktobacilů z pohledu regulace endogenní flóry patří:

- Fermentace glukózy na kyselinu mléčnou, která zajišťuje výraznou kyselost poševního prostředí (pH 3,8–4,2).
- Produkce peroxidu vodíku, který je ve vyšších koncentracích pro některé bakterie toxický a zastavuje jejich růst. Ne všechny typy laktobacilů však tuto schopnost mají.
- Produkce bakteriocinů, což jsou látky s baktericidním účinkem na některé mikroorganismy.

**Kyselé poševní pH.** Jeho stabilita je zajišťována tím, že laktobacily kontinuálně štěpí glykogen na kyselinu mléčnou (její pH je 3,0–3,5). V průběhu menstruačního cyklu však dochází ke jeho kolísání, přičemž nejvyšší pH je v době menstruace (292).

Gravidita je specifická tím, že v ženském organismu dochází k bouřlivým hormonálním změnám (zvýšení estrogenu) a tak mimo jiné také ke zvýšení množství glykogenu v poševním epitelu. Fyziologicky vyšší je i transudace poševními stěnami a hlenotvorba v endocervixu. To se může klinicky projevit fyziologickým nezápnlivým vaginálním fluorem. Tyto skutečnosti však navíc mohou zasáhnout také do fungování poševního ekosystému.

### **1.1.2 Fyziologické mikrobiální osídlení pochvy**

Jak již bylo řečeno, fyziologické osídlení pochvy je závislé na mnoha endogenních i exogenních faktorech. Nejvýznamněji ho ovlivňují věk ženy, její hormonální stav, fáze menstruačního cyklu, gravidita, intimní hygiena, atd. Fyziologickou poševní flóru tvoří směs aerobních a anaerobních mikroorganismů a její složení je u každé ženy individuální (29, 294, 325). Proto jako jisté vodítko uvádím tabulku Mašaty a kol. (174).

***Frekvence výskytu mikroorganismů v pochvě zdravé ženy (podle Mašaty a kol.)***

	<b>Mikroorganismus</b>	<b>Frekvence výskytu v %</b>
<b>Aerobní bakterie</b>	Lactobacillus	17-97
	Diphtheroides	18-83
	Staphylococcus epidermidis	7-67
	Staphylococcus aureus	0-12
	Alfa hemolytické streptokoky	2-53
	Beta hemolytické streptokoky	0-93
	Nehemolytické streptokoky	4-37
	Enterokoky	4-44
	Escherichia coli	0-28
	Gardnerella vaginalis	40-43
	Mycoplasma hominis	15-72
	Ureaplasma urealyticum	40-95
<b>Anaerobní bakterie</b>	Lactobacillus	11-72
	Bacteroides fragilis	0-20
	Bacteroides species	0-50
	Fusobacterium species	0-18
	Peptostreptococcus species	12-40
	Veillonella species	0-17
	Clostridium species	0-17
	Bifidobacterium species	0-32
	Eubacterium species	0-36

### 1.1.2.1 Mikrobní obraz poševní (MOP)

Jako mikrobní obraz poševní (MOP) obecně označujeme mikroskopické vyšetření vaginálního sekretu. Podle mikrobiologické metodiky je však stanovení MOP vyšetření komplexní, skládající se z nátěru poševního sekretu na mikroskopické vyšetření a kultivačního vyšetření, jež zahrnuje kultivaci aerobních a anaerobních bakterií včetně **Neisseria gonorrhoeae**, kvasinkových mikroorganismů a **Trichomonas vaginalis**. V rámci úplnosti (i když to nespadá pod mikrobiální obraz poševní) je doporučováno provést stěr z hrdla děložního na kultivaci gonokoků, průkaz urogenitálních mykoplazmat a genové sondy na gonokoky a chlamydie. Teprve tento komplexní negativní výsledek opravňuje pátrat po dalších možných příčinách poševního výtoku.

Již toto vyšetření samo o sobě může stanovit diagnózu a umožnit tak kauzální léčbu. Není-li diagnóza jasná, je vedle dalších možných testů (stanovení poševního pH nebo amin-test) nutné provést také kultivační vyšetření.

Při vyšetřování MOP se odebraný poševní sekret se natře na 2 podložní sklíčka a obarví se metodou podle Giemsey a Grama. Při mikroskopickém vyšetření se pak hodnotí výskyt a množství epitelíí, leukocytů, různých bakterií, popřípadě trichomonád nebo kvasinek (152).

Podle Jírovce, Petera a Málka se rozlišuje 6 základních mikrobních obrazů poševních (113). I když mikroskopické vyšetření nátěru poševního či cervikálního sekretu patří k relativně běžným vyšetřením v ambulantní praxi u nás i v zahraničí, je tato klasifikace do určité míry českým specifikem. Přesto jsme toto hodnocení jako jedno ze sledovaných kritérií použili i v naší studii.

MOP I. – Fyziologický obraz zdravé ženy: v nátěru jsou přítomny epitelie, někdy ojedinele lymfocyty nebo leukocyty a velké množství grampozitivních hrubých tyček, které se označují jako *Lactobacillus vaginalis*. Jiná bakteriální flóra nebývá přítomna

MOP II. – Nehnisavý bakteriální zánět: v mikroskopickém obrazu převládá množství tyčinkovité a kokovité bakteriální flóry. Zánětlivá reakce je malá, proto množství leukocytů nebývá ani tak velké jako epitelíí. Většinou již nelze v nátěru nalézt laktobacily.

MOP III (a-d). – Hnisavý bakteriální zánět: nejnápadnější je vysoký počet leukocytů, zatímco výskyt epitelíí je relativně nižší. Mezi buněčnými elementy, na povrchu i uvnitř leukocytů je spousta kulovitých, tyčinkovitých nebo rohlíčkovitě zahnutých i vláknitých mikrobů.

MOP IV. – Kapavčitý výtok: akutní stádium kapavčité nákazy je charakterizováno množstvím leukocytů a malým počtem epitelíí. Mezi bakteriální flórou převládají gramnegativní diplokoky *Neisseria gonorrhoeae*.

MOP V. – Trichomonádový výtok: zastoupení epitelíí, leukocytů i bakteriální flóry bývá přibližně stejné jako u II. nebo III. MOP. V preparátech barvených dle Giemsy se však nachází mezi buněčnými elementy větší nebo menší počet trichomonád.

MOP VI (a,b). – Vaginální mykóza: mezi leukocyty a epitelii, které jsou přibližně rovnoměrně zastoupeny, se nalézají kromě smíšené bakteriální flóry četné oválné, větší i menší grampozitivní útvary – kvasinky. Pravidelně jsou přítomna také hrubá vlákna – pseudomyceliární růstová forma kvasinek z rodu *Candida*. Označení MOP IVa je používáno pro tzv. suchou nehnisavou mykózu, VIb pak pro mykózu hnisavou.

Při mikroskopickém vyšetření vaginálního sekretu se často nacházejí také přechodné MOPy I-II, I-III a II-III, nebo různé kombinace.

Pro úplnost ještě uvádím MOP 0. Toto označení je používáno pro neestrogenizovaný terén, kdy nátěr obsahuje pouze parabazální epitelie či holá jádra bez laktobacilů (134, 185).

## 1.2 Infekce plodového vejce

Infekce plodového vejce (intraovulární infekce) bývají členěny podle různých kritérií. Často užívané je jejich rozdělení podle způsobu infekce plodového vejce, a to na:

- Hematogenní
  - časné – způsobují převážně embryo a fetopatie a intrauterinní retardace růstu
  - pozdní – způsobují intrauterinní růstovou retardaci plodu (IUGR), přispívají k rozvoji syndromu předčasného porodu nebo se projeví až po porodu klinickými projevy infekce novorozence
- Ascendentní
  - z pochvy či hrdla děložního, mezi jejich projevy patří maternální a fetální syndrom infikovaného amnia
- Descendentní
  - per continuitatem přes vejcovody z peritoneální dutiny nebo při invazivních intrauterinních výkonech (amniocentéze a podobně), které se mohou projevit rozvojem syndromu předčasného porodu nebo klinickými známkami infekce novorozence

### ***1.2.1 Epidemiologie***

V odborné literatuře je v závislosti na jednotlivých autorech uváděna různá frekvence výskytu perinatálních infekcí. Tato skutečnost má několik příčin:

- Terminologie infekce, a to především terminologie klinická, je nepřesná.
- Neodlišuje se sepsa a lokální infekce.
- Příznaky či laboratorní výsledky se odlišně interpretují.
- Často se zaměňuje kolonizace za patogenitu.
- Výskyt případných nozokomiálních infekcí bývá velmi často kritizován a je tedy problémem oddělení, takže celá řada především novorozeneckých infekcí není vůbec hlášena.
- Je obtížné odlišit a následně správně uvést do statistiky, zda se jednalo o suspektní infekci, sepsi či o některou z forem syndromu infikovaného amnia.

Údaje o počtu hematogenních i ascendentních infekcí v průběhu těhotenství se různí. Syndrom infikovaného amnia či riziko syndromu infikovaného amnia jsou v literatuře uváděny v rozmezí 5–8 % z celkového počtu porodů. Měchurová a Rokytová (180) uvádějí, že incidence předčasného odtoku vody plodové (PROM) se pohybuje v rozmezí 4,5–14 % porodů, přičemž ve 3 % je PROM příčinou předčasného porodu (tedy 30–40 % všech spontánních předčasných porodů). Předčasný odtok vody plodové a s ním související předčasný porod pak velmi často korespondují se rozvojem intraovulární infekce.

Frekvence infekcí u novorozenců se uvádí mezi 1–8 případů na 1000 živě narozených (119). Incidence novorozeneckých sepsí se podle Kleina (143) pohybuje podle od 0,3 % do 5,2 % v průměru 1,5 %. Mortalita dětí s infekcí je vysoká a zvyšuje se úměrně s klesající porodní hmotností (154, 224, 238, 282, 324).

### ***1.2.2 Etiopatogeneze intraovulární infekce***

Vzhledem k širší problematice a vzhledem k tomu, že je má disertační práce zaměřena na vaginální mikrobiální flóru a její vztah k průběhu porodu a stavu novorozence, se budu podrobněji věnovat pouze patogenezi ascendentních intraovulárních infekcí. Je třeba předeslat, že i když jsou patogenetické pochody u matky i plodu probrány odděleně, je nutno celý proces chápat komplexně jako situaci, kdy se matka i plod vzájemně ovlivňují.

Normální mikrobiální osídlení pochvy těhotné ženy hraje důležitou roli v ochraně matky, a tedy i plodového vejce, před ascendentní infekcí. Jeho narušení se pak může stát spouštěcím mechanismem kaskády rozvoje patologických stavů, jako jsou syndrom předčasného porodu nebo předčasný odtok vody plodové s dalšími možnými riziky pro plod i pro matku.

Častými původci intraovulární infekce jsou grampozitivní streptokoky, stafylokoky, anaerobní koky a laktobacily, jakož i gramnegativní tyče, např. kolibakterie, hemofilus a aerobacter. Vzácnější jsou pseudomonády, listerie a kandidy. Obtížně detekovatelnými původci jsou anaeroby a mykoplazmata, chlamydie a gardnerelly. Samostatnou kapitolou je pak otázka syndromu bakteriální vaginózy. V úvahu mohou přicházet i některé typy virů či prvků. Mezi mikroorganismy prokázanými z cervikálního stěru a výskytem klinických projevů intraovulární infekce nebyla dosud prokázána žádná statisticky významná souvislost (127, 279, 318, 319).

I přes nesmírný pokrok v posledních desetiletích je stále nutno považovat naše znalosti o rozvoji intraovulární infekce a s ní související zánětové reakce za neúplné. Jedná se složité mnohočetně vzájemně propojené a přitom komplexní reakce, jejichž vzájemné vazby i jejich významy nebyly dosud uspokojivě objasněny. Jednotlivé složky této komplexní problematiky představuje na jedné straně vlastní agens (bakterie, viry atd.) se svými účinky a následky, na straně druhé pak velmi komplexní buněčná i látková imunitní reakce organismu a jeho stresová odpověď (endokrinní a vegetativní). Do hry také vstupuje řada variabilních faktorů jako je stav organismu matky či stupeň donošenosti plodu.

Základním činitelem, který se v patogenezi rozvoje intraovulární infekce účastní, je zánět a zánětová odpověď organismu. Ta je u matky nejprve převážně lokální a až s postupem infekce se stává odpověď celkovou (systémovou). Pokud dojde k infekci plodu, je jeho zánětová odpověď systémová.

Jako zánět je označován souhrn fyziologických reakcí na porušení integrity organismu. Jedná se o obrannou reakci organismu. Jak již bylo řečeno, tato reakce může být buď lokální nebo celková (systémová). Patogeneze se řídí všeobecnými zákonitostmi vzniku zánětu a úzce souvisí se systémem cytokinů, adhezivních molekul a dalších látek, které jsou součástí

imunitního systému. *Zánět* je popisován jako komplexní systém obranných reakcí tkání (s cévním zásobením) organismu na inzult (tedy patogenní podnět) různého charakteru (fyzikální, chemický, infekční vyvolaný mikroorganismy, metabolický, imunologický). Cílem zánětové reakce je odstranění příčiny a obnova původního stavu funkce organismu. Celotělová (systémová) zánětová odpověď je odpověď organismu na systémový inzult (trauma, oběhové selhání, hypoxie, infekce, hemokoagulační rozvrat). Intenzita odpovědi je dána intenzitou inzultu a reaktivitou organismu, přičemž přiměřená odpověď vede k obnově funkcí organismu a k návratu k původnímu stavu. Nepřiměřená odpověď vede k poruchám až k selhání orgánů či orgánových systémů. (117, 119, 280, 287)

Z pohledu matky a rozvoje syndromu předčasného porodu, předčasného odtoku plodové vody nebo chorioamnionitidy, probíhá proces infekce plodového vejce zhruba následovně.

Při ascendentním šíření infekce se mikroorganismy dostávají do plodového vejce z pochvy přes hrdlo děložní. Hlavním predisponujícím faktorem usnadňujícím ascenzi mikroorganismů do plodového vejce je předčasný odtok vody plodové, při intaktních plodových obalech pak dilatace hrdla děložního.

Infekce spouští prostaglandinovou kaskádu. Enzymy fosfolipáza A2 a C působí na membránové fosfolipidy a uvolňují volnou kyselinu arachidonovou, která je metabolizována tzv. cyklooxygenázovou cestou (COX1 a COX2), vede k tvorbě prostaglandinů včetně prostacyklinu (PGI2) a tromboxanu (Tx). Ty jsou syntetizovány v amniu, choriu a deciduální tkáni. Mediátory této indukce jsou cytokiny (IL1, TNF, IL2), růstové faktory (epidermální růstový faktor), renin, proteinkináza C a bakteriální produkty (endotoxiny). Sekrece cytokinů je indukována makrofágy, které jsou přítomny v deciduální tkáni, plodu a v placentě. Jsou označovány jako proinfekční cytokiny (IL1, IL6, IL8, TNF). Při rozvoji infekce se uplatňuje rovněž trombocyty aktivující faktor (PAF). Je to glycerofosfolipid, který se dramaticky zvyšuje v amniální tekutině v průběhu předčasného porodu. Stimuluje PGE2 v amniální membráně a indukuje děložní kontrakce. Do syntézy prostaglandinů zasahuje také kortikotropin-releasing-hormonu (CRH) produkovaný placentou v návaznosti na činnost fetoplacentární jednotky, který stimuluje tvorbu kortizolu a zvyšuje tím tvorbu prostaglandinu. Matrix metaloproteinázy (MMPs) jsou proteolytické enzymy, které jsou odpovědné za předčasný odtok plodové vody (PROM). Jejich zvýšená sekrece je indukována cytokiny (IL1, TNF) a růstovými faktory (epidermální růstový faktor-EGF) a tkáňovým růstovým faktorem (TGF-beta) (100).

U plodu jsou obranné mechanismy reprezentovány nástupem stresové reakce založené na neurohumorálním zapojení příslušných orgánů a jeho systémové zánětové odpovědi s účastí

celé škály cytokinů a dalších mediátorů, jejichž syntéza úzce souvisí s endotelovou odpovědí plodu reagující na vyvolávací inzult, který vedl k jeho poškození.

Systémová zánětová odpověď organismu bývá označována jako SIRS (systemic inflammatory response syndrome). Tato reakce se však může obrátit proti samotnému organismu. Pokud tedy nedojde k terapeutickému zásahu, je organismus ohrožen rozvojem multiorgánové dysfunkce (MODS – multiple organ dysfunction syndrome) která může vést až k orgánovému selhání.

SIRS je charakterizován uvolňováním chemických mediátorů. Tyto mediátory mohou být uvolňovány jako odpověď tkání postižených šokem, vasokonstrikcí, hypoxemií, traumatem, vystavených účinku endotoxinu a dalším inzultům. Důsledkem činnosti mediátorů zánětu dojde k aktivaci dalších pochodů jako je aktivace komplementu, spuštění koagulační kaskády s účastí kalikreinu, konverze plasminogenu na plasmin a spuštění kaskády syntézy kyseliny arachidonové.

Podstatou poškození tkání při dalším rozvoji SIRS je rozpad buněčných stěn, lyse a reperfuze postižených tkání poškozených ischemií.

O tom, zda se infekce u plodu a novorozence nakonec manifestuje, rozhoduje celá řada faktorů, především virulence infekčního agens, interval od začátku infekce, celkový imunitní stav matky a plodu nebo novorozence. Velmi specifický je především jeho imunitní stav, v období intrauterinního vývoje velmi limitovaný. Jako deficitní se jeví více složek imunity. Jde především o opsonizaci, chemotaxi a schopnost lýzy v souvislosti s nízkou hladinou komplementu a ostatních sérových faktorů. Hladiny IgG jsou závislé na úrovni jejich pasáže od matky a na gestačním věku. Schopnost syntézy jednotlivých tříd imunoglobulinů je výrazně odlišná od poměrů v dalších obdobích života. Významné odchylky jsou prokázány ve funkci T lymfocytů, NK buněk (Natural Killer – přirozených zabíječů) a v oblasti mediátorů buněčné imunity.

Schopnost obrany plodu a novorozence proti infekci navíc negativně ovlivňují různé patologické stavy jako hypoxie, hypoglykémie, hyperbilirubinémie, hypotrofie plodu a jiné zátěžové situace.

V současné době se celá řada autorů domnívá, že zásadní roli v patogenezi intraamniální infekce hraje syntéza cytokinů. Po vniknutí mikroorganismu do tkání reaguje organismus plodu iniciováním obranných mechanismů. Hlavním iniciátorem aktivace cytokinů je podle této teze plod, který se snaží dostat ze „stresového prostoru“. To ve svém důsledku vede k rozvoji syndromu předčasněho porodu (26, 82, 85, 89, 91, 95, 115, 135, 142, 153, 165, 166, 189, 206, 219, 228, 230, 232, 265, 269).



### **1.2.3 Záněťová reakce plodu (FIRS)**

Jako FIRS (fetal inflammatory response syndrome) je označován stav, kdy dojde u plodu během jeho intrauterinního vývoje k rozvoji SIRS. Jeho definice vychází z prací Gomeze, Romera a kol. (92, 229).

FIRS je diagnostikován především na základě elevace plazmatického IL-6 u plodu, nejčastěji při předčasném porodu nebo při předčasném odtoku vody plodové (PROM). Je spojen se zvýšenou perinatální morbiditou a mortalitou (15, 92). U novorozenců se klinicky po porodu většinou projevuje časně nastupující sepsí s poruchou dýchání, perinatální hypoxií atd. Má vztah k závažné neonatální morbiditě (RDS, sepse, BPD, IVH, cPVL, NEC). Novorozenci s vyšší koncentrací IL-6 ve fetální plazmě měli signifikantně vyšší morbiditu (118, 119, 297).

Systémová zánětlivá odpověď plodu, definovaná jako elevace fetálního IL-6, je nezávislým prediktivním faktorem závažné novorozenecké morbidity a je závislá na gestačním stáří plodu. Příčinou rozvoje FIRS je nejčastěji intraamniální infekce, ale nejspíše existují i jiné potenciální důvody rozvoje tohoto stavu (23, 26, 46, 119, 120, 128, 197, 213, 256, 317, 319, 328, 334).

### **1.2.4 Zánět placenty, pupečníku a plodových obalů**

Jak již bylo řečeno, nejčastějším způsobem infekce amniální dutiny je ascendentní cesta šíření. Méně často se jedná o cestu hematogenní mateřskou nebo fetální. Ostatní cesty jsou výjimkami.

Rozšíření endometritidy na placentu je sice možné, ale podle dostupných literárních zdrojů pravděpodobně velmi vzácné. Ve většině případů a nezávisle na stupni těhotenství probíhá mateřská buněčná zánětlivá reakce dříve a je zpravidla mnohem výraznější než reakce fetální (243, 279).

Přibližně v 70 % případů probíhá ascenze mikroorganismů při porušení plodových obalů buď arteficiálně při dirupci vaku blan, nebo spontánně při spontánním odtoku vody plodové. Zhruba ve 30 % případů probíhá ascenze mikroorganismů při uzavřeném děložním hrdle. Riziko infekce se zvyšuje zejména při odtoku vody plodové déle než 6 hodin před porodem. U rodiček s intervalem odtoku plodové vody kratší než 6 hodin byl pozorován zánět amnia v 11 %, zatímco u intervalu delším nežli 12 hodin to bylo v 75 % případů.

Spojovací článek mezi infekcí, histologicky prokázaným zánětem a klinickým obrazem představují zánětlivé cytokiny (19). Histologický průkaz akutního zánětu amniového typu koreluje se zvýšenou koncentrací interleukinu 1-beta, interleukinu 6 a 8, G-CSF (Granulocyte-

Colony Stimulating Factor) a TNF (Tumor Necrosis Factor) v pupečnickové krvi, popř. v plodové vodě (40, 41, 221).

Ascendující původci jsou fagocytováni makrofágy a byl aktivován monocytární neutrofilní systém (32). Buňkami vykazujícími antigen jsou v těchto případech buď makrofágy nebo buňky B, popř. dendritické buňky. K aktivaci buněk T dochází jen v tom případě, že jsou vedle specifického antigenu přítomny ještě další stimulující faktory. Důležité jsou jednotlivé funkce, které se týkají selektivního „zničení“ infikovaných buněk CD-8- pozitivními, cytotoxickými buňkami T, aktivace makrofágů prostřednictvím buněk TH 1 a aktivace buněk B prostřednictvím buněk TH 1 a TH 2. Posledně jmenované buňky vytvářejí různé typy protilátek pro humorální imunitní odpověď. Proto jsou v okamžiku porodu fetální lymfocyty i monocyty schopny produkovat relevantní koncentrace zánětlivých cytokinů (275). Cytokiny jako chemotaktické faktory vyvolávají migraci granulocytů do cervikální vazivové tkáně, uvolňují metaloproteinázy. Aktivované granulocyty secernují elastázu (PNM-E), lysozomální proteázu s depolymerizujícím účinkem na kolagen vazivové tkáně v oblasti plodového obalu, choriové plotny a Whartonova rosolu. Někteří autoři našli v mateřské i pupečnickové žilní krvi při histologickém průkazu zánětu amnia ve srovnání s těhotenstvími bez přítomnosti chorioamnionitidy významně zvýšené hodnoty PNM-E (169).

Enzymatické odbourávání kolagenu podporuje rychlé šíření zánětlivého procesu uvnitř stěny amniové dutiny. Rozšíření a intenzita zánětu přitom závisejí na druhu původců a na lokálních poměrech ve tkáni.

Typický je průběh zánětu plodových obalů, placenty a pupečnicku, který probíhá ve fázích a při němž rozlišujeme časnou reakci ze strany matky a později následující reakci ze strany plodu (33). Jako první lze pozorovat mateřské granulocyty v decidui a poté v plodovém obalu (amnionitis, popř. membranitis). Pocházejí z cév decidua parietalis nebo capsularis a pronikají postupně deciduou i amniovou vazivovou tkání volného plodového obalu. Intraplacentárně prostupují subchoriový fibrin a dostávají se do bezprostředně sousedící vazivové tkáně bazálních částí choriové plotny. Až do tohoto okamžiku infekce se jedná výhradně o reakci buněk matky.

Naproti tomu se celulární spolureakce plodu projevuje migrací fetálních granulocytů z cév choriové plotny a pupečnicku a – bez ohledu na některé výjimky – je vždy podmíněna infekcí. Plod je už od 14.–15. týdne těhotenství schopen reagovat na infekci tvorbou granulocytárního exsudátu. Při zánětu amniového typu je mnohonásobně zvýšena granulocytóza v játrech plodu. Je možné, že to způsobuje interleukin 8 z jater plodu, který cirkuluje ve fetálním oběhu. Rovněž monocyty novorozenců jsou schopny vytvářet a uvolňovat interleukin 8 (261).

Büscher (40, 41) prokázal u klinických příznaků syndromu amniové infekce významně zvýšené uvolňování IL-6 a IL-8 prostřednictvím CD3-pozitivních buněk novorozence.

Cytokiny aktivují produkci fosfolipáz ve vlastních buňkách a bakteriích. Tím je stimulován metabolismus kyseliny arachidonové v amniu a deciduálních buňkách a dochází k tvorbě prostaglandinů. Kromě toho indukují interleukiny syntézu prostaglandinů leukocyty. Intrauterinní koncentrace prostaglandinů významně stoupá. E2 stimuluje zrání cervixu a dilataci, a F2 indukuje kontrakci myometria. To objasňuje úzkou souvislost ascendující infekce a předčasného porodu (243, 253).

Na začátku zánětu amnia často lze prokázat infiltráty granulocytů a nekrózy jen ložiskově. To platí především o infekci plodové dutiny při ještě neporušeném vaku blan. Původci nejsou rovnoměrně rozděleni na různé úseky stěny amniové dutiny a analogicky nepravidelný je průkaz zánětlivé buněčné reakce. Tu lze podle literárních zdrojů nalézt nejdříve na volné stěně plodového obalu, v sousedství pólu plodového obalu.

Časový interval mezi začátkem zánětu v oblasti vnitřní branky hrdla děložního a vytvoření úplného obrazu zánětu amnia činí přibližně 12 až 24 hodin. Mateřská buněčná zánětlivá reakce probíhá zásadně dříve a je zpravidla mnohem výraznější než fetální reakce (28, 229, 230, 232, 242, 243). Je třeba také upozornit, že negativní bakteriální kultura ze stěru z amniové nebo choriové plotny nevylučuje infekční původ zánětu. , především v případech, kdy nebyly použity žádné speciální kultivační metody. Úplný obraz zánětu amniové dutiny může existovat, i když průkaz původce chybí. Zajímavé je, že morfologický substrát zánětu amnia zcela chybí nebo je vytvořen jen velmi diskrétně u zhruba dvou třetin případů infekcí streptokoky B a fudroyantně probíhající časnou novorozeneckou sepsí (7, 9, 10, 11, 34, 75, 81, 105, 121, 136, 151, 252, 288, 315).

#### *1.2.4.1 Histologicko – patologická klasifikace*

Pod pojem zánět placenty se zahrnují změny v samotné placentě, v plodových obalech a/nebo v pupečníku jako následek infekce nebo působení chemických látek. Histologicko – patologicky se rozlišuje zánět amniového typu a parenchymatosní zánět placenty.

**Zánět amniového typu** se může vyskytovat kdykoliv v průběhu těhotenství. Možné reakce závisejí na stáří těhotenství. Týkají se nekrózy buněk a tkání a rovněž exsudace a proliferace vazivové tkáně. Nekróza a proliferace jsou ekvivalenty zánětu, které převládají v obraze především v embryonálním a časném fetálním období, zatímco zánět s celulárním exsudátem se detekuje ve 2. a 3. trimestru. Jedná se o akutní granulocytární a zčásti nekrotizující zánět plodových obalů, choriové plotny a nebo pupečníku. Je vymezena vzácná

forma s nahromaděním makrofágů a lymfocytů a množením vlastních buněk vazivové tkáně ve stromatu plodového obalu.

Zánět se může týkat amnia, choriové plotny nebo pupečníku. V literatuře existuje pro tento stav mnoho synonym: *Amnionic sac infection syndrome* (33), *chorioamnionitis* (30, 31, 36), *intraamniotic infection nebo ascending infection* (71, 169). Protože proces nepostihuje vždy všechny součásti amniové dutiny rovnoměrně, používají se i další termíny:

- *Amnionitis* – zánět ve stromatu volného plodového obalu (synonymum: *membranitis*).
- *Choriová placentitis* – zánět vazivové tkáně choriové plotny (synonymum: *chorionitis*).
- *Vasculitis choriové plotny* – zánět větví alantoidních cév (synonymum: *fetal plate vasculitis*).
- *Omphalovasculitis* – zánět pupečnickových cév, žíla bývá zpravidla postižena dříve a více než artérie (*umbilical cord vasculitis*).
- *Funiculitis*, popř. *funisitis* – zánět Whartonova rosolu.

Při komplexním vyšetření placenty je používán také popis změn ve smyslu lokalizace (*staging*) a intenzity (*grading*) zánětu. V závislosti na lokalizaci procesu je rozlišován *minimální obraz* zánětu amnia, při němž je postižena pouze jedna oblast amniové dutiny, *částečný obraz* s postižením dvou oblastí a *úplný obraz* s buněčnými infiltráty ve všech oblastech amniové dutiny. V posledním případě tedy fetální granulocyty prostupují také stěnu pupečnickových cév a zčásti infiltrují Whartonův rosol (129, 133, 317, 318, 319).

Při vyšetření placenty je třeba vzít v úvahu také to, že granulocytární infiltráty mohou být i neinfekční etiologie, jako například při fetální acidóze, po odchodu mekoniumu, v důsledku přetáče a stáze v subchoriovém prostoru jako důsledek poruchy cirkulace v pupečnickových cévách. Zpravidla se týkají pouze jedné oblasti, například subchoriové fibrinové vrstvy nebo cirkulárního infiltrátu kolem pupečnickové žíly. Naproti tomu chybí amnionitida.

Placentární **zánět parenchymatózního typu** je charakterizován změnami v intervilózním prostoru a v klcích s průkazem celulárního exsudátu a/nebo exsudací následné proliferace vazivové tkáně. Jeho výskyt je popisován například při infekcích *cytomegalovirem (CMV)*, *treponema pallidum*, *Listeria monocytogenes*, *Toxoplasma gondii* a další. Rozlišuje se:

- *Intervilitis*, což jsou akutní, „pyemické“ tromby s četnými granulocyty v intervilózním prostoru. Možný je přesah zánětu s kolikvaci sousedních klků: *absces placenty*.
- *Perivilitis* – vilózní konglomeráty v důsledku intervilózního a perivilózního vylučování mikrofibrinu. Vilózní epitel je nekrotický, ve fibrinu se nacházejí četné

mateřské monocyty a granulocyty. Proces často přesahuje na vilózní stroma. Starší ložiska vykazují silnější proliferaci vlastních buněk stromatu. Konečné stadium perivilitidy vypadá jako mikroinfarkt s úplnou fibrinózní obliterací intervilózního prostoru a slepení fibrózně sklerotizovaných klků.

- *Vilitis* – celulární exsudát v klcích s postižením nebo bez postižení vilózních cév.

Na závěr je třeba zdůraznit, že druh zánětlivého procesu určuje přítomná intrauterinní infekce, morfologický obraz však není patognomonický pro určitou infekci. V klinické praxi je nutné nezaměňovat termín „chorioamnionitis“ za termín „infekce plodu a novorozence“ (80, 116, 144, 145, 183, 264, 313).

### **1.2.5 Rizikové faktory**

Ze strany matky i plodu dítěte existuje celá řada rizikových faktorů, které mohou přispět k rozvoji intraovulární infekce.

Lze je rozdělit na faktory nezdravotní a zdravotní.

Mezi nezdravotní faktory bývá řazen nízký socioekonomický status těhotné ženy, s níž často souvisejí nevhodné hygienické návyky ženy, způsob výživy, abusus psychotropních látek atd. Výraznou negativní úlohu může hrát také sexuální život ženy, a to především promiskuita, prostituce atd. Některými autory je zmiňována také parita a věk ženy.

Ze zdravotních faktorů hrají významnou patogenetickou úlohu klinické stavy, jako je předčasný odtok vody plodové, předčasný porod, insuficience hrdla děložního, přítomnost vulvovaginitidy, infekce močových cest (a to cystitidy i pyelonefritidy), fokální ložiska zubního původu či z Waldeyerova okruhu atd. Rizikovým faktorem je pozitivní výsledek kultivace například na chlamydie, mykoplazmata, streptokoky skupiny B (GBS) a další. Samostatnou kapitolou je pak otázka bakteriální vaginózy (296, 297). Intrapartálními rizikovými faktory jsou protrahovaný porod, časté vaginální vyšetřování, nitroděložní hypoxie plodu, a další.

Plodové vejce je před infekcí chráněno několika bariérovými mechanismy a plod se vyvíjí ve sterilním prostředí. Mezi hlavní obranné faktory patří vaginální mikroflóra, hlenová zátka v hrdle děložním, imunitními faktory hrdla děložního, mechanická bariéra tvořená plodovými obaly, vlastnosti placenty a složení plodové vody.

Obranná funkce placenty úzce souvisí s funkčností kapilárního řečiště. Epitel choriových klků má baktericidní účinek, syncytium je bohaté na proteolytické enzymy. Nebezpečné jsou z tohoto pohledu placentární infarkty. Navíc trofoblast vytváří receptory pro vazbu

transferinu, tím se snižuje možnost ukládání železa, které je důležité pro život bakterií. Platí pravidlo, že čím je placenta mladší, tím jsou obranné mechanismy výraznější.

Obranné mechanismy plodové vody jsou dány tím, že plodová voda obsahuje lysozym, transferin, imunoglobuliny, zinek a další látky, které mají bakteriostatické účiny.

Jakmile dojde k narušení těchto bariér a infekci plodového vejce, dojde většinou i k infekci plodu. Obranné mechanismy, kterými plod reaguje na intrauterinní stresové prostředí, spočívají především v zánětové reakci spojené mimo jiné s tvorbou cytokinů ve smyslu FIRS (37, 92, 119, 240, 241, 254).

#### 1.2.5.1 Mikrobiální osídlení pochvy

Jedním z hlavních obranných mechanismů vaginální mikroflóry je rovnováha endogenní flóry tvořené směsí aerobních a anaerobních mikroorganismů. Jak již bylo řečeno, zásadní úloha v regulaci endogenní poševní flóry je přisuzována laktobacilům (kapitola 1.1.1). Pokud dojde z nejrůznějších příčin k narušení této křehké rovnováhy, dojde ke klinické manifestaci zánětu. I mikroorganismy asymptomaticky osidlující pochvu se za určitých změněných podmínek mohou stát vyvolavateli poševních zánětů. V této souvislosti se používá termín *kolonizace* pochvy daným mikroorganismem.

Klinickým projevem poševních infekcí bývá obvykle různě zbarvený výtok (fluor) někdy doprovázený svěděním, pálením, bolestmi nebo zápachem. Na druhou stranu však samotný fluor ještě nemusí být jednoznačnou známkou vaginální infekce.

Gravidita je specifická tím, že v ženském organismu dochází k bouřlivým hormonálním změnám (zvýšení estrogenu) a tak mimo jiné také ke zvýšení množství glykogenu obsaženého v buňkách poševního epitelu, který je substrátem pro tvorbu kyseliny mléčné laktobacily. Fyziologicky vyšší je i transudace poševními stěnami a hlenotvorba v endocervixu. Proto je léčba vaginálního fluoru doporučena jen při klinických potížích.

Specifické pro graviditu je, že u všech těhotných žen je v 36. týdnu těhotenství povinně prováděno skriningové kultivační vyšetření poševního sekretu zaměřené na detekci *Streptococcus agalactiae* (GBS).

Mezi nejčastější kultivační nálezy, které podle klinické situace mohou vyžadovat lokální nebo celkovou terapii, patří průkaz *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*. V některých nejednoznačných situacích, zvláště při podezření na bakteriální kontaminaci při provádění odběru, může pomoci opakované kultivační vyšetření (299).

Hlavní význam poševních infekcí v graviditě spočívá především v tom, že mohou významně přispět k rozvoji syndromu předčasného porodu a k předčasnému odtoku plodové vody. Je prokázáno, že 30–40 % předčasných porodů má infekční etiologii.

Antibiotická profylaxe době porodu je prováděna u rizikových skupin, jakými jsou rodičky s předčasným porodem před 37. týdnem těhotenství, předčasným odtokem plodové vody více nežli 12 hodin před porodem a rodičky s pozitivním výsledkem kultivace pochvy či moči na přítomnost GBS. Také ženám s febriliemi za porodu jsou antibiotika podávána. V této situaci však často v době porodu výsledek kultivace z pochvy neznáme.

O výsledku kultivačního vyšetření pochvy a případně hrdla děložního by měl včas být informován neonatolog (35, 52, 112, 192).

#### *1.2.5.1.1 Bakteriální vaginóza*

Bakteriální vaginóza (BV) je syndrom, který je charakterizováno poklesem počtu aerobních laktobacilů, vzestupem počtu anaerobních laktobacilů a obligátních anaerobů, Gardnerel a Mykoplasmat a převážně anaerobních bakterií, Bacteroides, Peptostreptococci a Mobiluncus. Jsou přítomny klíčové buňky, četné bakterie a chybí leukocyty. Jedná se tedy o polymikrobiální stav, při kterém se zvyšuje poševní pH, klesá počet laktobacilů a 100 násobně i víckrát se zvyšuje koncentrace jiných organismů. Nejedná se o zánět, ale o dysmikrobii.

Nejčastějším příznakem při BV je zapáchající výtok a mírné svědění nebo pálení vulvy. Často však mohou tyto příznaky mohou chybět.

Pro diagnostiku BV byla stanovena klinická kritéria. Musí být splněna minimálně 3 ze 4 následujících kritérií:

- řídký homogenní výtok, který lpí na poševních stěnách, ale je lehce stíratelný,
- poševní pH vyšší než 4,7,
- přítomnost „klíčových buněk“,
- pozitivní test s KOH (rybí zápach).

V poslední době však bylo prokázáno, že pro diagnózu BV je dostatečná přítomnost klíčových buněk a pozitivní test s KOH.

V řadě studií byla prokázána souvislost BV s předčasným porodem a s poporodními infekčními komplikacemi u rodiček. Její výskyt u těhotných žen se udává v intervalu 15–20 %.

Otázka možné léčby BV v těhotenství je sporná. Prokázalo se, že lokální léčba nesnižuje incidenci předčasných porodů. V úvahu připadá lokální aplikace klindamycinu ve formě krému (125, 174, 278, 283).

#### *1.2.5.2 Předčasný odtok vody plodové*

Plodová voda plní v těhotenství a za porodu mnoho významných funkcí. Vak blan spolu s plodovou vodou především chrání plod proti zevním inzultům a proti vniknutí infekce do plodového vejce. Vak blan obvykle puká za porodu, nejčastěji v I. době porodní, což se projeví odtokem plodové vody.

Jako předčasný odtok vody plodové je označován stav, kdy dojde k spontánnímu odtoku vody plodové ještě před začátkem porodu, tedy bez přítomnosti děložních kontrakcí. Často bývá předčasný odtok vody plodové označován zkratkou PROM (premature rupture of the membranes). Tento termín bývá některými autory používán pouze pro odtok vody plodové po ukončení 37. týdnu těhotenství. Pokud voda plodová odteče před 37. týdnem těhotenství, bývá tento stav označován jako pPROM (preterm premature rupture of the membranes).

Literárně udávaná incidence PROM se pohybuje mezi 4–14 % těhotenství. U pPROM, tedy předčasného odtoku vody plodové před 37. týdnem těhotenství, se udává incidence mezi 2–3 %. Asi 30–40 % předčasných porodů začíná předčasným odtokem vody plodové. Rozdílné údaje jsou způsobeny především různými metodami použitými ke stanovení diagnózy PROM, demografickými charakteristikami zkoumané populace nebo typem studií.

Příčiny a patogeneze předčasného odtoku vody plodové mají multifaktoriální charakter. Jedná se o kombinaci účinku fibronektinu, metaloproteináz, cytokinů a elastázy granulocytů, dochází k destrukci plodových blan a také ke zvýšení syntézy prostaglandinů, a tím následně i k vyvolání porodu.

Předčasný odtok plodové vody se obvykle projeví trvalým světlým vodnatým výtokem z pochvy, který může, ale nemusí být velmi hojný. Někdy mohou být v odtékající plodové vodě přítomny stužky krve. Děložní kontrakce nejsou přítomny. Pokud je plodová voda zkalená, zapáchá nebo je krvavá, může to signalizovat závažnou přidruženou komplikaci.

Po odtoku plodové vody nastává různě dlouhá latentní fáze, která trvá do nástupu aktivní fáze porodu. Dochází ke kontaktu naléhající části plodu a oblasti vnitřní branky. To vede ke zvýšení sekrece endogenních prostaglandinů a aktivací Frankenhauserova ganglia k vyvolání



Fergussonova reflexu, který vede ke zvýšené sekreci oxytocinu z hypofýzy, a tak k nástupu děložních kontrakcí.

K rizikovým faktorům předčasného odtoku vody plodové patří:

- Infekce genitálního traktu ženy (*Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, streptokoky skupiny B (GBS), další pohlavně přenosné choroby (STD)
- Bakteriální vaginóza
- Předčasná děložní činnost
- Vícečetná těhotenství
- Vaginální krvácení v současné graviditě
- Předčasný porod v anamnéze
- PROM v minulé graviditě
- Spontánní potrat ve II. trimestru v anamnéze
- Inkompetence hrdla děložního
- Placenta praevia a poruchy placentace
- Polyhydramnion
- Vrozené vývojové vady dělohy
- Stav po výkonech na hrdle děložním (konizace, cerkláž)
- Koitus
- Nízký socioekonomický status spojený se špatnou výživou
- Kouření cigaret

Největším rizikem plynoucím z předčasného odtoku plodové vody je pro matku možná infekce, i když závažné mateřské důsledky nebývají časté.

K rizikům předčasného odtoku plodové vody pro plod patří především infekční komplikace, prematurita (nezralost) spojená s riziky RDS (respiratory distress syndrome), intraventrikulárního krvácení, nekrotizující enterokolitidy atd. Další možnou komplikací je komprese (stlačení) pupečníku, děložní apozice, u oligohydramnia až anhydramnia možný vznik deformit končetin či obličeje, nebo vznik plicní hypoplazie. PROM může vést také k nitroděložnímu úmrtí plodu.

Správná a včasná detekce odtoku plodové vody má zcela zásadní význam pro další vývoj těhotenství. Opožděné stanovení diagnózy může znamenat promarněnou příležitost pro

vhodnou intervencí. Ve většině případů nečiní diagnostika větší obtíže, v některých situacích ale nemusí být snadné správnou diagnózu stanovit

K základní diagnostickým metodám detekce PROM patří:

- Klinické vyšetření – při vyšetření vizualizujeme odtékající plodovou vodu. Při vaginálním vyšetření je v zrcadlech patrné její nahromadění v zadní klenbě.
- Temesvaryho zkouška – je založena na změně kyselého pH pochvy na zásadité při odtoku plodové vody. Dochází k modrozelenému zbarvení činidla – bromthymolu. Někdy je nutné provádět tuto zkoušku opakovaně. Při nejistotě je některými autory doporučováno zavedení tampónu do zadní klenby a opakování zkoušky s časovým odstupem. Výsledek může někdy ovlivnit také typ použité vložky.
- Falešně pozitivní výsledek může být při přítomnosti krve, spermatu, při použití alkalických antiseptik nebo při bakteriální (nespecifické) vaginóze. Falešně negativní výsledek může být naopak například při anhydramniu.
- Ultrazvukové vyšetření – jde o orientační vyšetření ke stanovení množství plodové vody. Nález oligohydramnia či anhydramnia má vyšší výpovědní hodnotu. V některých případech se toto vyšetření provádí opakovaně.

Mezi méně časté nebo nepoužívané metody detekce PROM dále patří:

- PROM-test – je vysoce citlivá a specifická metoda s použitím detekčního proužku. Test je založen na stanovení IGFBP-1 (insulin-like growth factor binding protein-1), jehož koncentrace v plodové vodě je 100–1000krát vyšší než v séru matky a za normálních okolností není v pochvě přítomen. Nevýhodou je však vysoká cena testu. Proto je užíván především při diagnostické nejistotě před zásadním rozhodnutím především u předčasných porodů.
- Stanovení pH indikačním papírkem – pH pochvy je 4,5–6,0, zatímco pH plodové vody se pohybuje mezi 7,1–7,3. Metoda se však běžně nepoužívá, protože je zatížena nízkou specificitou.
- Kittrichův test (mikroskopické vyšetření pomocí nilské modři), krystalizační test na sklíčku (využívající arborizačního fenoménu) a průkaz lanuga v nativním nátěru se již pro časovou náročnost nebo nízkou citlivost nepoužívají.

Při subjektivním podezření těhotné ženy na odtok plodové vody je nutné diferenciatně diagnosticky vzít v úvahu i další alternativy, jako například excesivní vaginální výtok (fluor), únik moči, sperma nebo krvácení.

Základním opatřením při odtoku plodové vody je hospitalizace. Během ní pak probíhají další vyšetření:

- Komplexní gynekologické příjmové vyšetření s ověřením odtoku plodové vody.
- V případě přítomnosti stehu cerkláže je nutno steh odstranit.
- Ultrazvukové vyšetření, kde je určena poloha plodu (plodů), biometrie, množství plodové vody a vyšetření je doplněno o flowmetrické vyšetření.
- Kardiotokografický záznam (CTG) k vyloučení distresu plodu.
- Laboratorní stanovení infekčních markerů z periferní krve matky (leukocyty, C-reaktivní protein – CRP), někdy, ale nikoli běžně, cytokiny (IL-6, TNF- $\alpha$ ). Pokud nedojde k porodu, opakují se tato vyšetření v intervalu 12 hodin.
- Mikrobiologické vyšetření s odebráním kultivace z hrdla a z pochvy (nejlépe aerobní i anaerobní). U předčasných porodů nebo při pozitivitě infekčních markerů by měly být odebrány vždy.
- Opakovaná kontrola celkového stavu rodičky včetně měření hodnot vitálních funkcí, zvláště pulsu a tělesné teploty.
- Opakovaná kontrola stavu plodu.

Při rozhodování o dalším postupu je nutné vzít v úvahu především gestační stáří plodu, jeho polohu, intrauterinní stav plodu a stav matky. Platí zásada, že vaginální vyšetření omezujeme kvůli snížení rizika infekce na nejmenší možnou míru. Ke klinickým známkám infekce patří zvýšení teploty nad 38 °C, tachykardie matky, tachykardie plodu (tu je však třeba hodnotit s ohledem na gestační stáří plodu), nereaktivní kardiotokogram (zde rovněž platí nutnost hodnocení CTG se zřetelem na gestační stáří plodu, protože extrémně nezralé plody do 28. týdne těhotenství mívají nereaktivní záznamy fyziologicky), vzácně pak palpační bolestivost dělohy.

Přístup k těhotenství s prokázaným odtokem vody plodové je možno rozdělit na aktivní a expektační (vyčkávací). Aktivní postup je užíván především při známkách infekce či při kolonizaci matky streptokoky skupiny B (GBS). V těchto případech je nutné ihned aktivně přistoupit k vedení porodu, přičemž indukci porodu při PROM označujeme jako provokaci. Expektační postup je volen v případech předčasných porodů před 34. týdnem za podmínky, že

nejsou přítomny známky infekce ani jiný stav vyžadující okamžité ukončení těhotenství. Cílem je získat čas na aplikaci kortikosteroidů (indukce plicní zralosti plodu), a tak se pokusit snížit riziko novorozenecké mortality a morbidit. Frekvence a rozsah doporučených vyšetření a způsob podávání tokolytik, antibiotik a kortikoidů, se řídí doporučeným postupem Perinatologické sekce ČGPS ČL JEP (181).

Způsob vedení porodu je přísně individuální. Při kontraindikaci k vaginálnímu vedení je indikováno ukončení těhotenství elektivním císařským řezem (35, 39, 42, 50, 84, 99, 141, 175, 178, 179, 249, 298, 301, 308).

### *1.2.5.3 Předčasný porod*

Předčasný porod představuje jeden z nejožehavějších problémů moderní perinatologie. Je definován jako porod, ke kterému dojde před ukončeným 37. týdnem těhotenství. Jeho incidence v ČR se v současnosti pohybuje nad 6 %. Vzhledem k multifaktoriální povaze hovoříme obvykle o syndromu předčasného porodu.

S předčasným porodem úzce souvisí termín viabilita plodu, to znamená schopnost plodu po porodu přežít. V ČR je v současné době za tuto hranici považován ukončený 24. týden těhotenství (24+0).

Předčasný porod bývá dělen na spontánní (70 %) a iatrogenní (30 %). Podle klinického stavu pak u spontánního předčasného porodu klasicky rozlišujeme partus praematurus imminens (hrozící), incipiens (počínající) a in cursu (v běhu).

Hlavními riziky spojenými s předčasným porodem jsou z pohledu novorozence perinatální mortalita a morbidita, dále kojenecká morbidita a je třeba nezapomínat ani na mateřskou morbiditu. Nejrizikovější jsou především extrémně a těžce nezralí novorozenci narození před 30. týdnem těhotenství s velmi nebo extrémně nízkou porodní hmotností (méně než 1500 g respektive 1000 g).

### **Příčiny předčasných porodů se dělí na nepřímé a přímé.**

*Mezi nepřímé patří:*

- Zatížená porodnická anamnéza
- Socio-ekonomický status
- Chování matky
- Zevní prostředí

- Tělesná charakteristika matky
- Věk těhotné

*Mezi přímými pak nejčastěji bývají uváděny:*

- Poruchy placentace a funkce placenty (30–50 %)
- Intrauterinní infekce (20–38 %)
- Imunologické příčiny (20–30 %)
- Inkompetence hrdla děložního (8–16 %)
- Abnormality dělohy, jako jsou například stavy po operacích na děloze, vrozené vývojové vady dělohy, děložní myomy (6–14 %)
- Mateřské příčiny jako malnutrice, celková onemocnění (10 %)
- Trauma, operace (8 %)
- Abnormality plodu (6 %)
- Vícečetná těhotenství (6 %)
- Neobjasněné příčiny (8 %)

Možnosti predikce předčasného porodu jsou velmi problematické. Používané diagnostické metody mají totiž nízkou pozitivní prediktivní hodnotu (okolo 20 %), to znamená, že zbytečně léčíme 80 % žen. Na druhou stranu je ale nutno zmínit i skutečnost, že tyto metody mají i vysokou negativní prediktivní hodnotu (okolo 95 %), tedy relativně velmi přesně určí ženy, které skutečně předčasně neporodí.

Diagnóza předčasného porodu se opírá především o přítomnost děložních kontrakcí a progresi cervix skóre (CS). Objektivní posouzení je ale často problematické.

*Diagnóza předčasného porodu je obvykle stanovena na základě:*

- Subjektivních potíží těhotné
- Progrese CS
- Kontrakcí zachycených palpačně nebo kardiokograficky (CTG)
- Prokázání subklinická infekce (vaginální nebo močových cest, například asymptomatické bakteriurie)
- Klinické infekce (zvýšení C-reaktivního proteinu (CRP) a leukocytů u matky)

- Vyšetření fetálního fibronektinu (při jeho přítomnosti v cervikovaginálním sekretu po 24. týdnu lze za 3–5 týdnů očekávat předčasný porod) – vyšetření však není běžně prováděno
- Ultrazvukové cervikometrie (průkaz funnellingu)

*Základními léčebnými postupy u předčasného porodu jsou:*

- Tokolýza ( $\beta$ -mimetika, antagonisté oxytocinu, magnézium, progesteron a další)
- Antibiotika (podle doporučení perinatologické sekce ČGPS nebo antibiotického centra konkrétní nemocnice)
- Indukce plicní zralosti plodu (kortikoidy)
- Transport plodu in utero (centralizace do perinatologických a intermediárních center od 23. respektive 32. týdne těhotenství)
- Individuální přístup k rodičce
- Režimová opatření

Způsob vedení předčasného porodu je vždy individualizován a rozhoduje o něm zkušený porodník. Velice úzká je zde spolupráce porodníka s neonatologem (45, 107, 164, 215, 216, 235, 246, 257, 300, 316).

### **1.2.6 Klinický obraz perinatálních infekcí**

Nejčastější formou klinické manifestace intraamniální infekce je v literatuře používaný termín ***syndrom infikovaného amnia***. Jeho definice vychází z prací německých autorů (311, 317, 318). Jde o jednu z forem infekce plodu a novorozence způsobených bakteriemi kolonizujícími vagínu. Jedná se tedy o endogenní infekci, která přechází ascendentní cestou k plodu. Porušení plodových obalů není pro jeho rozvoj podmínkou.

Základním diagnostickým kritériem syndromu infikovaného amnia je charakteristický histologický nález na placentě, v plodových obalech nebo v pupečníku, takzvaný ***zánět amniového typu*** (317, 318).

Syndrom infikovaného amnia probíhá patogeneticky ve čtyřech stádiích (311, 317, 318). První je vznik infekce ve vagíně a pronikání mikroorganismů do cervixu. Ve druhém stádiu dochází ke kolonizaci cervixu a průchodu patogenů do decidui a choria. Ve třetím stádiu se infekce šíří na plodové obaly a v plodové vodě. Ve čtvrtém stádiu dochází aspirací, polykáním a cévní cestou k přestupu infekce z infikované plodové vody do plodu.

Jedním z nejdůležitějších predisponujících faktorů rozvoje syndromu infikovaného amnia patří předčasný odtok vody plodové. Další rozvoj perinatální infekce souvisí s tím, že se plod ohrožený infekcí dostává do stresové situace, přičemž jediným řešením se pro něj stává opuštění dělohy, tedy porod (230).

Z hlediska infekcí novorozence lze za nejdůležitější rizikové faktory považovat *prematunitu* (čím je plod nezralejší, tím větší je nebezpečí vzniku infekce, a to primárně proto, že imunitní stav plodu není vyzrálý, ale i sekundárně v důsledku intenzivní komplexní péče, kterou dítě často po porodu prochází), předčasný odtok plodové vody delší než 18 hodin a mateřskou kolonizaci streptokoky skupiny B (GBS) (13, 14, 54, 96, 103, 147, 164, 199, 220, 306, 309).

#### 1.2.6.1 Maternální syndrom infikovaného amnia

Jednotkami uváděnými v souvislosti se syndromem infikovaného amnia je *riziko maternálního syndromu infikovaného amnia (RMSIA)*, jehož vznik předpokládáme například při předčasném odtoku plodové vody nebo při pozitivním kultivačním nálezu z hrdla děložního (např. GBS). Zde však nejsou přítomny klinické projevy infekce.

*Maternální syndrom infikovaného amnia (MSIA)* se projevuje u matky zvýšením tělesné teploty nad 37,5 °C, zvýšením počtu leukocytů v periferní krvi matky nad 15 000/mm<sup>3</sup>, vyšší hladinou CRP > 2,0 mg/dl, bolestivou palpací dělohy nebo odtokem zkalené vody plodové. U plodu pak v takových situacích často zjišťujeme tachykardii a nízké skóre při biofyzikálním profilu (8, 132, 258).

#### 1.2.6.2 Fetální syndrom infikovaného amnia

U *rizika fetálního syndromu infikovaného amnia (RFSIA)* lze předpokládat infekční komplikace plodu, které se mohou projevit intrauterinně i postnatálně. Nejsou zde však přítomny klinické ani laboratorní známky infekce. K těmto situacím patří například dlouho odteklá plodová voda, febrilie u matky, předčasný porod.

*Fetální syndrom infikovaného amnia (FSIA)* se může projevit jako tzv. *Fetal Inflammatory Response Syndrom (FIRS)* (92).

Z patogenetického hlediska je nutné zdůraznit tři nejdůležitější rizikové faktory:

- Prematurita – čím větší je prematurita, tím větší je nebezpečí vzniku infekce, a to primárně proto, že imunitní stav plodu není vyzrálý, ale i sekundárně v důsledku intenzivní komplexní péče, kterou dítě často po porodu prochází
- Chorioamnionitis

- Předčasný odtok plodové vody delší než 18 hodin
- Mateřská kolonizace GBS (55, 60, 65, 86, 149, 158, 168, 176, 264)

### 1.2.6.3 Časná novorozenecká seps

Novorozenecká seps je definována jako systémová odpověď organismu na infekci (195, 196, 197, 217). Průběh seps má tři stupně: seps, těžká seps a septický šok. Jedná se o výsledek systémové infekce. Předpokladem je bakteriémie, při níž pronikají původci do krevního řečiště intermitentně nebo kontinuálně.

Podle začátku seps se rozlišuje časná (Early-onset neonatal seps), která se projeví většinou do 24 hodin po porodu, a pozdní (Late-onset neonatal seps), která se projeví později.

Časná novorozenecká seps je nejčastěji následkem perinatální infekce plodu, nejčastěji v rámci intraovulární infekce. Infekce plodu je často způsobena aspirací nebo polknutím infikované plodové vody. K primární nákaze plodu však může dojít až během porodu při průchodu porodními cestami.

Závažnost a průběh seps jsou určovány druhem, množstvím a virulencí původců, lokalizací a rozsahem primárního ložiska, a imunitním stavem organismu. Nejčastějšími původci časně novorozenecké seps jsou *Streptococcus agalactiae* a některé kmeny *Escherichia coli*.

Klinický obraz novorozenecké seps souvisí s obdobím, kdy je tato diagnostikována. Pro prognózu novorozence se sepsí je nejdůležitější skutečně včasná diagnóza. Pro diagnózu seps u novorozenců je nutné využít údaje anamnestické, klinické i laboratorní (14, 22, 47, 62, 66, 83, 90, 162, 163, 171, 182, 222, 284, 302, 305).

#### 1.2.6.3.1 Riziko časně novorozenecké seps

Snaha identifikovat včas novorozence ohrožené časnou novorozeneckou sepsí a umožnit tak jejich rychlou, i když v první fázi ne cílenou léčbu, vedla některé autory k definici tzv. *rizika časně novorozenecké seps*. Tu definovali především na základě poměrně širokého spektra laboratorních vyšetření (123, 126, 150, 172, 173, 188). V naší práci jsme vycházeli z práce Martinové a kol. z roku 2001 (172).



### 1.3 Cytokiny a další mediátory zánětu

Cytokiny jsou sekreční regulační proteiny a glykoproteiny, které kontrolují přežívání, růst, diferenciaci a efektorové funkce somatických buněk. Jejich nejdůležitější funkcí je regulace imunitních dějů a zajištění homeostázy za normálních i patologických podmínek. Mezi cytokiny řadíme skupiny látek označovaných jako růstové faktory, kolonie stimulující faktory, interleukiny, lymfokiny, monokiny, chemokiny a interferony (281).

O významu cytokinů v patogenéze intraamniálních infekcí referuje celá řada prací. Zánětlivé cytokiny hrají klíčovou úlohu v mechanismu rozvoje předčasného porodu. Hlavní pozornost je v této souvislosti věnována zánětlivým cytokinům IL-1 $\alpha$ ,  $\beta$  (interleukin-1), IL-6 a TNF- $\alpha$ ,  $\beta$  (tumor necrosis factor), dále IL-8, což je chemokin strukturálně podobný prozánětlivým cytokinům, a lymfocyty produkovanému lymfokinu IL-2. Současný pohled na ascendentní intraamniální infekci je zhruba takový, že mikroorganismy dosáhnou decidui a tam stimulují lokální zánětlivou reakci spojenou s produkcí mediátorů zánětu a prozánětlivých cytokinů. Pokud tento signál není dostatečně silný, aby vyvolal porod, mikroorganismy mohou i při neporušených plodových obalech proniknout do amniové dutiny. Tam způsobí další produkci mediátorů zánětu. V konečné fázi mohou mikroorganismy proniknout i do plodu a způsobit u něj systémovou zánětovou reakci (FIRS).

Důležitý je také údaj, že prozánětlivé cytokiny u termínových gravidit neprocházejí placentou (1).

Celá cytokinová síť je však natolik komplikovaná a složitá, že její podrobnější popis by přesahoval rámec tématu disertační práce. Proto zde uvádím jen ty mediátory, které se zvoleného tématu nejvíce týkají (205, 218).

#### 1.3.1 Interleukin – 1 (IL-1)

IL-1 je zánětlivý cytokin produkovaný hlavně aktivovanými makrofágy a periferními neutrofilů. Produkovat jej však mohou i buňky hladkých svalů, astrocyty, fibroblasty, keratinocyty, T, B i NK buňky. Syntézu IL-1 podporují jiné cytokiny, endotoxiny, viry, mitogeny a antigeny, a inhibují prostaglandin E2, kortikosteroidy, lipoproteiny, lipidy, alfa-2-makroglobulin. IL-1 má pleomorfní účinek, účinkuje jako významný endogenní pyrogen, uplatňuje se v řadě intercelulárních regulačních dějů, jako je například stimulace produkce a sekrece IL-2 a dalších cytokinů a adhezivních molekul, stimulace aktivace a diferenciaci NK buněk, fibroblastů a thymocytů atd (150).

IL-1 se účastní i rozvoje spontánního předčasného porodu spojeného s infekcí. Důkazy pro toto tvrzení vychází z toho, že:

- IL-1 je při bakteriální ascenzi v rámci zánětlivé odpovědi produkován deciduou
- IL-1 stimuluje kaskádu syntézy prostaglandinů v amniu a decidui
- Koncentrace IL-1 v plodové vodě se u žen s předčasným porodem spojeným s infekcí zvyšují
- IL-1 je schopen stimulovat myometriu ke kontrakcím
- Aplikace IL-1 při pokusech na zvířatech vyvolá předčasný porod, který je možná zastavit aplikací jeho přirozeného antagonisty IL-1 receptor antagonist (IL-1 ra)

### ***1.3.2 Interleukin – 6 (IL-6)***

IL-6 je indukován zvýšenou hladinou IL-1 a TNF- $\alpha$ , se kterými dále synergizuje. Syntéza IL-6 probíhá v různých buňkách: monocytch, fibroblastech, endoteliálních buňkách, keratinocytech, T-buňkách a mnohých tumorových buňkách. Má dva typy působení. První je prozánětlivé, kde funguje jako „poplachový signál“ a účastní se indukce syntézy proteinů akutní fáze; druhá je pak regulační, kde funguje jako diferenciační faktor pro B-lymfocyty, aktivační a diferenciační faktor pro T lymfocyty.

Jeho zvýšené sérové koncentrace se objevují u sepsí, autoimunitních onemocnění, lymfomů, AIDS, rejekcí transplantátů aj. V kombinaci s dalšími ukazateli je využíván k časné diagnostice novorozenecké sepse.

V literatuře je opakovaně zdůrazňován význam cytokinu IL-6 v patogeneze FIRS jeho vztah k spontánnímu předčasnému porodu vyvolanému intraovulární infekcí (61, 87, 92, 111, 150, 160, 260, 266).

### ***1.3.3 Interleukin – 8 (IL-8)***

IL-8 je chemokin, jehož hlavním zdrojem jsou monocyty. Dále je produkován endoteliálními, epiteliálními a hepatálními buňkami, fibroblasty a chondrocyty. Jeho produkci mimo jiné stimuluje IL-1, TNF-alfa a viry. Jeho nejdůležitější funkcí je chemotaxe neutrofilů. IL-8 hraje hlavní roli při mnoha zánětlivých onemocněních, zvýšené koncentrace se objevují u psoriázy, cystické fibrózy, idiopatické plicní fibrózy, revmatoidní artritidy atd.

IL-8 se hraje důležitou úlohu při rozvoji intraamniální infekce. Byla pospána jeho vyšší hladina u plodů s FIRS (124, 259).

### **1.3.4 Tumor nekrotický faktor alfa (TNF- $\alpha$ )**

TNF- $\alpha$  je řazen mezi cytokiny. Je produktem četných buněk, monocytů, T-lymfocytů, makrofágů a NK buněk. Jeho působení je výrazně prozánětlivé a imunoregulační. Jeho úloha v organismu spočívá v regulaci exprese dalších cytokinů, receptorů a proteinů akutní fáze. Účastní se také v procesech apoptózy, buněčné proliferace a diferenciaci, boje proti infekci a při eliminaci nádorových buněk

TNF- $\alpha$  se také účastní procesu rozvoje předčasného porodu následujícími mechanismy:

- Stimuluje syntézu prostaglandinů v amniu, decidui a myometriu
- Je produkován deciduou jakou součástí odpovědi na bakteriální infekci
- Jeho hladiny a imunoreaktivita jsou u žen s předčasným porodem zvýšeny
- TNF- $\alpha$  se účastní zrání děložního hrdla
- Jeho účast při mechanismu nástupu předčasné děložní činnosti byla prokázána na zvířecích modelech
- Zvýšení TNF- $\alpha$  v plodové vodě bylo významným prediktorem předčasného porodu (208, 267)

### **1.3.5 Solubilní intercelulární adhezivní molekula – 1 (sICAM-1)**

Intercelulární adhezivní molekula – 1 (ICAM-1) je transmembránový glykoprotein, který je v nízkých koncentracích trvale přítomen na membránách leukocytů a endoteliálních buněk. Koncentrace ICAM-1 se výrazně zvyšuje při zánětlivé odpovědi, a to především působením IL-1 a TNF- $\alpha$ . ICAM-1 funguje jako ligand pro integrin, což je membránový receptor na povrchu leukocytů. Jejich kooperací je umožněna adheze leukocytů na endotel a poté jejich přestup do tkání.

Podle některých studií je hladina sICAM-1 u rodičky s PROM důležitější marker intraaminální infekce nežli vyšetření CRP. Pro diagnostiku časně novorozenecké sepse se názory na její vyšetřování různí (38, 64, 184, 330).

## 2. HYPOTÉZY A CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Na začátku přípravy klinické studie, která je podkladem mé disertační práce, byly stanoveny následující hypotézy:

H1: V genitálním traktu rodiček existuje konkrétní mikrobiální kmen, jehož nález zvyšuje riziko PROM nebo pPROM.

H2: V genitálním traktu rodiček existuje konkrétní mikrobiální kmen, jehož nález zvyšuje výskyt chorioamnionitis.

H3: V genitálním traktu rodiček existuje konkrétní mikrobiální kmen, jehož nález přispívá ke zvýšení rizika časně novorozenecké sepse u novorozence.

H4: Histologický průkaz chorioamnionitis zvyšuje riziko časně novorozenecké sepse.

H5: Mediátory zánětu IL6, IL-8, TNF- $\alpha$  a sICAM-1 v pupečnickové krvi lze použít jako markery rizika časně novorozenecké sepse.

Pro naplnění uvedených hypotéz byly stanoveny následující cíle:

1. Vyšetřit a zhodnotit frekvenci a kvalitu aerobní mikrobiální flóry genitálního traktu rodiček
2. Zhodnotit vztah mikrobiálního osídlení genitálního traktu rodičky k PROM a pPROM
3. Zhodnotit vztah mikrobiálního osídlení genitálního traktu rodičky k rozvoji intraamniální infekce na základě histologického vyšetření placenty
4. Vyšetřit hladiny interleukinu 6 (IL-6), interleukinu 8 (IL-8), tumor nekrotického faktoru alfa (TNF- $\alpha$ ) a solubilní intercelulární adhezivní molekuly-1 (sICAM-1) ve venózní pupečnickové krvi bezprostředně po porodu
5. Zhodnotit vztah hladin interleukinu 6 (IL-6), interleukinu 8 (IL-8), tumor nekrotického faktoru alfa (TNF- $\alpha$ ) a solubilní intercelulární adhezivní molekuly-1 (sICAM-1) v pupečnickové krvi k mikrobiálnímu osídlení genitálního traktu rodičky, k PROM a k histologickým nálezům při vyšetření placenty
6. Vypočítat senzitivitu a specifitu nálezu „patologických“ hodnot interleukinu 6 (IL-6), interleukinu 8 (IL-8), tumor nekrotického faktoru alfa (TNF- $\alpha$ ) a solubilní intercelulární adhezivní molekuly-1 (sICAM-1) z venózní pupečnickové krve jako markerů rizika časně novorozenecké sepse

7. Sestavit matici symptom-disease a provést výpočet pravděpodobnosti výskytu rizika časné novorozenecké sepse na základě jeho příslušnosti do jedné ze skupin A, B, nebo C a hodnoty jednoho až čtyř testovaných cytokinů
8. Na základě získaných výsledků navrhnout využití vybraných infekčních markerů při skríníngu časné novorozenecké sepse

### 3. MATERIÁL A METODIKA

#### 3.1 Definice výzkumného souboru

Výzkumný soubor tvořilo 152 rodiček a 152 novorozenců z těchto gravidit. Výzkum probíhal na Gynekologicko – porodnickém oddělení Nemocnice České Budějovice a.s. v období leden 2005 až březen 2006. Provedení studie bylo schváleno Etickou komisí Nemocnice České Budějovice a.s. a rozsah souboru byl konzultován se statistikem.

Podmínky pro zařazení rodiček do souboru byly následující (tab.1).

**Tab. 1. Vstupní a vylučující kritéria pro zařazení rodiček do studie**

Vstupní kritéria	Vylučující kritéria
<ul style="list-style-type: none"><li>• Gestační stáří 24+0 a více</li><li>• Jednočetná gravidita</li><li>• Negativní kultivační vyšetření moči ve smyslu významné bakteriurie <math>10^5</math></li><li>• Skutečnost, že při PROM nebo pPROM před odběry kultur z pochvy a hrdla děložního ještě nebyla aplikována antibiotika</li><li>• Kortikoidy, které byly eventuelně indikované za účelem indukce plicní zralosti plodu, byly aplikovány až po příjmovém vyšetření a odebrání kultur</li><li>• Souhlas rodičky se zařazením do studie</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Gestační stáří 23+6 a méně</li><li>• Vícečetná gravidita</li><li>• Významná bakteriurie <math>10^5</math> a více</li><li>• Zahájení aplikace antibiotik ještě před odběry kultur z pochvy a hrdla děložního</li><li>• Nesouhlas rodičky se zařazením do studie</li></ul>

Rodičky rozděleny do třech skupin podle následujících kritérií:

- **Skupinu A** tvořily rodičky přijaté s předčasným odtokem plodové vody po ukončeném 37. týdnu těhotenství (PROM), celkem 52 žen
- **Skupinu B** tvořily rodičky přijaté s předčasným odtokem plodové vody před ukončeným 37. týdnem těhotenství (pPROM), celkem 47 žen
- **Skupinu C** tvořily rodičky přijaté k porodu bez předčasného odtoku plodové vody po ukončeném 37. týdnu těhotenství, celkem 53 žen – kontrolní skupina

Samostatnou skupinu tvořilo 152 novorozenců těchto matek. Hodnoty mediátorů zánětu v pupečnickové krvi, které byly použity v definici rizika časně novorozenecké sepse, vycházely z prací Martin et al. (172) a z údajů Centrálních laboratoří Nemocnice České Budějovice a.s.

**Tab. 2. Hodnoty vybraných mediátorů zánětu v pupečnickové krvi použité pro definici rizika časně novorozenecké sepse**

	Horní mez hladiny v pupečnickové krvi považovaná ještě za fyziologickou
IL-6	160 pg/ml
IL-8	70 pg/ml
TNF-alfa	20 pg/ml
sICAM-1	300 ng/ml

### 3.1.1 Popisné charakteristiky souboru

Popisné charakteristiky jednotlivých skupin souboru jsou uvedeny v tabulkách 3, 4 a 5.

**Tab. 3. Popisné charakteristiky jednotlivých skupin souboru**

<b>Skupina A (52)</b>			
<b>Charakteristika</b>	<b>Stř. hodnota</b>	<b>Medián</b>	<b>Rozmezí hodnot</b>
<b>Věk rodičky (roky)</b>	29	28	18 - 36
<b>Gravidita</b>	2,1	2	1 - 4
<b>Parita</b>	1,5	1	1 - 4
<b>Porodní hmotnost novorozence (g)</b>	3336	3320	2530 - 4180
<b>Porodní délka novorozence (cm)</b>	49	50	46 - 52
<b>Interval od odtoku VP do porodu (hod.)</b>	15,6	12,5	1 - 46
<b>Gestační stáří (týdny)</b>	39	39	37 - 41

<b>Skupina B (47)</b>			
<b>Charakteristika</b>	<b>Stř. hodnota</b>	<b>Medián</b>	<b>Rozmezí hodnot</b>
<b>Věk rodičky (roky)</b>	28	28	21 - 39
<b>Gravidita</b>	2	2	1 - 7
<b>Parita</b>	1,6	1	1 - 4
<b>Porodní hmotnost novorozence (g)</b>	1917	2060	800 - 3170
<b>Porodní délka novorozence (cm)</b>	43	44	34 - 49
<b>Interval od odtoku VP do porodu (hod.)</b>	17	8	1 - 106
<b>Gestační stáří (týdny)</b>	32	33	26 - 36

<b>Skupina C (53)</b>			
<b>Charakteristika</b>	<b>Stř. hodnota</b>	<b>Medián</b>	<b>Rozmezí hodnot</b>
<b>Věk rodičky (roky)</b>	29	29	19 - 40
<b>Gravidita</b>	2,1	2	1 - 6
<b>Parita</b>	1,7	2	1 - 4
<b>Porodní hmotnost novorozence (g)</b>	3448	3470	2450 - 4290
<b>Porodní délka novorozence (cm)</b>	50	50	45 - 54
<b>Interval od odtoku VP do porodu (hod.)</b>	4	2	0 - 11
<b>Gestační stáří (týdny)</b>	39	39	38 - 42



**Tab. 4. Způsob vedení porodu**

Skupina	Způsob vedení porodu			Celkem
	I	S	SC	
A	24	20	8	<b>52</b>
B	7	13	27	<b>47</b>
C	16	29	8	<b>53</b>

\* I – indukovaný porod, S – spontánní porod, SC – sectio caesarea .

Tabulka 4 uvádí způsobu vedení porodu ve sledovaném souboru 152 rodiček.

**Tab. 5. Hodnoty CRP v mateřském séru**

Interval hodnot CRP (mg/l)	Skupina		
	A	B	C
0-5	24	26	14
5-10	7	9	7
10-15	6	7	6
15-20	2	4	2
20-25	1	0	0
25-30	1	1	0
30-35	0	0	0
> 35	1	0	1
<b>Celkem</b>	<b>42</b>	<b>47</b>	<b>30</b>

### 3.2 Provedení

Při příjmu rodičky splňující základní vstupní kritéria studie byla rodička podrobně informována o probíhající studii a v případě svého souhlasu podepsala Informovaný souhlas s účastí ve studii. Následně byly všechny potřebné žádanky k vyšetřením prováděným v rámci studie opatřeny identifikačními štítky a označením studie.

Potom bylo provedeno příjmové gynekologické vyšetření s následujícími odběry:

- Moč odebraná středním proudem na kulturační vyšetření
- Stěry z pochvy na kulturační, mikroskopické, mykologické a parazitologické vyšetření a dále na vyšetření mykoplasm a ureaplasm
- Stěry z hrdla děložního na chlamydie

Po porodu plodu a přerušení pupečníku následoval:

- Odběr mateřské venózní krve na vyšetření C-reaktivního proteinu (CRP)
- Odběr pupečnickové krve na vyšetření IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  a sICAM-1

Po porodu placenty byla tato fixována 10% formolem a odeslána na histologické vyšetření.

Přímo na porodním sále byla vedena evidence rodiček a novorozenců a následně byla vytvořena programová databáze, kam byla získaná data vkládána. Na základě získaných údajů pak bylo provedeno statistické vyhodnocení získaných výsledků.

Protože nebylo možné zajistit standardní provedení stěrů na anaerobní kultivaci u všech vyšetřovaných žen, bylo po úvodní části studie od tohoto záměru upuštěno a anaerobní kultivace již nebyla dále prováděna.

### **3.3 Metodika odběru stěrů z pochvy a z hrdla děložního a zpracování biologického materiálu**

Stěry na kultivační vyšetření byly odebírány při příjmu rodičky. Odběry prováděl lékař nebo porodní asistentka. První stěr ze zadní poševní klenby byl prováděn odběrovým setem sterilní štětičkou do transportní půdy a byl určen na vyšetření poševní flóry, druhý stěr plastovou kličkou do transportního média ze zadní poševní klenby byl určen k vyšetření mykoplasmat a ureaplasmat, třetí stěr zvlhčenou sterilní vatovou štětičkou (5% roztok glukózy) ze zadní poševní klenby byl odeslán na mykologické a parazitologické vyšetření a čtvrtý stěr na vyšetření chlamydií byl proveden z hrdla děložního speciální kličkou do transportního média.

Všechny stěry byly provedeny podle doporučených metodik do příslušných transportních půd a médií.

V rámci vstupního vyšetření byl sterilním vatovým tamponem na podložní sklíčko ze zadní poševní klenby odebrán také vaginální sekret určený k mikroskopickému vyšetření a zhodnocení mikrobiálního obrazu poševního (MOP).

V pracovní době byly stěry transportovány na příslušné pracoviště okamžitě, mimo pracovní dobu byly získané vzorky uloženy podle doporučení laboratoře při pokojové teplotě a odeslány ke zpracování následující den ráno.

Zpracování biologického materiálu a laboratorní vyšetření byla prováděna standardními běžně používanými metodami podle zavedených standardů laboratoří Nemocnice České Budějovice a.s.

### 3.4 Metodika odběrů mateřské a pupečnickové krve a biochemického zpracování

Bezprostředně po porodu plodu a přerušení pupečníku byly provedeny následující odběry:

- Odběr srážlivé mateřské venózní krve odebrané z kubitální žíly do vakuety
- Odběr srážlivé pupečnickové krve (cca 20ml) do sterilních zkumavek

Zkumavky byly řádně opatřeny identifikačními štítky a ihned transportovány do laboratoře, kde byly zpracovány.

V mateřské krvi rodiček byla standardními metodami stanovena hladina C-reaktivního proteinu (CRP).

***Pro vyšetření pupečnickové krve byla použita následující vyšetření:***

**Interleukin 6** – chemiluminiscenční imunochemická analýza na pevné fázi

Stanovení je založeno na reakci jednoho epitopu IL-6 s monoklonální protilátkou konjugovanou s alkalickou fosfatázou a druhého epitopu IL-6 s protilátkou proti IL-6 konjugovanou s biotinem v reagenčním pufovaném roztoku. Takto vzniklý komplex se váže na avidin imobilizovaný na polystyrenové kuličce. Reakce probíhá 60 minut při 37 °C. Nenavázaný materiál se odstraní odstředivým promýváním. Přidá se substrát fosforečný ester adamantyl dioxetanu, který hydrolyzuje stykem s alkalickou fosfatázou za vzniku nestabilního meziprojektu. Ten se ihned rozpadá za produkce záření, které se detekuje luminometrem. Intenzita vzniklého záření je přímo úměrná koncentraci interleukinu 6 ve vyšetřovaném vzorku.

*Charakteristika použité laboratorní metody:*

IL6, Interleukin 6, chemiluminescent immunometric assay, Immulite 2500 Analytická senzitivita: 2 pg/ml

Precision: CV 5,6 %

(U charakteristiky laboratorní metody použitý termín *precision* = přesnost, zkratka *CV* = reproducibility, reprodukovatelnost testu.)

### **Interleukin 8** – chemiluminiscenční imunochemická analýza na pevné fázi

Stanovení je založeno na reakci jednoho epitopu IL-8 s monoklonální protilátkou konjugovanou s alkalickou fosfatázou a druhého epitopu IL-8 s protilátkou proti IL-8 konjugovanou s biotinem v reagenčním pufrovaném roztoku. Takto vzniklý komplex se váže na avidin imobilizovaný na polystyrenové kuličce. Reakce probíhá 30 minut při 37 °C. Nenavázaný materiál se odstraní odstředivým promýváním. Přidá se substrát fosforečný ester adamantyl dioxetanu, který hydrolyzuje stykem s alkalickou fosfatázou za vzniku nestabilního meziprojektu. Ten se ihned rozpadá za produkce záření, které se detekuje luminometrem. Intenzita vzniklého záření je přímo úměrná koncentraci interleukinu 8 ve vyšetřovaném vzorku.

#### *Charakteristika použité laboratorní metody:*

IL8, Interleukin 8, chemiluminescent immunometric assay, Immulite 1000 Analytická senzitivita: 2 pg/ml

Precision: CV 6,5 %

### **TNF-alfa** – chemiluminiscenční imunochemická analýza na pevné fázi

Stanovení je založeno na reakci jednoho epitopu TNF alfa s monoklonální myší protilátkou navázanou na polystyrenové kuličce a druhého epitopu s polyklonální králičí protilátkou konjugovanou s alkalickou fosfatázou v reagenčním pufrovaném roztoku. Reakce probíhá 60 minut při 37 °C. Nenavázaný materiál se odstraní odstředivým promýváním. Přidá se substrát fosforečný ester adamantyl dioxetanu, který hydrolyzuje stykem s alkalickou fosfatázou za vzniku nestabilního meziprojektu. Ten se ihned rozpadá za produkce záření, které se detekuje luminometrem. Intenzita vzniklého záření je přímo úměrná koncentraci TNF alfa ve vyšetřovaném vzorku.

#### *Charakteristika použité laboratorní metody:*

TNF $\alpha$ , Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ , chemiluminescent immunometric assay, Immulite 1000

Analytická senzitivita: 1,7 pg/ml

Precision: CV 5,8 %

**sICAM-1** – ELISA, heterogenní enzymoimunoanalýza, dvojestupňová sendvičová analýza. Primární protilátka fixovaná na mikrotitrační destičce je monoklonální myší protilátka proti lidskému sICAM-1. Sekundární monoklonální myší protilátka anti-sICAM-1 s konjugovaným enzymem HRP (křenová peroxidáza).

*Charakteristika použité laboratorní metody:*

Human sICAM-1 ELISA , enzymed-linked immunosorbent assay, BIOSOURCE

Hu sICAM-1 (Human Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1)

Analytická senzitivita: 0,5 ng/ml

Precision: CV 6,8 %

### **3.5 Vyšetření placenty**

Bezprostředně po porodu byla provedena důkladná makroskopická inspekce placenty se zaměřením na difúzní nebo skvrnovité zkalení choriové plotny a/nebo plodového obalu a na miliární ložiska na povrchu pupečníku. Při jednoznačném klinickém podezření na ascendující infekci amnia by totiž měly být ještě před makroskopickou inspekcí odebrány stěry ze spodní plochy choriové plotny k bakteriologickému vyšetření. Takový případ však nebyl zaznamenán.

Pro případné kultivační vyšetření tkáně se pak odebírá z plodového obalu paralelně s okrajem placety pokud možno dlouhý pruh plodového obalu z blízkosti placenty; druhý dlouhý pruh plodového obalu se odebírá paralelně s otvorem v blanách vzniklých při porodu plodu. Pruhy plodového obalu se pinzetou spirálovitě stočí a uloží se. Pupečník se v takových případech vyšetřuje na ortográdně odebraných příčných řezech z úseku blízkého placentě a úseku blízkého dítěti. Minimálně dvě další místa odběru se týkají choriové plotny. Kultivační vyšetření tkáně nebylo v naší studii prováděno.

Histologickému vyšetřování placenty předchází makroskopický popis. K němu patří průměr placenty, výška placenty a úpon a délka pupečníku.

Po zevní prohlídce placenty následuje vynětí tkáňových bloků pro histologické vyšetření. Při fyziologickém průběhu těhotenství stačí odběr zhruba pěti tkáňových bloků, ze kterých se zhotovují histologické preparáty. Odebírají se z ní zhruba dva bloky obsahující chorion, blok obsahující amnion a blok při úponu pupečníku a v koncové části pupečníku. Při histologickém vyšetření se v choriu běžně nalézají tzv. bílé infarkty, což jsou drobné nekrózy klků a trombóza přilehlých splavů. Malé a nečetné infarkty jsou v placentách běžné na konci těhotenství. Funkčně se neuplatňují. Pokud by tyto infarkty byly velké, až několik centimetrů, mohou omezovat placentární funkce i ohrozit plod. Při rizikovém či patologickém průběhu těhotenství bývá odebráno více tkáňových bloků stejně tak jako v situaci, kdy se histologicky

objeví nějaká patologie. Pak se placenta dále histologicky dovyšetřuje v řadě dalších tkáňových bloků.

Při vyšetřování placenty pro účely této studie byl kladen důraz především na histologickou diagnostiku zánětu. Zánět může postihovat chorion (chorionitis), amnion (amnionitis) a nebo obě komponenty současně (chorioamnionitis). Zánět může také přecházet na pupečník (funisitis), což má velký význam pro diagnózu intraamniální infekce. Morfologicky lze do jisté míry určit charakter zánětu choriových klků (194, 317).

Diferenciálně diagnosticky je třeba zohlednit granulocytární infiltráty neinfekční etiologie při fetální acidóze, po odchodu mekonia, v důsledku přestáze a stáze v subchoriovém prostoru jako důsledek poruchy cirkulace v pupečnickových cévách. Tyto infiltráty na rozdíl od zánětlivých reakcí podmíněných infekcí nevykazují žádný amniotropismus. Zpravidla se týkají pouze jedné oblasti, například subchoriové fibrinové vrstvy nebo cirkulárního infiltrátu kolem pupečnickové žíly. Naproti tomu chybí amnionitida.

Histologická vyšetření placenty podrobně popisuje Vogel (317).

### **3.6 Statistické zpracování**

Na začátku studie byla založena databáze, do které byly vkládány všechny získané údaje. Z této databáze byly generovány podklady pro statistické zpracování dat. Celé statistické zpracování bylo pro jeho náročnost a komplikovanost prováděno v úzké spolupráci se statistikem.

V případě hodnocení vztahu mikrobiálního osídlení genitálního traktu rodičky k PROM a pPROM bylo statistické hodnocení výsledků provedeno exaktním Fisherovým testem (IKEM Praha). Bylo tomu tak proto, že zastoupení četností sledovaných znaků bylo malé. Intervaly spolehlivosti jsme ze stejných důvodů neprováděli, protože při malých čestnostech nemají vypovídací hodnotu.

Vztah mezi mikrobiálním osídlením genitálního traktu rodičky a histologickým nálezem chorioamnionitis byl také hodnocen Fisherovým exaktním testem.

Hodnocení vztahu vybraných cytokinů a adhezivních molekul v pupečnickové krvi k riziku časně novorozenecké sepse vycházelo z prací autorů Martinové et al. z roku 2001 (172), kde jsou na základě vyšetření cytokinů definovány parametry rizika časně novorozenecké sepse.

Tyto hodnoty byly také v souladu s klinicky a laboratorně ověřenými časnými novorozeneckými sepsemi na neontologickém oddělení Nemocnice České Budějovice a.s.

Ke statistickému popisu těchto dat a jejich zhodnocení byl použit program NCSS (110). K testování normality dat byly použity tyto testy: Shapiro-Wilk W, Anderson-Darling, Martinez-Iglewicz, Kolmogorov-Smirnov, D'Agostino Skewness, D'Agostino Kurtosis, D'Agostino Omnibus. Jako metoda volby pro zjišťování vztahu mezi několika nezávisle proměnnými veličinami, když závisle proměnná je binární, byla použita logistická regrese (68). Správnost klasifikace pro výpočet koeficientů regresní přímky byla ověřena na základě hodnot cytokinů, u kterých byl zjištěn signifikantní rozdíl (IL-8 a sICAM-1), Kruskalovým-Wallisovým testem. Pro výpočet aposteriorní pravděpodobnosti zánětové reakce byl použit Bayesovův vztah (155, 276).

\* Poznámka: Tabulky s výsledky jsou vytvořeny v programu excel, který neumožňuje mezeru mezi numerickým vyjádřením jevu a znakem procenta.

## 4. VÝSLEDKY

### 4.1 Mikrobiální osídlení pochvy

**Tab. 6. Mikrobiální aerobní osídlení pochvy a hrdla děložního u 152 rodiček a jeho vztah k PROM**

Mikrobiální aerobní flora	skup.A n=52		skup.B n=47		skup.C n=53		Celkem		Vztah k PROM
<b>Staphylococcus koag. neg.</b>	38	73,0%	26	55,3%	36	67,9%	100	65,8%	NS
<b>Ureaplasma urealyticum</b>	29	55,0%	15	31,0%	25	47,2%	69	45,4%	NS
<b>Lactobacillus sp.</b>	13	25,0%	11	23,4%	34	64,2%	58	38,2%	A:C, B:C p<0,001
<b>Enterococcus faecalis</b>	12	23,0%	17	36,2%	25	47,2%	54	35,5%	NS
<b>Corynebacterium sp.</b>	17	32,0%	10	21,3%	10	18,9%	37	24,3%	NS
<b>Candida albicans</b>	15	28,0%	11	23,4%	12	22,6%	38	25,0%	NS
<b>Streptococcus viridans</b>	14	27,0%	10	21,3%	10	18,9%	34	22,4%	NS
<b>Gardnerella vaginalis</b>	10	19,0%	5	10,6%	10	18,9%	25	16,4%	NS
<b>Streptococcus agalactiae</b>	12	23,0%	9	19,1%	7	13,2%	28	18,4%	NS
<b>Chlamydia trachomatis</b>	2	4,0%	1	2,1%	10	18,9%	13	8,6%	
<b>Escherichia coli</b>	5	9,6%	5	10,6%	4	7,5%	14	9,2%	NS
<b>Staphylococcus aureus</b>	3	5,7%	6	12,8%	3	5,7%	12	7,9%	NS
<b>Mycoplasma hominis</b>	5	9,6%	1	2,1%	2	3,8%	8	5,3%	
<b>Streptococcus gama</b>	3	5,7%	6	12,8%	3	5,7%	12	7,9%	NS
<b>Candida glabrata</b>	2	4,0%	1	2,1%	0	0,0%	3	2,0%	-
<b>Staphylococcus saccharolytic</b>	1	1,9%	1	2,1%	0	0,0%	2	1,3%	-
<b>Streptococcus alfa</b>	1	1,9%	1	2,1%	0	0,0%	2	1,3%	-
<b>Candida tropicalis</b>	0	0,0%	0	0,0%	1	1,9%	1	0,7%	-
<b>Klebsiella pneumoniae</b>	1	1,9%	0	0,0%	0	0,0%	1	0,7%	-
<b>Sarcina</b>	0	0,0%	1	2,1%	0	0,0%	1	0,7%	-
<b>Streptococcus pyogenes</b>	1	1,9%	0	0,0%	0	0,0%	1	0,2%	-

\*smíšená flóra

V tabulce 6 jsou uvedeny četnosti jednotlivých bakteriálních kmenů a jejich relativní četnosti ve vztahu k vyšetřované skupině žen. Statistickou analýzou bylo zjištěno, že žádný bakteriální kmen nemá statisticky významný vztah k PROM jako takovému. Statisticky významně se jeví pouze nižší frekvence průkazu přítomnosti Laktobacila ve skupině s PROM či pPROM oproti kontrolní skupině (A:C a B:C). Relativně vyšší výskyt kmenů Enterococcus faecalis u kontrolní skupiny byl pouze na hranici statistické významnosti (Fisherův exaktní test).



**Tab. 7. Mikrobiální obraz poševní (MOP) u 152 žen a jeho vztah k PROM**

MOP	skup. A		skup. B		skup. C		Celkem		Vztah k PROM
MOP I	6	4,8%	9	7,2%	27	21,6%	42	33,6%	p < 0,0001
MOP II	18	14,4%	10	8,0%	12	9,6%	40	32,0%	NS
MOP III	2	1,6%	2	1,6%	1	0,8%	5	4,0%	NS
MOP V	0	0,0%	0	0,0%	1	0,8%	1	0,8%	NS
MOP VI	19	15,2%	10	8,0%	8	6,4%	37	29,6%	p < 0,01
	45	36,0%	31	24,8%	49	39,2%	125	100,0%	

Tabulka 7 prezentuje výsledky vyšetření MOP a jejich relativní četnosti ve vztahu k vyšetřované skupině žen. U 27 žen nebylo z nejrůznějších důvodů možné MOP hodnotit. Statistickou analýzou našeho souboru bylo zjištěno, že u žen s MOP VI (mykózou) došlo statisticky významně častěji k PROM u termínové gravidity (skupina A), nežli v ostatních skupinách. Dále bylo zjištěno, že MOP I byl statisticky významně častěji prokazován u žen bez PROM (skupina C) (Fisherův exaktní test).

#### 4.2 Hladiny mediátorů zánětu v pupečnickové krvi

**Tab. 8. Počet „patologických“ hodnot hladin mediátorů zánětu v 608 krevních vzorcích podle jednotlivých skupinách souboru 152 rodiček**

Soubor	Počet vyšetření	Počet patologických hodnot	% patologických hodnot ze všech odběrů
A	208	9	4,3%
B	188	18	9,5%
C	212	8	3,8%

Vyšetřením hladin sledovaných markerů ve venózní pupečnickové krvi (152 odběrů, tedy 608 vyšetření) bylo zjištěno, že v 35 případech byly nalezeny jejich „patologické“ hodnoty

(tab. 8). Patologické hodnoty IL-6 byly přítomny v 10 případech, TNF- $\alpha$  v 11 případech, IL-8 v 8 případech a sICAM-1 v 6 případech.

Vyšetřování mělo skrínigový charakter. Abychom pro další hodnocení vyloučili na nejvyšší možnou míru počet artefaktů a tím zvýšili hodnoty specifity a senzitivity sledovaného jevu, zařadili jsme po konzultaci se statistikem do souboru novorozenců s rizikem časně novorozenecké sepse pouze ty z nich, u kterých byly nalezeny souběžně dvě nebo více patologických hodnot sledovaných markerů. Tím jsme získali soubor dvanácti novorozenců, které jsme označili jako skupinu plodů s rizikem časně novorozenecké sepse (tab. 9).

**Tab. 9. Rozdělení novorozenců s rizikem časně novorozenecké sepse podle zastoupení v jednotlivých skupinách (celkem 12 novorozenců)**

Soubor	Počet novorozenců s rizikem časně novorozenecké sepse	% novorozenců s rizikem časně novorozenecké sepse ze souboru	Identifikace konkrétních případů
A	3	25,0%	A1, A8, A39
B	7	58,5%	B3, B19, B27a, B28b, B29, B34, B41
C	2	16,5%	C3, C22

(Označení např. B27a neznamená, že šlo o vícečetnou graviditu, ale že při identifikaci vzorku byla personálem použita odchylná identifikace)

**Tab. 10. Vztah patologických hladin markerů ve skupině s pPROM (skupina B) ke skupinám A, C a A+C**

Počet patologických hladin markerů				Statistické zhodnocení
Skupina B	Skupina A	Skupina C	Skupina AC	
18	9	-	-	p=0,046
18	-	8	-	p=0,024
18	-	-	17	p=0.013

Hodnocení vztahu pPROM k riziku časně novorozenecké sepse hodnotí tab.10. V našem souboru jsme u rodiček s pPROM (skupina B) oproti ostatním skupinám prokázali statisticky významně vyšší riziko časně novorozenecké sepse (Fisherův exaktní test).

**Tab. 11. Vztah jednotlivých mikrobiálních kmenů a MOP k riziku časně novorozenecké sepse (12 novorozenců)**

Mikrobiální kmeny	Celkový počet	Z toho u rizikových novorozenců	%	Statistické zhodnocení (Fisherův test)
<i>Candida albicans</i>	38	7	18,4%	NS
<i>Corynebacterium sp.</i>	37	1	2,7%	NS
<i>Escherichia coli</i>	14	3	21,4%	NS
<i>Enterococcus faecalis</i>	54	6	11,1%	NS
<i>Streptococcus agalactiae</i>	28	3	10,7%	NS
<i>Gardnerella vaginalis</i>	25	2	8,0%	NS
<i>Chlamydia trachomatis</i>	13	4	30,8%	NS
<i>Mycoplasma hominis</i>	8	3	37,5%	NS
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	1	8,3%	NS
<i>Staphylococcus koag. neg.</i>	100	9	9,0%	NS
<i>Streptococcus viridans</i>	34	9	26,5%	p < 0,001
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	69	7	10,2%	NS
MOP I	42	2	4,8%	NS
MOP II	40	4	10,0%	NS
MOP VI	37	6	16,2%	NS

\*smíšená flóra

Tabulka 11 prezentuje vztah jednotlivých mikrobiálních kmenů k riziku časně novorozenecké sepse, které bylo na základě laboratorních vyšetření identifikováno u 12 novorozenců (tab. 9). V našem souboru jsme při nálezů kmene *Streptococcus viridans* prokázali statisticky významně vyšší riziko časně novorozenecké sepse. U ostatních mikrobiálních kmenů byl tento vztah statisticky nevýznamný (Fisherův exaktní test).

**Tab. 12. Vztah aerobního mikrobiálního osídlení pochvy a hrdla děložního a patologických hodnot sledovaných markerů (35 pozitivních vzorků)**

Mikrobiální kmeny	IL-6 (10)		TNF-alfa (11)		IL-8 (8)		ICAM-1 (6)		Celkem	Statistické zhodnocení
	počet	%	počet	%	počet	%	počet	%		
Candida albicans	4	10,5%	3	7,9%	7	18,4%	2	5,3%	38	NS
Candida glabrata	2	66,7%	1	33,3%	2	66,7%	2	66,7%	3	NS
Corynebacterium sp.	2	5,4%	2	5,4%	5	13,5%	1	2,7%	37	NS
Escherichia coli	2	14,3%	1	7,1%	4	28,6%	2	14,3%	14	NS
Enterococcus faecalis	6	11,1%	7	13,0%	6	11,1%	3	5,6%	54	NS
Gardnerella vaginalis	4	16,0%	3	12,0%	3	12,0%	0	0,0%	25	NS
Streptococcus agalactiae	5	17,9%	1	3,6%	6	21,4%	2	7,1%	28	NS
Klebsiela pneumonie	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	1	NS
Lactobacilus sp.	2	3,5%	4	6,9%	5	8,6%	0	0,0%	58	NS
Saccharomy	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	2	NS
Staphylococcus koag. neg.	7	7,0%	5	5,0%	7	7,0%	3	3,0%	100	NS
Staphylococcus aureus	3	25,0%	3	25,0%	1	8,3%	2	16,7%	12	NS
Streptococcus alfa	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	2	NS
Streptococcus gama	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	1	8,3%	12	NS
Streptococcus pyogenes	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	1	NS
Streptococcus viridans	6	17,6%	2	5,9%	6	17,6%	2	5,9%	34	NS
Ureaplasma urealyticum	3	4,3%	1	1,4%	2	2,9%	2	2,9%	69	NS
Mycoplasma hominis	2	25,0%	0	0,0%	1	12,5%	0	0,0%	8	NS
Chlamydia trachomatis	1	7,7%	1	7,7%	1	7,7%	0	0,0%	13	NS

\*smíšená flóra

Sloupec „počet“ označuje počet vyšetření, kdy byl při patologické hodnotě konkrétního markeru mikrobiální kmen prokázán, sloupec „%“ označuje procento tohoto průkazu z celkového počtu případů, kdy byl konkrétní mikroorganismus při vyšetření souboru 152 žen prokázán. Neprokázali jsem žádný statisticky významný vztah mezi konkrétním mikroorganismem a elevací některého z markerů v pupečnickové krvi (Fisherův exaktní test).

### 4.3 Histologická vyšetření placent

**Tab. 13. Histologické nálezy chorioamnionitis v jednotlivých skupinách souboru**

Skupina	Počet	%
A (n=52)	12	23,08%
B (n=47)	11	23,40%
C (n=53)	8	15,09%
<b>Celkem</b>	<b>31</b>	<b>x</b>

Histologicky byl zánět charakteru chorioamnionitis případně funisitis prokázán v 31 případech. Z toho 23 případů bylo s PROM (skupina A) resp. pPROM (skupina B), 8 v kontrolní skupině (skupina C). V našem souboru jsme při histologickém vyšetření prokázali statisticky významně více případů chorioamnionitis případně funisitis u rodiček s pPROM (skupina B) oproti ostatním skupinám (skupiny A + C) (Fisherův exaktní test  $p = 0,013$ ).

**Tab. 14. Vztah chorioamnionitis a rizika časně novorozenecké sepse (12 novorozenců) v souboru 152 vyšetřených**

	Chorioamnionitis ANO	Chorioamnionitis NE	Celkem
<b>Novorozenci s rizikem</b>	10	2	12
<b>Novorozenci bez rizika</b>	21	119	140
<b>Celkem</b>	31	121	152

Tabulka 14 ukazuje vztah mezi prokázanými případy chorioamnionitis a novorozenců s rizikem časně novorozenecké sepse. Při histologickém nálezu chorioamnionitis bylo v našem souboru statisticky významně zvýšené riziko časně novorozenecké sepse (Fisherův exaktní test  $p < 0,001$ ).

**Tab. 15. Vztah funisitis a rizika časně novorozenecké sepse (12 novorozenců) v souboru 152 vyšetřených**

	<b>Funisitis ANO</b>	<b>Funisitis NE</b>	<b>Celkem</b>
<b>Novorozenci s rizikem</b>	5	7	12
<b>Novorozenci bez rizika</b>	1	139	140
<b>Celkem</b>	6	146	152

Tabulka 15 ukazuje vztah mezi prokázanými případy funisitis a novorozenců s rizikem časně novorozenecké sepse. Při histologickém nálezů funisitis bylo v našem souboru statisticky významně zvýšené riziko časně novorozenecké sepse (Fisherův exaktní test  $p < 0,0001$ ).

**Tab. 16. Vaginální mikrobiální flóra u 10 případů chorioamnionitis ve skupině novorozenců s rizikem časně novorozenecké sepse**

<b>Mikrobiální kmeny</b>	<b>Celkový počet (ze 152 vyšetření)</b>	<b>Počet u rizikových novorozenců</b>	<b>Procenta</b>	<b>Statistické zhodnocení</b>
Candida albicans	38	6	15,8%	NS
Candida glabrata	3	1	33,3%	NS
Corynebacterium species	37	2	5,4%	NS
Escherichia coli	14	3	21,4%	NS
Enterococcus faecalis	54	7	13,0%	NS
Gardnerella vaginalis	25	1	4,0%	NS
Streptococcus agalactiae	28	3	10,7%	NS
Chlamydia trachomatis	13	3	23,1%	NS
Mycoplasma hominis	8	2	25,0%	NS
Staphylococcus aureus	12	2	16,7%	NS
Staphylococcus koag. negativní	100	9	9,0%	NS
Streptococcus viridans	34	9	26,5%	NS
Ureaplasma urealyticum	69	4	5,8%	NS

Tabulka 16 popisuje vaginální mikrobiální flóru u 10 případů chorioamnionitis ve skupině novorozenců s rizikem časně novorozenecké sepse. Ve zkoumaném souboru nebyl prokázán statisticky významný vztah mezi nálezem konkrétního bakteriálního kmene a histologickým nálezem chorioamnionitis (Fisherův exaktní test).

**Tab. 17. Vztah mezi mikrobiálním osídlením pochvy a hrdla děložního a MOP a průkazem chorioamnionitis v souboru 152 žen**

Mikrobiální kmeny	Celkový počet	Počet zánětů	Počet samotných funisidů (F)	Počet zánětů choria a amnia (CHA)	Počet funisidů a zánětů choria a amnia (F + CHA)	Procenta zánětů	Statistické zhodnocení (Fisherův test)
Candida albicans	38	9	1	6	2	23,7%	NS
Candida glabrata	3	1	0	0	1	33,3%	NS
Corynebacterium sp.	37	7	0	7	0	18,9%	NS
Escherichia coli	14	8	1	6	1	57,1%	p = 0,002
Enterococcus faecalis	54	10	1	9	0	18,5%	NS
Gardnerella vaginalis	25	5	0	4	1	20,0%	NS
Streptococcus agalactiae	28	6	0	4	2	21,4%	NS
Chlamydia trachomatis	13	3	0	1	2	23,1%	NS
Mycoplasma hominis	8	2	0	1	1	25,0%	NS
Staphylococcus koag. neg.	100	18	2	14	2	18,0%	NS
Staphylococcus aureus	12	3	0	2	1	25,0%	NS
Streptococcus viridans	34	11	0	9	2	32,3%	p = 0,057
Ureaplasma urealyticum	69	4	1	1	2	5,8%	NS
MOP I	42	7	1	6	0	16,7%	NS
MOP II	40	9	0	9	0	22,5%	NS
MOP III	5	2	0	2	0	40,0%	NS
MOP VI	37	10	0	8	2	27,0%	NS

\*smíšená flóra

Tabulka 17 popisuje vztah mezi mikrobiálním osídlením pochvy a hrdla děložního a MOP a průkazem chorioamnionitis v souboru všech 152 žen. U rodiček kolonizovaných kmeny *Escherichia coli* jsme v našem souboru prokázali statisticky významně vyšší výskyt chorioamnionitis. Při kultivačním nálezu *Streptococcus viridans* byl tento vztah pouze na hranici statistické významnosti (Fisherův exaktní test).

#### 4.4 IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ a sICAM-1 jako skrining rizika časně novorozenecké sepse (statistika)

Hodnoty výsledků všech čtyř laboratorních testů v žádné skupině nesplňovaly předpoklad gaussovského rozložení, a proto jsou data popsána mediánem s jeho 95% mezemi spolehlivosti (tab. 18). K testování normality byly použity tyto testy: Shapiro-Wilk W, Anderson-Darling, Martinez-Iglewicz, Kolmogorov-Smirnov, D'Agostino Skewness, D'Agostino Kurtosis, D'Agostino Omnibus.

**Tab. 18. Popisné charakteristiky vybraných infekčních markerů v pupečnickové krvi**

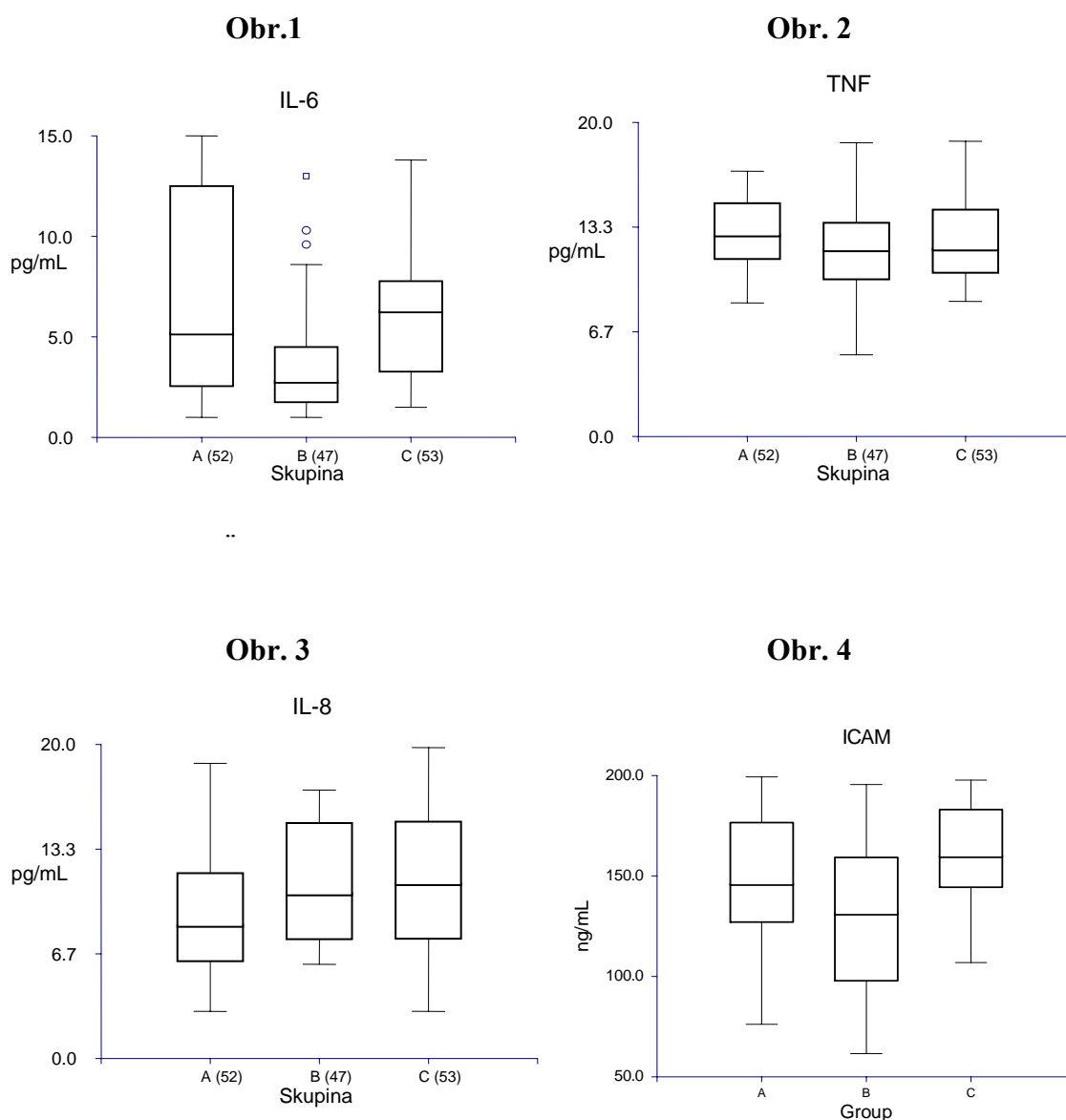
Skupina	Test	Medián	95% LCL	95% UCL
A	IL-6	9.8	4.8	14.0
	TNF	13.2	12.2	14.3
	IL-8	11.7	8.5	16.0
	ICAM	153.4	143.2	178.3
B	IL-6	4.0	2.8	9.6
	TNF	12.4	11.0	13.8
	IL-8	19.3	12.0	34.8
	ICAM	140.6	118.0	161.2
C	IL-6	7.1	6.2	10.0
	TNF	14.1	11.7	15.6
	IL-8	14.7	12.0	18.5
	ICAM	169.8	157.8	183.1



Hodnoty IL-6, TNF a IL-8 jsou uváděny v pg/ml, hodnoty ICAM v ng/ml, LCL – dolní mez spolehlivosti, UCL – horní mez spolehlivosti

Pro grafické vyjádření byly použity krabičkové grafy (obr. 1–4) s logaritmickým měřítkem na ose y.

**Obr. 1–4. Výsledky vyšetření vybraných mediátorů zánětu v pupečnickové krvi**



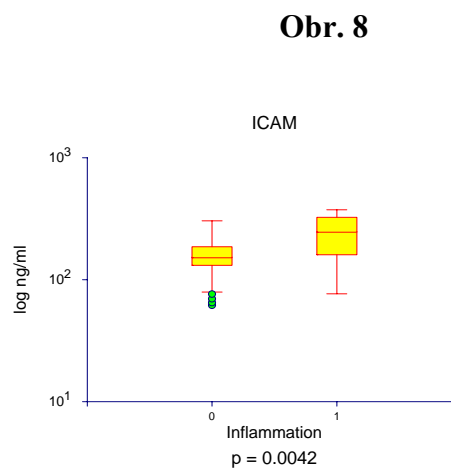
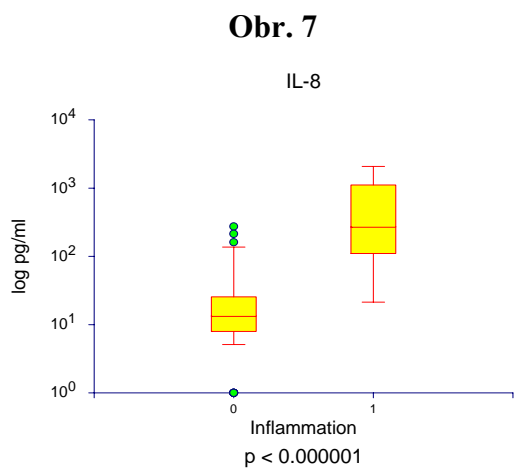
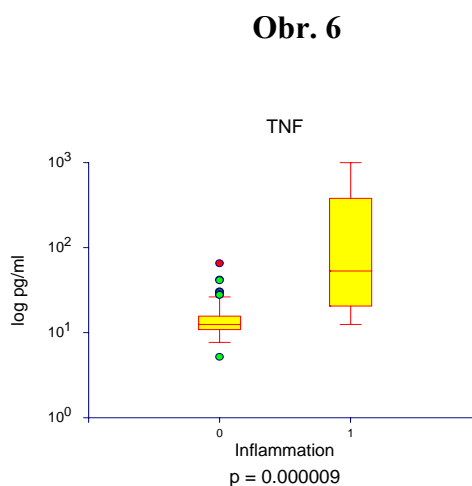
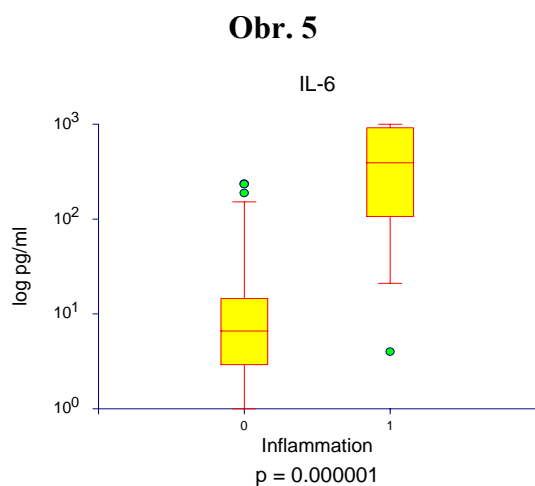
Zatímco pro IL-6 a TNF nejsou rozdíly mediánů ve skupinách rodiček A, B a C, u zbývajících dvou diagnostických testů už signifikantní rozdíl existuje, v případě ICAM dokonce velmi významný ( $p < 0,01$ ).

Celkem bylo detekováno 35 „patologických“ hodnot zvolených mediátorů zánětu (tab. 8). Medián a 95% meze spolehlivosti pro sledované mediátory zánětu ve skupině bez zánětu a se zánětem jsou v tab.19 a odpovídající krabičkové grafy jsou na obr. 5–8. Hodnota  $p$  uvedená pod jednotlivými grafy je výsledek Mannova-Whitneyova testu mediánů s korekcí na opakované stejné hodnoty. Je tedy zřejmé, že mediány všech sledovaných mediátorů zánětu se vysoce významně liší ve skupině novorozenců se zánětovou reakcí ve srovnání s novorozenci bez zánětu.

**Tab. 19. Medián a 95% meze spolehlivosti pro sledované mediátory zánětu ve skupině novorozenců bez rizika časně novorozenecké sepse a s rizikem časně novorozenecké sepse (Inflammation 0 = riziko NE, Inflammation 1 = riziko ANO)**

Zánět (Inflammation)	Test	Medián	95% LCL	95% UCL
NE (0)	IL-6	6.8	5.1	8.2
	TNF	12.8	12.0	13.7
	IL-8	13.6	11.6	16.0
	ICAM	153.4	147.3	162.0
ANO (1)	IL-6	407.0	102.0	1000.0
	TNF	65.0	18.8	385.0
	IL-8	275.0	103.0	1433.0
	ICAM	250.8	154.0	328.0

**Obr. 5–8. Hodnocení vztahu sledovaných mediátorů zánětu ve skupině novorozenců bez rizika časně novorozenecké sepse a s rizikem časně novorozenecké sepse (Inflammation 0 = riziko NE, Inflammation 1 = riziko ANO). Hodnota  $p$  odpovídá výsledku Mannova-Whiteneyova testu mediánů s korekcí na opakované stejné hodnoty.**



Pro jednotlivé diagnostické testy byla vypočtena jejich senzitivita a specificita. Výsledky jsou uvedeny v tab. 20.

**Tab. 20. Senzitivita a specificita sledovaných mediátorů zánětu ve vztahu k riziku časné novorozenecké sepse**

Measure	Test	Value	95% LCL	95% UCL
Sensitivity	IL-6	0.800	0.490	0.943
	TNF	0.364	0.152	0.892
	IL-8	0.875	0.529	0.978
	ICAM	0.833	0.436	0.970
Specificity	IL-6	0.972	0.931	0.989
	TNF	0.943	0.892	0.971
	IL-8	0.965	0.921	0.985
	ICAM	0.952	0.904	0.977

Metodou volby pro zjišťování vztahu mezi několika nezávisle proměnnými veličinami, když závisle proměnná je binární (v našem případě: bude či nebude novorozenec patřit do skupiny rizika časné novorozenecké sepse) je logistická regrese (68). V úplném modelu je celkový počet regresních koeficientů roven 54. Při volbě automatického výběru optimální podmnožiny se vybere 6 regresorů (všechny mediátory zánětu a příslušnost do skupiny B nebo C). Výsledek klasifikace je v obou případech stejný. Model zařadí správně všech 140 novorozenců bez zánětové reakce a 11 z 12 těch, je riziko časné novorozenecké sepse diagnostikována (správně je tedy klasifikováno 99,3 % jedinců).

Stejného výsledku (správnosti klasifikace) dosáhneme, když pro výpočet koeficientů regresní přímky použijeme pouze hodnoty těch mediátorů zánětu, u kterých byl zjištěn signifikantní rozdíl Kruskalovým-Wallisovým testem (IL-8 a ICAM). Výsledkem je jednoduchá regresní rovnice:

$$y = -2.94 \times 10^{-2} \text{ICAM} - 3.78 \times 10^{-4} \text{IL-8} + 3.67 \times 10^{-4} (\text{ICAM} \times \text{IL-8}).$$

Pravděpodobnost toho, že novorozenec patří do zánětové skupiny:

$$p = \frac{e^{-y}}{1 + e^{-y}}$$

Při znalosti apriorní pravděpodobnosti nálezu patologické hodnoty jednotlivého mediátoru zánětu u novorozence, pravděpodobnosti toho, že novorozenec patří do skupiny A, B, nebo C a prevalence zánětové reakce, můžeme vypočítat aposteriorní pravděpodobnost zánětové reakce podle Bayesova vztahu (155).

K zachování skutečných relativních četností příslušnosti novorozence do skupiny A, B nebo C byl k výpočtu matice symptom-nemoc původní soubor 152 novorozenců redukován o ty novorozence, kteří se narodili v období poté, co bylo provedeno poslední laboratorní vyšetření ve skupině C. To umožnilo výpočet prevalence (PV) zánětové reakce ve skupinách A, B a C v hodnotách, které odpovídají poměru jednotlivých skupin v populaci novorozenců na pracovišti, kde byl výzkum prováděn. V novém souboru bylo 53 novorozenců ve skupině C, 23 ve skupině B a 38 ve skupině A, tj. celkem 114 jedinců. Matice symptom-nemoc je v tab. 21.

**Tab. 21. Matice symptom-nemoc jako základ pro stanovení odhadu pravděpodobnosti rizika časně novorozenecké sepse podle jednotlivých mediátorů zánětu**

	IL 6	TNF	IL 8	ICAM	A	B	C	PV
Inflammation +	0.625	0.750	0.625	0.625	0.250	0.500	0.250	0.0702
Inflammation -	0.00943	0.0189	0.00943	0.00943	0.340	0.179	0.481	0.930

Odhady pravděpodobností výskytu pozitivního nálezu mediátoru zánětu, příslušnosti do skupiny A, B nebo C a prevalence jsou uvedeny s přesností na tři platné číslice. Výsledky výpočtu odhadu pravděpodobnosti rizika časně novorozenecké sepse při pozitivním nálezu jednoho mediátoru zánětu a příslušnosti do dané skupiny jsou v tab. 22, při pozitivním nálezu kombinací dvou mediátorů zánětu v tab. 23, tři v tab. 24 a v případě, že jsou pozitivní výsledky vyšetření všech čtyř mediátorů zánětu, jsou pravděpodobnosti uvedeny v tab. 25.

**Tab. 22. Odhad pravděpodobnosti rizika časně novorozenecké sepse při pozitivním nálezů jednoho mediátoru zánětu a příslušnosti novorozence do dané skupiny**

Skupina	IL6	TNF	IL8	ICAM
A	0.980	0.967	0.980	0.980
B	0.995	0.991	0.995	0.995
C	0.972	0.954	0.972	0.972

**Tab. 23. Odhad pravděpodobnosti rizika časně novorozenecké sepse při pozitivním nálezů dvou mediátorů zánětu a příslušnosti novorozence do dané skupiny**

Skupina	ICAM+IL6	ICAM+IL8	ICAM+TNF	IL6+IL8	IL6+TNF
A	1.000	1.000	0.999	1.000	0.999
B	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
C	1.000	1.000	0.999	1.000	0.999

**Tab. 24. Odhad pravděpodobnosti rizika časně novorozenecké sepse při pozitivním nálezů tří mediátorů zánětu a příslušnosti novorozence do dané skupiny**

Skupina	ICAM+IL6+IL8	ICAM+IL8+TNF	IL6+IL8+TNF
A	1.000	1.000	1.000
B	1.000	1.000	1.000
C	1.000	1.000	1.000

**Tab. 25. Odhad pravděpodobnosti rizika časně novorozenecké sepse při pozitivním nálezů čtyř mediátorů zánětu a příslušnosti novorozence do dané skupiny**

Skupina	ICAM+IL6+IL8+TNF
A	1.000
B	1.000
C	1.000

Pravděpodobnosti rovné 1,000 vzniknou zaokrouhlením čísla, které má čtvrtou platnou číslici rovnu nebo větší než 5. Vzhledem k rozsahu souboru a četnostem pozitivních nálezů není významný rozdíl mezi hodnotami 1.000 0.99. Lze tedy říci, že v případě, kdy je novorozenec ze skupiny B, stačí ke spolehlivému stanovení diagnózy zánětlivé reakce pozitivní výsledek vyšetření kteréhokoli ve studii zvoleného mediátoru zánětu (řádek B v tab. 22) a vyšetření kombinace dvou až čtyř mediátorů zánětu určí spolehlivě diagnózu zánětové reakce bez ohledu na příslušnost do skupiny A, B nebo C.

## 5. DISKUSE

Z důvodů lepší přehlednosti textu jsem diskusi rozdělil podle jednotlivých nosných témat na tři části. První z nich je zaměřena na mikrobiální osídlení pochvy, druhá na histologické vyšetření placenty a třetí na mediátory zánětu v pupečnickové krvi.

Výzkumný soubor tvořilo po vyřazení rodiček nespĺňující vstupní kritéria 152 žen přijatých na Gynekologicko – porodnické oddělení Nemocnice České Budějovice, a.s. v období leden 2005 až březen 2006. Původní koncepce výzkumu, která spočívala v představě, že se bude jednat o prvních 50 porodů z každé sledované skupiny v roce 2005, se bohužel nezrealizovala. Příčinou byl organizačně náročný provoz porodního sálu a nepravidelné dodávky vyšetřovacích setů pro stanovení cytokinů. Rozsah studie byl samozřejmě limitován i ekonomicky.

Význam PROM v patogeneze intraamniální infekce je všeobecně uznáván a opakovaně publikován (67, 92, 229, 230, 232, 242, 243, 296, 299, 312). Rovněž je opakovaně referováno a negativním vlivu intraamniální infekce plodu na mortalitu a morbiditu plodů a novorozenců. Proto jsme klinickou studii koncipovali tak, abychom této skutečnosti mohli dále využít především v identifikaci novorozenců s rizikem časně novorozenecké sepse.

Pro studii jsme volili odběr aerobní flóry ze zadní poševní klenby a z hrdla děložního. I když z literárních údajů je patrné, že vypovídací hodnotu má i mikrobiologické vyšetření plodové vody získané amniocentézou (230), vzhledem k invazivitě vyšetření, etickému rozměru a také charakteru práce na našem pracovišti, jsme tímto směrem nepostupovali.

Při hodnocení výsledků vztahů jednotlivých mikrobiálních kmenů ke sledovaným cílům bylo nutné vycházet ze skutečnosti, že se kmeny vyskytovaly v kombinaci a že nález jednoho samostatného kmene byl vzácný.

V zadání studie měly být původně hodnoceny i odběry na vyšetření anaerobní mikrobiální flóry. Protože nebylo možné zajistit standardní provedení stěrů na anaerobní kultivaci u všech vyšetřovaných žen, po pilotní části studie bylo od tohoto záměru upuštěno a anaerobní kultivace již nebyla dále prováděna.



## 5.1 Komentář výsledků – mikrobiální osídlení

Kmeny *Staphylococcus aureus* jsou grampozitivní koky. Na virulenci kmenů *Staphylococcus aureus* se podílí řada extracelulárně produkovaných látek např. toxin 1 (TSST-1 = Toxic Shock Syndrome Toxin), koaguláty. U kmenů *Staphylococcus aureus* je nutno zdůraznit invazivitu, především kmenem MRSA (meticilin rezistentní *Staphylococcus aureus*). Kmen je rezistentní na meticilin a hraje výrazně negativní úlohu při vzniku a šíření nozokomiálních nákaz. Kmeny zlatého stafylokoka svými vlastnostmi představují téměř ideální parazity, velmi dobře se přizpůsobující nepříznivým podmínkám a mají k dispozici celou řadu mechanismů, kterými se mohou úspěšně bránit léčbě. Tyto vlastnosti z nich činí skupinu mikroorganismů s velmi problematickou léčbou a činí z nich velmi nebezpečné nozokomiální patogeny, vzdorující prakticky všem pokusům o eradikaci z nemocničního prostředí. V posledních letech se na porodnických odděleních, především při koncentraci rizikových těhotenství, na neonatologických jednotkách intenzivní péče na celém světě dostává do popředí problematika omezení výskytu a kontrola stafylokokových nozokomiálních nákaz. Hlavním cílem by mělo být omezení incidence a zejména omezení nárůstu rezistence k antibiotikům. Tento úkol souvisí s uplatňováním hygienicko-epidemiologických opatření a s racionálním používáním antibiotik a to jak na gynekologicko – porodnických tak na neonatologických odděleních.

Stafylokokové infekce u matek mají různou klinickou podobu. Matky a personál jsou často kolonizováni nemocničními kmeny v nosohltanu, na sliznicích všech orgánů, včetně sliznice urogenitálního traktu. U těhotných žen se lze setkat s klinickými projevy na kůži v podobě pyodermie, folikulitidy, panaricia, paranochia, impetiga. Kromě uvedené škály klinických projevů, stafylokokové kmeny mohou vyvolat konjunktivitidy, rýmy, puerperální sepse, novorozenecké časné sepse, mastitidy atd. *Syndrom toxického šoku* je vyvolán stafylokokovým toxinem označovaným jako TSST-1 (Toxic shock syndrom toxin). Onemocnění bylo nejčastěji popisováno u žen, především v době po porodu, pokud na odděleních nebyla dodržována základní hygiena nebo když byly v průběhu menstruace používány menstruační tampony. Asindy (20) vykultivoval kmeny *Staphylococcus aureus* v 6 %. Z toho 40 % kmenů osídlilo novorozence. Aboyeji (4) uvádí frekvenci kmenů *Staphylococcus aureus* u těhotných s předčasným odtokem plodové vody v 18,7 %. Fowler (72) upozorňuje na nebezpečí, které plyne především z přítomnosti meticilin rezistentních kmenů. i na sliznicích urogenitálního traktu. Lacaste (153) popisuje vertikální přenos kmene zlatého stafylokoka na novorozence při toxickém stafylokokovém syndromu matky. Kmen

byl izolován z placenty ze sliznice klenby poševní. Novorozenec zemřel. Gojnic (88) našel kmeny zlatého stafylokoka často přítomného při vaginálním osídlení pochvy. Geisler (78) referuje o histologicky prokázané chorioamnionitidě vyvolané rezistentním kmenem *Staphylococcus aureus*. Negistihl (202) referuje o chorioamnionitidě vyvolané kmenem *Staphylococcus aureus* u plodu při zachovalých plodových blanách. Sarcar (255) zjistil u časných novorozeneckých sepsích v krvi kmeny *Staphylococcus aureus*. Donder (59) při aerobních kultivacích izoloval nejčastěji kmeny *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* a na třetím místě kmeny *Staphylococcus aureus*.

V našem souboru bylo kmeny *Staphylococcus aureus* kolonizováno 7,9 % žen. Statické zhodnocení rozdílu výskytu mezi jednotlivými skupinami 152 žen neprokázal žádný vztah k předčasnému odtoku plodové vody. Kmeny *Staphylococcus aureus* byly vykultivovány u 16,7 % prokázaných chorioamnionitid u novorozenců s rizikem časně novorozenecké sepse (tab. 16). Vztah kmenů *Staphylococcus aureus* k hladinám čtyř sledovaných mediátorů zánětu v pupečnickové krvi byl stejně jako jeho vztah k průkazu chorioamnionitis statisticky nevýznamný.

***Staphylococcus koaguláza negativní*** (nevytváří koagulázu). V literatuře se užívá pro tyto kmeny různá terminologie (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus hemolyticus* – koaguláza negativní, stafylokoky KNS, CoNS). V našem souboru byl dále nalezen kmen *Staphylococcus sacharolyticus* ve dvou kultivacích. V současné době je známo 30 rozdílných kmenů. Tyto kmeny kolonizují povrchy sliznic a kůže. Z hlediska našeho sdělení je nutné zdůraznit literární údaj o časté kolonizaci sliznic především urogenitálního traktu žen. Kmeny *Staphylococcus epidermidis* se vyznačují zvýšenou afinitou ke kolonizaci cizorodých materiálů. Význačným predisponujícím faktorem je přítomnost cizího tělesa z umělé hmoty na sliznicích. V gynekologické praxi je nutné především upozornit na nebezpečí opakovaných či dlouhodobých katetrizací močového měchýře a při dlouhodobě založených žilních katetrů. Jsou popisované těžké stafylokokové septikémie vyvolané kmeny především (CoNS), které mohou vzniknout hematogenní cestou. Klinický průběh je často komplikován současným výskytem mykotické infekce (27, 314).

Asindy (20) ve svém souboru našel při aerobní kultivaci kmeny *Staphylococcus koaguláza negativní* ve 24 %, z toho novorozenci se následně kolonizovali těmito kmeny v 31 %. Aboyeji (4) uvádí frekvenci kmenů *Staphylococcus koaguláza negativních* vykultivovaných z pochvy 6,3 %, Gojnic (88) v 7,5 %. Nadra (201) vykultivoval tyto kmeny v 19,5 %. Kazimierak (139) u 244 žen vykultivoval kmeny *Staphylococcus koaguláza*

*negativní* jako třetí nejčastější kmen, aniž by uvedl numerické vyjádření. Ragouilliaux (223) popisuje spontánní perforaci střev u novorozenců při kterých našel kmeny *Staphylococcus koaguláza negativních* v 31 %, a to ve spojení s *Candidou albicans*. Z dostupné literatury nejsou k dispozici údaje, které by prokazovaly vztah kmenů *Staphylococcus koaguláza negativní* k riziku časně novorozenecké sepse .

V našem souboru byly kmeny *Staphylococcus koaguláza negativní* nejčastějším nálezem, byl prokázán u 65,8 % rodiček. Statistické zhodnocení rozdílu výskytu mezi jednotlivými skupinami 152 žen a kmeny *Staphylococcus koaguláza negativní* neprokázal žádný statisticky významný vztah k předčasnému odtoku plodové vody ani vztah k zánětlivým změnám na placentě, k riziku časně novorozenecké sepse a k patologickým hladinám mediátorů zánětu v pupečnickové krvi.

***Streptococcus pyogenes*** je betahemolytický streptokok skupiny A antigenu. Vyvolává spálu, faryngitidy, erysipel, pyodermie, streptokokový šok. U rodičů, novorozenců i ošetřujícího personálu je časté bezpříznakové období. Popisuje se dlouhodobá kolonizace sliznic včetně sliznic urogenitálního traktu. Může vyvolat záněty všude tam kde kolonizuje. V našem souboru jsme tento kmen prokázali pouze jedenkrát a to v souboru žen A.

***Streptococcus pneumoniae*** je mikroorganismus podmíněně se množící v krevním řečišti. Kmeny *Streptococcus pneumoniae*, se vyskytují v souvislosti se vznikem nozokomiálních nákaz. U těhotných žen a ošetřujícího personálu nacházíme kmeny především v horních dýchacích cestách. Z hlediska naší studie je nutné zdůraznit možnou kolonizaci sliznic urogenitálního traktu žen. Kmeny *Streptococcus pneumoniae* mohou vyvolávat těžká onemocnění septického charakteru, a to u rodiček i novorozenců. V našem souboru jsme tento kmen na sliznici vagíny ani v hrdle děložním neidentifikovali.

***Streptococcus viridans*** (viridující streptokoky). Jako původci onemocnění se nejčastěji uplatňují kmeny, které řadíme mezi podmíněně patogeny. Kmeny viridujících streptokoků kolonizují sliznice především v horních i dolních cestách dýchacích, v dutině břišní (peritonitidy). Je popisována kolonizace sliznic urogenitálního traktu. Za určitých podmínek může tato kolonizace podmíněných patogenů vyvolat onemocnění sliznic orgánů, které kolonizují.

Gojnic (88) uvádí nález těchto kmenů v 11,9 %. Skudbol (271) vztahuje nález kmenů *Streptococcus viridans* k periodontitidě. Na stejný problém upozorňuje Morency (193), tj. na

výskyt kmene *Streptococcus viridans* i na sliznicích urogenitálního traktu. Nandra (201) uvádí v svém souboru kmeny *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus koaguláza negativní*, *GBS* jako nejčastější kmeny, které sliznice urogenitálního traktu kolonizují. Ariel (18) v 70. letech našel u 50 autopsií plodů nejčastěji kmeny *Streptococcus viridans*.

V našem souboru jsme kmeny *Streptococcus viridans* vykultivovali ve 22,4 %. Kmeny *Streptococcus viridans* se vyskytly samostatně pouze dvakrát, jinak byly součástí smíšené mikrobiální flóry. V našem souboru jsme prokázali, že kmeny *Streptococcus viridans* (ve společenství s jinými kmeny) statisticky významně neovlivňují předčasný odtok plodové vody. Kmeny *Streptococcus viridans* v naší studii měly statisticky významný vztah k riziku časně novorozenecké sepse (tab. 11) a to v tom smyslu, že při nálezu kmene *Streptococcus viridans* bylo statisticky významně vyšší riziko časně novorozenecké sepse. Statisticky významný vztah *Streptococcus viridans* k rozvoji chorioamnionitis a k patologickým hodnotám mediátorů zánětu nebyl v našem souboru prokázán. Nelze jednoznačně tvrdit, že kmeny *Streptococcus viridans* vyvolávají infekce plodu, tento vztah je pouze konstatován.

Do skupiny streptokoků patří i kmeny *Streptococcus alfa* a *gama*, které ve studii byly prokázány 2krát, respektive 12krát.

*Streptococcus agalactiae* (streptokoky skupiny B, GBS). V 60–70 letech bylo zjištěno, že GBS jsou velmi významným peripartálním patogenem, působícím jak na ženy, tak i na novorozence. Od 70. let jsou GBS považovány za nejčastější původce infekcí neonatálního období, ústících často do život ohrožující onemocnění. Hlavním zdrojem GBS infekce u novorozence je matka. Samotné vaginální nosičství není stabilní a většinou dochází k rektovaginální kontaminaci. Pro záchyt GBS kolonizace má tedy v průběhu těhotenství větší výpovědní hodnotu kombinace vaginálního a rektálního výtěru. Nosičství bylo prokázáno na tonzilách, v zažívacím traktu i na sliznicích urogenitálního traktu. Samotná přítomnost mikroorganismů nevyvolává klinické příznaky onemocnění. U těhotných žen se incidence GBS kolonizace urogenitálního traktu pohybuje od 15 do 35 %. Infekce vyvolané kmeny streptokoků skupiny B (GBS, *Streptococcus agalactiae*) zvyšují perinatální morbiditu a mortalitu. Primárním rezervoárem kmenů je gastrointestinální trakt, odkud se infekce šíří do traktu urogenitálního. Cesta přestupu infekce na plod je převážně ascendentní, z kolonizované pochvy a z děložního hrdla. Přenos se děje jednak intrapartálně, tedy z matky na dítě, je však možná i ascenze infekce (s PROM i bez PROM). Ke kolonizaci matek může dojít v důsledku hospitalizace (přenos z personálu, z jiných matek a z kojenců). Amniální tekutina je totiž

zcela ideálním kultivačním médiem pro mikroorganismus, který je schopen překonat bariéru plodových obalů bez jejich makroskopického narušení. Hematogenní cesta přenosu infekce je spíše ojedinělá. K přenosu z GBS pozitivních žen na novorozence dochází přibližně v 50 % případů (29–72 %).

Riziko rozvoje infekce dítěte je přímo úměrné stupni kolonizace urogenitálního traktu matky, tedy velikosti infekční dávky (inokula), případně přítomnosti dalších rizikových faktorů (PROM >18 hod.; chorioamnionitis).

U žen kolonizovaných GBS byla některými pracemi konstatována vyšší incidence těhotenských komplikací (nízká porodní hmotnost, porod před 37. gestačním týdnem, předčasný odtok plodové vody – PROM). Intrauterinní GBS infekce může mít za následek intrauterinní úmrtí plodu a mrtvorozenost.

Z hlediska doby nástupu klinických projevů infekce u novorozence rozeznáváme *časnou formu* (early onset), která se projeví do 48 hodin po narození, a *pozdní formu* (late onset), která se projeví po ukončení prvního týdne života. Kromě toho existuje *velmi pozdní forma* (late-late onset), nastupující po 30. dni života; ta je prakticky ve všech případech nozokomiální (5, 17, 49, 97, 130, 177, 327, 329).

Vzhledem k závažnosti významu kolonizace GBS a možným fatálním následkům pro novorozence existuje Doporučený postup při diagnostice a léčbě streptokoků skupiny B v těhotenství a za porodu Perinatologické sekce České gynekologicko – porodnické společnosti. Je zdůrazňována role skríningu, který by měl být proveden u všech těhotných žen okolo 36. týdne těhotenství s výjimkou žen s GBS pozitivní kultivací moči prokázanou kdykoliv v průběhu těhotenství (Měchurová, (180).

Taylor (286) upozorňuje na rasové rozdíly mezi ženami „bílymi“ a „černými“. U Afričanek nalezl kolonizaci GBS ve 35 % u „bílých“ žen v 19,5 %. Ferjani (69) se věnoval prospektivnímu studiu kolonizace GBS u 300 těhotných žen. V prvním trimestru nenašel žádnou kolonizaci, v druhém trimestru našel desetiprocentní a ve třetím trimestru sedmnácti procentní kolonizaci poševní sliznice. Hernández (108) u 72 žen prokazuje statisticky významně častěji kolonizaci kmeny GBS u těhotných žen, které měly v anamnéze tři a více partnerů. Jerbi (131) doporučuje skrínink GBS v průběhu těhotenství a zdůrazňuje velký počet kolonizovaných žen v době porodu. Winn (326) prokazuje vztah nálezů kmenů GBS k chorioamnionitidě. Konrád (146) nalezl u 33 žen kmeny GBS v 26 %. Dybáš (63) nalezl při nálezu vulvovaginitidy ve 42 %. Kovarisarach (148) nalezl kolonizaci kmeny GBS v 18,12 % s tím, že riziko kolonizace stoupá věkem ženy a je nižší na počátku těhotenství. Alvares (12) doporučuje při nálezu GBS podat antibiotikum.

V našem souboru 152 žen jsme prokázali kolonizaci GBS v 18,4 %. V našem souboru kolonizace kmeny GBS neměla statisticky významný vztah k předčasnému odtoku plodové vody, k nálezům chorioamnionitis, k riziku časně novorozenecké sepse ani k patologické hladině mediátorů zánětu v pupečnickové krvi.

Ve skupině *Enterococcus* (jedná se o podmíněné patogeny) bývají kmeny součástí fyziologické flóry v tlustém střevě. Kmeny *Enterococcus* spp. mohou vyvolávat infekci samostatně či v kombinaci s jinými mikroorganismy. Mohou vyvolat především ty druhy nozokomiálních nákaz, které jsou lokalizovány v močových či žlučových cestách. U žen v těhotenství mohou uvedené kmeny vyvolat gynekologické záněty, s následnou infekcí plodu.

Kazimierak (139) uvádí kmeny *Enterococcus faecalis* v hrdle děložním jako nejčastější floru. Dybáš (63) 33 žen s vulvovaginitidou našel kmeny *Enterococcus* spp. ve 33 %. Gojnic (88) našel kmeny *Enterococcus* spp. ve 13,2 %.

Kmeny *Enterococcus* spp. byly v našem souboru prokázány v 35,5 %. V našem souboru kolonizace kmeny *Enterococcus* spp. neměla statisticky významný vztah k předčasnému odtoku plodové vody, k nálezům chorioamnionitis, k riziku časně novorozenecké sepse ani k patologické hladině mediátorů zánětu. Rozdíly mezi nálezy kmenů v souboru 152 žen byly mezi skupinami A a B a skupinou C na hranici statistické významnosti (tab. 6). Tento vztah však vyznívá ve prospěch žen bez PROM. Pro tuto skutečnost jsem nenalezl adekvátní vysvětlení, snad mimo možné chyby malých čísel.

Rod *Pseudomonas* jsou gramnegativní tyčky. Tyto mikroorganismy mohou vyvolávat těžké gramnegativní sepse, přičemž kmeny jsou často multirezistentní na antibiotika. Kmeny jsou hydrofilní. Kmeny *Pseudomonas aeruginosa* u těhotných žen vyvolávají klinické projevy, které souběžné běžné populace dospělých (207). Jsou popisovány kolonizace urogenitálního traktu těmito kmeny, např. Asindi (20) našel ve svém referovaném souboru kmeny *Pseudomonas aeruginosa* u 11 % žen na sliznicích vagíny. V našem souboru jsme kmeny *Pseudomonas aeruginosa* prokázali pouze v moči.

Do skupiny *Enterobacteriaceae* patří kmeny *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*. Tyto kmeny mají úzký vztah k perinatálním infekcím. Zdrojem infekce pro plod je matka. Přenos probíhá vodou, nemytými rukama a je možný i kapénkovou cestou. Primárně patogenní kmeny vyvolávají

onemocnění střev. Podmíněné patogenní enterobaktérie se uplatňují především při vzniku extraintestinálních onemocnění, zejména sepsí, IMC vulvovaginitid atd. Hrají také významnou roli při vzniku nozokomiálních nákaz. Pro vznik infekcí v perinatálním období jsou významné především kmeny *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* a *Enterococcus spp.* Mluví se o tzv. *oportunních kmenech, podmíněných patogenech*, tedy o kmenech, které za běžných podmínek pouze kolonizují sliznice či kůži, ale za určitých podmínek se stanou patogeny. Nelze jednoznačně prohlásit, že některé z těchto kmenů jsou již ve své podstatě patogenní: představují totiž běžnou bakteriální flóru především perigenitální krajiny. Odtud se šíří na primárně sterilní místa, např. na močové cesty, na plodové vejce atd. Kolonizace těmito kmeny se také může týkat sliznic a kůže novorozence. Kmeny *Enterobacteriaceae spp.* jsou běžnou součástí mikroflóry zažívacího traktu dospělých i kojenců. Novorozenec je jimi osídlován hned po narození, především kontaktem s matkou; kolonizace je přitom výrazně ovlivněna způsobem výživy: kolonizace kojeného dítěte je kupříkladu pomalejší, protože převládají grampozitivní bakterie (*Bifidobacterium*), které brání přemnožení *E. coli*.

Je popsáno více než 240 sérotypů kmenů *Escherichia coli*. Pro infekci novorozence mají zvláštní význam kmeny *Escherichia coli* s kapsulárním antigenem K 1. *Escherichia coli* vyvolává u žen především infekci močových cest, méně často vulvovaginitidy. Přenos na plod probíhá transvaginálně, ascendentně, hematogenně, per continuitatem či descendentně. Zdrojem infekce je pro novorozence matka, která má manifestními příznaky onemocnění či je bez klinických projevů. Nejčastěji se u matky jedná o onemocnění urogenitálního či gastrointestinálního systému, většinou o endogenní infekci. Infekce se může projevit průjmem, infekcí močových cest či kolpítidou či intraamniální infekcí. Žena nemusí mít však žádné klinické příznaky. Mikroorganismy vyvolávají zánět placentárních obalů s následnou infekcí plodu. Těhotenství může skončit porodem mrtvého plodu nebo porodem novorozence s příznaky FIRS. U novorozence se může jednat pouze o kolonizaci sliznic bez klinických projevů onemocnění, možné jsou projevy časně nebo pozdní sepse.

Asindi (20) našel na sliznicích vagíny ve svém souboru 11 % kmenů *E. coli*. Hecht (106) našel kmeny *E. coli* při vyšetřování placent. Dybaš (63) našel 24 % kmenů *E. coli* při vulvovaginitidě. Romero (239) referuje o výskytu tohoto kmene v plodové vodě.

V našem souboru 152 žen bylo kolonizováno tímto kmenem 9,2 % těhotných žen. Prokázali jsme statisticky významný vztah mezi nálezy kmeny *Escherichia coli* a histologicky prokázaným zánětem placenty u 31 vyšetření (tab. 17) a to v tom smyslu, že u rodiček kolonizovaných kmeny *Escherichia coli* jsme v našem souboru prokázali statisticky významně vyšší výskyt chorioamnionitis. Vztah mezi kolonizací kmeny *Escherichia coli*

k předčasnému odtoku plodové vody, k riziku časně novorozenecké sepse ani k patologické hladině markerů zánětové odpovědi v pupečnickové krvi nebyl statisticky významný.

*Klebsiella pneumoniae* a *Klebsiella ozaenae* se člení na 77 typů. Vyvolává pneumonii, infekce močových cest, meningitidy, a to především v novorozeneckém věku. U těhotných žen může kolonizovat sliznice urogenitálního traktu. V našem souboru byl kmen *Klebsiella* vykultivován jedenkrát (0,7 %). Asindi (20) vykultivoval kmeny *Klebsiella pneumoniae* v 18 %. Torabi (289) referuje o intrauterinní infekci vyvolané tímto kmenem. Kmen byl prokázán ve fetální krvi, byla histologicky prokázána chorioamnionitida. Těhotenství skončilo úmrtím plodu.

Zástupci rodu *Proteus* jsou kmeny *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*. Epidemiologické šíření je stejné jako u ostatních příslušníků čeledi Enterobacteriaceae. Kmeny tohoto rodu mohou vyvolat především sepse, meningitidy nebo infekce močových cest. U těhotných žen kmeny osidlují urogenitální trakt. V našem souboru jsme tyto kmeny neprokázali.

Některé druhy kmenů *Lactobacillus* tvoří hlavní součást vaginální flóry. Jsou fakultativně anaerobní. Tvoří směs a ta se nazývá „Döderleinův laktobacil“. Jedná se např. o kmen *Lactobacillus acidophilus*. I kmeny *Lactobacillus* jsou pokládány v současné době za potencionální patogeny. *Lactobacillus* působí na glykogen a metabolizuje ji na kyselinu mléčnou. Tímto mechanismem, se vytváří nízké poševní pH. Nízké pH je jedním z klíčových obranných mechanismů pochvy před invazí mikroorganismů. Kmeny produkují dále peroxid vodíku a ten také inhibuje růst mikroorganismů. U žen s poševními záněty však kmeny *Lactobacillus* tuto vlastnost ztrácejí. Unzeitig (291, 293, 295). Laktobacily osidlují vagínu novorozeneckých děvčátek a sliznice střev kojenců. Laktobacilové kmeny se využívají terapeuticky také při střevní dysmikrobii. V našem souboru jsme tyto kmeny vykultivovali v 38,2 % s tím, že jsme prokázali statisticky významný vztah mezi ženami bez odtoku plodové vody (skupina C) a ženami s PROM a to ve prospěch žen skupiny C. Při analýze vztahu mezi skupinami s PROM respektive pPROM a kontrolní skupinou (A:C a B:C) byla v našem souboru statisticky významně nižší frekvence průkazu přítomnosti Laktobacila ve skupině s PROM či pPROM. Vztah mezi průkazem *Lactobacillus* spp. a rizikem časně novorozenecké sepse ani patologickými hladinami mediátorů zánětu v pupečnickové krvi nebyl statisticky významný. Laktobacily však nebyly dále typizovány a tyto výsledky vycházely pouze z údajů, které byly získány aerobní kultivací.



***Gardenella vaginalis***. Je popisován její úzký vztah k nespecifické vaginóze (bakteriální vaginóza). Kmeny *Gardenella vaginalis* byly vykultivovány i z močové trubice u mužů. V literatuře je popisována novorozenecká infekce močových cest. O vztahu *Gardenerella vaginalis* k bakteriální vaginóze a k následné možné infekci plodu nebo k rozvoji syndromu předčasného porodu referuje celá řada publikací, např. Cauci (43), Unzeitig (291, 293), Georgjevič (79), Waites (321). Romero (244) referuje o výskytu tohoto kmene v plodové vodě.

V našem souboru jsme vykultivovali kmeny *Gardnerella vaginalis* u 16,4 % žen. Naše studie ale nebyla zaměřena na diagnostiku bakteriální vaginózy jako takové, pro to by bylo nutné do designu studie použít další diagnostická kritéria. Neprokázali jsme žádný statisticky významný vztah *Gardnerella vaginalis* k předčasnému odtoku plodové vody, k riziku časně novorozenecké sepse, k zánětu placenty ani k patologickým hladinám mediátorů zánětu v pupečnickové krvi.

***Corynebacterium species***. Zástupcem je kmen *Corynebacterium diphtherie*. V novorozeneckém věku je výskyt záškrtu vzácný. Je popisována pouze novorozenecká difterická angína a rýma. Hecht (106) vyšetřil 835 placent. U 41 % placent byl pozitivní mikrobiologický nález různými kmeny. Autor zdůrazňuje nález kmenů *Corynebacterium spp.* Waites (321) popisuje intrauterinní úmrtí plodu, při kterém bylo vykultivováno 5 mikroorganismů, z nichž kmeny *Corynebacterium* byly třetím nejčastějším kmenem. Georgjevič (79) popisuje výskyt kmenů *Corynebacterium spp.* v souvislosti s vaginózou.

V našem souboru jsme identifikovali tyto kmeny ve 24,3 %. Neprokázali jsme však žádný statisticky významný vztah *Corynebacterium spp.* k předčasnému odtoku plodové vody, k riziku časně novorozenecké sepse, k zánětu placenty ani k patologickým hladinám mediátorů zánětu v pupečnickové krvi.

***Mykotické infekce*** se objevují se stále častěji u žen i novorozenců. Jsou vyvolány nejčastěji kmeny *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*. Kandidy jsou rozšířené v lidské populaci, ale většinou pouze kolonizují sliznice včetně urogenitálního traktu a kůže. Za jistých podmínek mohou však působit jako patogeny. Novorozenci mohou být kolonizováni před porodem, v době porodu i postnatálně. Plod je infikován většinou ascendentní cestou nebo iatrogeně především v souvislosti s prováděnou amniocentézou. Kandidy mohou pronikat k plodu i přes intaktní plodové blány (247, 248, 314).

Aboyeji (4) našel kmeny *C. albicans* ve 23 % v souvislosti s perforací střev novorozence. Ragouilliaux (223) uvádí kolonizaci sliznice vagíny v 53 %. Friebe-Hoffman (73) diagnostikoval chorioamnionitis vyvolanou kmenem *Candida albicans* v souvislosti s úmrtím plodu. Garcia Heredia (76) našel u 493 žen kmeny kandid. V 93 % se jednalo o kmeny *Candida albicans* a v 6,3 % o *Candida glabra*. V souboru Nikolova (204) byly sliznice vagíny 172 žen kolonizovány kmeny *Candida albicans* v 25 %. Rode (226) uvádí kasuistiku, při které diagnostikuje nitroděložní úmrtí plodu u 29leté ženy nálezem chorioamnionitidy. Crawford (51) vykultivoval v amniové tekutině kulturu *Candida albicans* a chorioamnionitidu v souvislosti s prováděnou amniocentézou.

V našem souboru 152 žen jsme našli kolonizaci pochvy kmenem *Candida albicans* u 25 % žen, *Candida glabrata* pak u 3 žen (2 %), *Candida tropicalis* u 1 ženy (0,7 %). Žádný z těchto kmenů neměl v naší studii statisticky významný vztah k předčasnému odtoku plodové vody, k riziku časně novorozenecké sepse, k zánětu placenty ani k patologickým hladinám mediátorů zánětu v pupečnickové krvi.

***Chlamydia trachomatis*** je drobná bakterie se striktně intracelulárním vývojovým cyklem. Buněčná stěna má charakter gramnegativních bakterií. Přenáší se především pohlavním stykem, během porodu pak z matky na dítě kontaktem s infikovanými sekrety. Možný je pravděpodobně i přenos sekrety při velmi těsném kontaktu. V prostředí přežívá jen velmi krátce, přenos kontaminovanými předměty a běžným společenským stykem je nepravděpodobný. Chlamydiová infekce u těhotné obvykle probíhá pod obrazem cervicitidy, hlavním příznakem je hlenohnisavý výtok. Ascendentní infekce je v těhotenství vzácná. Kmeny mohou vyvolat cervicitidu, endometritidu, uretritidu, zánět Bartholiniho žlázy, hluboký pánevní zánět s pozdními následky, infertilitu a další. V porodnictví může přispívat k PROM, rozvoji syndromu předčasného porodu a komplikacím puerperia.

U novorozenců infekce vyvolává především konjunktivitidu. Pawlovská (212) uvádí výskyt kmenů *Chlamydia trachomatis* v populaci 2,5 %. Paul (211) referuje, že přítomnost kmenů *Chlamydia trachomatis* má úzký vztah ke vzniku chorioamnionitidy a svojí teorii podpořil výsledky pozitivních histologických nálezů ve 24 %. Djukič (57) zdůrazňuje časný přenos tohoto kmene do plodové vody, ale ve svém sdělení termín chorioamnionitida používá ve smyslu klinické jednotky. Slomko (272) zdůrazňuje vztah mezi nálezem kmenů *Chlamydia trachomatis* a chorioamnionitidou. Termín chorioamnionitidy používá ve smyslu klinické jednotky a neopírá se o histologicky prokázaný zánět placenty.

V našem souboru 152 žen jsme našli kmeny *Chlamydia trachomatis* v 8,6 %. Nejčastěji ve skupině žen bez odtoku plodové vody. Neprokáali jsme žádný statisticky významný vztah *Chlamydia trachomatis* k předčasnému odtoku plodové vody, k riziku časně novorozenecké sepse, k zánětu placenty ani k patologickým hladinám mediátorů zánětu markerů v pupečnickové krvi.

**Mollicutes (Mycoplasma, Ureaplasma).** Jde o zvláštní skupinu bakterií, které z mikrobiologického hlediska netvoří peptidoglykan ani pevnou buněčnou stěnu. Radíme sem rody *Mycoplasma* a *Ureaplasma*, jejichž příslušníci patří k nejmenším mikroorganismům schopným samostatného růstu, velikostí srovnatelným s viry. *Mycoplasma hominis* je bakterie s geneticky podmíněným defektem syntézy buněčné stěny. Vyskytuje se často v souvislosti s poševní dysmikrobií (bakteriální vaginóza). Nález je poměrně častý i u zdravých jedinců, vyšší je u promiskuitních osob.

*Ureaplasma urealyticum* je rovněž bakterie s geneticky podmíněným defektem syntézy buněčné stěny, vyskytující se rovněž v souvislosti s poševní dysmikrobií, a to i u zdravých jedinců. U těhotných žen je velmi častá kolonizace porodních cest uvedenými kmeny (pohybuje se od 45 do 80 %). Kolonizace horní části genitálního traktu (endometria) nemusí být provázena známkami zánětu. Amniální kolonizace kmeny *Ureaplasma urealyticum* byla mezi 16. až 20. gestačním týdnem v rámci amniocentézy zjištěna v 0,3 až 3 % vyšetřeních. Jako hlavní způsob přenosu se předpokládá pohlavní styk. Jelikož se infekce objevuje i u žen sexuálně neaktivních, je zřejmě možný i jiný způsob přenosu, a to včetně autoinfekce. Pro plod je zdrojem matka a cesta infekce je transvaginální, ascendentní nebo k ní dochází aspirací cervikovaginálního sekretu.

Jakákoliv kolonizace horní části genitálního traktu je spojena se zvýšeným rizikem (předčasný porod, předčasný odtok plodové vody, poporodní endometritida).

Infekce *Mycoplasma hominis* a *Ureaplasma urealyticum* je spojena se zvýšenou frekvencí mrtvorozenosti a abortů, nejčastěji ve 2. trimestru. Infekce mykoplasmaty může rovněž být příčinou infertility. U potratů nebo u mrtvorozených plodů může být v některých případech prokázána primární chorioamnionitis s následnou generalizací infekce do většiny tkání plodu (plíce, játra, slezina, mozek). V tkáňových kulturách infikovaných mykoplasmaty byla zjištěna chromozomální poškození a blokáda mitózy. Opakovaně je referováno o možném vzniku fetálního hydropsu (2, 98).

Gauthier (77) provedl 225 amniocentéz, v 15 % zjistil kmeny *Ureaplasma urealyticum* v plodové vodě a pouze u třech dětí byly suspektní nebo prokázané infekce novorozence. Dále

uvádí, že morbidita novorozenců s pozitivním kultivačním nálezem kmenů mollicutes a jejich negativním kultivačním nálezem v plodové vodě není rozdílná. Hecht (106) našel kmeny *Ureaplasma urealyticum* jako druhý nejčastější nález při vyšetření poševního sekretu. Mitsunari (190) prokázal při vyšetření kmenů *Ureaplasma urealyticum* DNA z hrdla děložního statisticky významnou souvislost k předčasnému odtoku plodové vody a k předčasnému porodu. Yoon (331) detekuje kmeny *Ureaplasma urealyticum* pomocí PCR a poukazuje na možnost pozitivního nálezu kmenů touto metodou a negativního nálezu při běžné kultivaci. Abele (3) referuje o vztahu kolonizace kmeny *Ureaplasma* k porodní hmotnosti. Goncalves (94) uvádí jako nejčastější nálezy v pochvě kmeny *Ureaplasma urealyticum* a *Mycoplasma hominis*.

Samostatná kolonizace *Mycoplasma hominis* nebývá spojena s výskytem plodů s nižší porodní hmotností. Klinicky se infekce může projevit respiračními poruchami u novorozence. Kmeny *Mycoplasma hominis* a kmeny *Ureaplasma urealyticum* byly velmi často zároveň přítomny při sonograficky zjištěném zkrácení hrdla děložního Holst (114).

V našem souboru 152 žen jsme našli kmeny *Ureaplasma urealyticum* v 45,4 %, *Mycoplasma hominis* v 5,3 %. Neprokázali jsme žádný statisticky významný vztah *Ureaplasma urealyticum* ani *Mycoplasma hominis* k předčasnému odtoku plodové vody, k zánětu placenty ani k patologickým hladinám mediátorů zánětu v pupečnickové krvi. Potvrdili jsme, že nález kmenů *Ureaplasma urealyticum* je druhý nejčastější nález při aerobní kultivaci poševního sekretu (tab. 6). Neprokázali jsme ani statisticky významný vztah k riziku časně novorozenecké sepse tak, jak uvádí např. Romero (234). Zde je však nutné připomenout, že uvedená práce vychází z kultivačního vyšetření plodové vody. Neprokázali jsme ani statisticky významný vztah nálezu *Mycoplasma hominis* k riziku časně novorozenecké sepse.

V rámci studie byl vyšetřován i **mikrobní obraz poševní** (MOP). MOP slouží k orientačnímu hodnocení poměru a morfologie buněčných elementů, přičemž umožňuje i stanovit diagnózu při nálezů některých typických patogenů (trichomonády, gonokok a kvasinkovité mikroorganismy). Je rychlou diagnostickou metodou vhodnou pro praxi. Mikroskopické vyšetření poševního sekretu je běžně používáno, klasifikace MOP však je do určité míry českým specifikem.

V našem souboru nebylo z nejrůznějších důvodů možné MOP hodnotit u 27 žen. Statistickou analýzou našeho souboru bylo zjištěno (tab. 7), že MOP I byl statisticky významně častěji prokazován u žen bez PROM (skupina C). MOP I je považován za obraz

normálního fyziologického osídlení pochvy zdravé ženy ve fertilním věku. V nátěru jsou přítomny epitelie, někdy ojediněle lymfocyty nebo leukocyty a velké množství grampozitivních hrubých tyček (*Lactobacillus*). Jiná bakteriální flóra nebývá přítomna.

Dále bylo zjištěno, že u žen s MOP VI (mykózou) došlo statisticky významně častěji k PROM u termínové gravidity (skupina A), nežli v ostatních skupinách. Při nálezů MOP VI v našem souboru však tento vztah nekoreloval s kultivačním nálezem *Candida albicans*, u kterého byl tento vztah statisticky nevýznamný.

## 5.2 Komentář výsledků – histologická vyšetření placent

Další částí studie bylo histologické vyšetření placent. Vzhledem k tomu, že byla sledována mikrobiální flóra a nikoli virová etiologie, prokazovali jsme výskyt amniového typu chorioamnionitis. Pod pojem amniový typ zánětu placenty se zahrnují změny v samotné placentě, v plodových obalech a/nebo v pupečníku. V literatuře existuje pro toto onemocnění mnoho synonym: (*Amnionic sac infection syndrome* (Blanc (33), *chorioamnionitida* (30, 31, 36), *intraamniotic infection nebo ascending infection* (71, 161). Protože proces nepostihuje vždy všechny úseky stěny plodové dutiny (*amniové dutiny*) plodového vejce rovnoměrně, používají se další termíny: *Amnionitida* – zánět ve stromatu volného plodového obalu (synonymum: *membranitida*). *Choriová placentitida* – zánět vazivové tkáně choriové plotny (synonymum: *chorionitida*). *Vaskulitida choriové plotny* – zánět větví alantoidních cév (synonymum: *fetal plate vasculitis*). *Omfalovaskulitida* – zánět pupečnickových cév, žíla bývá zpravidla postižena dříve a více než artérie (*umbilical cord vasculitis*). *Funikulitida*, popř. *funisitida* – zánět Whartonova rosolu.

Histologický nález na placentě odpovídající amniovému typu se může vyvinout následkem infekce ale i z jiných příčin. Některé změny jsou popisovány např. ve smyslu hypoxických změn. Kvalita nálezů souvisí také se stářím těhotenství. Týkají se nekrózy buněk a tkání a rovněž exsudace a proliferace vazivové tkáně. Nekróza a proliferace jsou ekvivalenty zánětu, které převládají v obraze především v embryonálním a časném fetálním období, zatímco zánět s celulárním exsudátem se detekuje ve 2. a 3. trimestru. Jedná se o akutní granulocytární a zčásti nekrotizující zánět plodových obalů, choriové plotny a nebo pupečníku. Je nutné vymezit vzácnou formu průběhu s nahromaděním makrofágů a lymfocytů a zmnožením vlastních buněk vazivové tkáně ve stromatu plodového obalu.

Zánět se může týkat různých částí stěny amniové dutiny, tzn. amnia, choriové plotny nebo pupečníku (191, 203, 307).

V našem souboru jsme prokázali přítomnost zánětu placenty v 31 případech (20 %), šlo o záněty amniového typu. Funisitis byla prokázána ve 4,8%. V našem souboru jsme při histologickém vyšetření prokázali statisticky významně více případů chorioamnionitis případně funisitis u rodiček s pPROM (skupina B) oproti ostatním skupinám (skupiny A + C) (tab. 13). Při histologickém nálezu chorioamnionitis bylo v našem souboru statisticky také statisticky významně zvýšené riziko časně novorozenecké sepse (tab. 14) přičemž totéž platilo i při histologickém nálezu funisitis (tab. 15).

Využití histologického vyšetření placenty pro stanovní rizika časně novorozenecké sepse se jeví pouze omezené. Je to dáno především časovým intervalem mezi odběrem placenty a jejím histologickým vyšetřením. Úloha histologického vyšetření tak spočívá především v možném doplnění diagnózy.

### **5.3 Komentář výsledků – mediátory zánětu v pupečnickové krvi**

Výběr mediátorů zánětu zvolených pro klinickou studii i jejich hraniční hodnoty definující riziko časně novorozenecké sepse vycházely z prací Martin et al. (172) a ze sedmileté praxe Centrálních laboratoří Nemocnice České Budějovice a.s. Ideální cut-off sérové hodnoty IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  a sICAM-1 jsou takové, které mají vysokou senzitivitu a zároveň i vysokou specificitu. Cut-off hodnoty hladin mediátorů zánětu, které jsme využili v naší studii k definici rizika časně novorozenecké sepse, byly také v souladu s klinicky a laboratorně ověřenými nálezy u časných novorozeneckých sepsí na neontologickém oddělení Nemocnice České Budějovice a.s. Výběr sledovaných cytokinů vycházel jednak z literárních údajů a také ze skutečnosti, že v době zahájení studie nebyl k dispozici laboratorní set pro vyšetřování hladin cytokinu IL-1 (tab. 2).

V naší studii jsme také provedli vyšetření CRP v séru u rodiček. Za fyziologickou je považována hodnota CRP do 5 mg/l. Z nejrůznějších důvodů se nepodařilo získat tato data kompletní, ale pouze od 119 žen. Proto jsem tyto údaje použil pouze v charakteristice souboru (tab. 5) a v dalších analýzách jsme již s tímto údajem nepracovali.

Definice časně novorozenecké sepse je založena na americké studii publikované v roce 1992 (American Academy, 13). Další definici sepse publikoval Levy et al. (159). Hlavní

pozornostně soustředěna na roli prozánětlivých cytokinů, jako jsou IL-6, IL-8 a TNF- $\alpha$ . Roli v zánětové odpovědi hrají i další pro-inflamatorní i anti-inflamatorní cytokiny, chemokiny, PAF (platelet activating factor), prostaglandiny a další mediátory zánětu (307, 310).

Důležité je sdělení autorů Aaltonen et al., kteří upozorňují, že prozánětlivé cytokiny u termínových gravidit neprocházejí placentou (1). Doellner et al. zjistil vztah mezi chorioamnionitidou a zvýšenou hladinou prozánětlivých cytokinů v pupečnickové krvi (58). Vztah mezi chorioamnionitidou a cytokiny zdůrazňuje Velemínský et al. (303, 304). Vogel et al. se zmiňuje o cytokinech jako vhodných biomarkerech pro predikci předčasného porodu (320). Asrat upozorňuje na zvýšené hladiny proinflamatorních cytokinů v plodové vodě při PROM (21). Zjistil vyšší hladiny cytokinů u žen s PROM, které porodily do sedmého dne. Hillier et al. upozorňuje na vyšší hladiny proinflamatorních cytokinů v amniové tekutině u předčasném porodu, infekce amniové tekutiny a histologickém nálezu chorioamnionitidy (109). Keenan et al. podává celkový přehled o významu cytokinů a prostaglandinů při PROM (140). Lencki et al. se zabývá hladinami interleukinů v mateřské a umbilikální krvi u nedonošených dětí s klinickými projevy intraamniální infekce (157). Menon et al. studoval vztah zánětu fetálních membrán a prozánětlivých cytokinů a prokázal vyšší hladiny cytokinů při jejich prokázaném zánětu (186). Murtha et al. studoval hladiny cytokinů ve vztahu k PROM s tím, že upozorňuje na vztah mezi vyšší hladinou cytokinů v séru matky a předčasným porodem (198). Saji et al. se zmiňuje o významu zvýšené produkce cytokinů ve vztahu k chorioamnionitidě (251). Upozorňuje také na vztah mezi histologickým nálezem chorioamnionitidy a vyšší hladinou cytokinů v krvi novorozence a zvýšenou frekvencí nálezů intrakraniálního krvácení. Torbé et al. upozorňuje na význam proinflamatorních cytokinů při předčasném porodu s intaktní plodovými obaly (290). Zbojan et al. upozorňuje na cytokiny jako možné laboratorní markery sepse, na jejich využití v neonatologii (335). Gomez et al. upozorňuje, že předčasný porod a intraamniální infekce je v přímé souvislosti se zvýšenými aktivitami cytokinů. Ty lze pak následně využít k diagnóze intraamniální infekce (93). Zdůrazňována je i role cytokinů u předčasném porodu a poškození CNS novorozenců. Murtha et al. zdůrazňuje význam zvýšených hladin proinflamatorních cytokinů u žen s PROM (198). Naccasha et al. zdůrazňuje významný vztah mezi průkazem funisitidy a zvýšenou hladinou IL-6 v pupečnickové krvi (200). Romero et al. definuje FIRS a zdůrazňuje na význam IL-6 (245). Suzuki et al. upozorňuje na význam zvýšených hladin cytokinů v amniové tekutině při intraamniální infekci (277). Torbé et al. referuje o významu zvýšených hladin proinflamatorních cytokinů pro průkaz neonatologické a histologické infekce (290). Rovněž zdůrazňuje význam cytokinů u PROM a intraamniální infekce.

## **IL-1**

Arutzen et al. upozorňuje na skutečnost, že IL-1 je zvýšen u chorioamnionitidy (19). Arutzen také vyšetřoval cytokiny v plodové vodě a zjistil zvýšenou hladinu IL-1 u chorioamnionitidy. Hladina cytokinu IL-6 byla zvýšena u předčasného porodu (19). Basso et al. zdůrazňuje význam cytokinů IL-1, IL-1 beta, IL-6 a IL-8 u gynekologicko-porodnických infekcí (24). Prokázal zvýšenou hladinu cytokinu IL-1 a IL-8 v poševním sekretu a IL-8 v moči. Baud et al. hodnotil hladinu CRP v séru a v plodové vodě. Zjistil výraznou korelaci mezi CRP matky a cytokiny (25). O významu vysoké hladiny cytokinů IL-1 beta, interleukinu 6 a TNF alfa v plazmě krve matky referuje de Bont et al. (48). Zmiňuje se také o hladinách cytokinu IL-1 beta a cytokinu IL-6 a jejich vztahu s prostaglandiny v pochvě a hrdle děložním před a v průběhu porodu. Martin et al. (172) referuje o vztahu mezi hyperemií novorozence a zvýšenými hladinami cytokinů IL-1 a IL-6 v arteriolách příčně pruhovaných svalů. Romero et al. (231) upozorňuje na stimulační efekt cytokinů a prostaglandinů v průběhu porodu. Dále upozorňuje, že zvýšená hladina cytokinu IL-1 signalizuje začátek porodu u žen s prokázanou chorioamnionitidou (237). Büscher et al. (41) upozorňuje na význam zvýšených hladin cytokinů IL-1 beta, IL-6 a IL-8 a granulocyte colony-stimulating faktoru (GCSF) pro diagnózu časně novorozenecké infekce s tím, že zdůrazňuje význam IL-6. Zmiňován je i význam plazmatických hladin cytokinů IL-1 beta, IL-6, IL-8, a ICAM a jejich genové exprese u časně novorozenecké sepse. Zdůrazňuje se také význam vyšší hladiny receptoru cytokinu IL-1 a cytokinu IL-6 pro včasnou diagnózu neonatální sepse, 2 dny před její klinickou manifestací. Romero et al. (236) uvádí, že zvýšená hladina cytokinu IL-1 je významným signálem předčasného porodu.

## **IL-6**

An et al. (16) popisuje zvýšenou hladinu cytokinů IL-6, IL-8 a TNF- $\alpha$  v pupečnickové krvi jako prediktoru chronického onemocnění plic. Doellner et al. (58) upozorňuje na koncentraci cytokinu IL-6 u novorozenecké sepse jako kritéria rozvíjející se sepse. Fukuda et al. (74) upozorňuje na význam zvýšené hladiny receptoru cytokinu IL-6 a IL-1 v amniové tekutině a fetální krvi u žen s PROM. Gomez et al. (92) využívají hladiny cytokinu IL-6 v plodové vodě, počet leukocytů a hodnocení mikrobiální flóry v diagnóze mikrobiální invaze do amniální tekutiny. Význam hladin cytokinu IL-6 v patogenéze FIRS zdůrazňuje Gomez et al. (92). Zdůrazňuje význam cytokinu IL-6 jako velmi citlivého parametru pro včasnou diagnózu bakteriální infekce a jeho stoupající hladinu při sepsi. Hebisch et al. (104) se zabýval vztahem mezi hladinou zvýšenou hladinou cytokinu IL-6 v plodové vodě a cervikální dilatací



v průběhu termínového porodu. Källman et al. (137) zdůrazňuje význam hladiny cytokinu IL-6 při vzniku onemocnění plic a neonatální sepsi. Messer et al. (187) zdůrazňuje význam zvýšených hladin cytokinu IL-6 a TNF- $\alpha$  pro časnou diagnózu neonatální sepse. Panero et al. (209) zdůrazňuje význam zvýšené hladiny cytokinu IL-6 diagnózu časně i pozdní novorozenecké sepsi. Perneyi et al. (214) upozorňuje na význam zvýšené hladiny cytokinu IL-6 v pupečnickové krvi jako indikátoru diagnózy novorozenecké sepse. Rogers et al. (227) zdůrazňuje korelaci zvýšené hladiny cytokinu IL-6 v umbilikální žíle, zánětem a gestačním věkem. Romero et al. popisují zvýšené hladiny cytokinu IL-6 u předčasného porodu, který byl vyvolán infekcí (229). Saito et al. (250) srovnává zvýšenou koncentraci cytokinů IL-6, IL-8 a GCSF u předčasných porodů a porodů v termínu. Silveira et al. (268) popisuje vývoj hladin cytokinů IL-6, TNF- $\alpha$  a IL-1 beta pro včasnou diagnózu neonatální sepse. Rovněž Singh et al. (270) zdůrazňuje diagnostický význam zvýšených hladin cytokinu IL-6 v pupečnickové krvi u časně novorozenecké sepse. Smulian et al. (274) hodnotí zvýšené hladiny cytokinů IL-6 a s ICAM-1 v artérii a venózní krvi jako vhodného markeru rozvíjející neonatální sepse. Tasci et al. (285) upozorňuje na význam zvýšené hladiny cytokinu IL-6 v pupečnickové krvi pro predikci histologického nálezu chorioamnionitidy a funisitidy ve spojení s PROM. Weimann et al. (323) sledoval hladiny cytokinu IL-6 v pupečnickové krvi a zjistil vyšší hladinu cytokinu IL-6 u předčasných porodů s perinatální infekcí. Weimann et al. (233) zjistil zvýšené hladiny cytokinů IL-6 a TNF- $\alpha$  v mateřském séru i v plodové vodě matek s PROM. Yoon et al. (332) upozorňuje na zvýšenou koncentraci IL-6 v pupečnickové krvi a jeho asociaci s periventrikulárním krvácením. Plazmatická hladina IL-6 je spolehlivější marker bakteriální sepse a NEC než TNF- $\alpha$  (333). Zou et al. (333) konstatuje, že zvýšené hladiny cytokinů IL-6, IL-8 a TNF- $\alpha$  v amniové tekutině a mateřském séru jsou zvýšené u žen s PROM.

## **IL-8**

Cytokin IL-8 se účastní vzniku intraamniální infekce velmi aktivně a jeho význam je referován v předchozích citacích. O samostatném účinkování cytokinu IL-8 v patogeneze intraamniální infekce se zmiňuje Franz et al., který srovnává význam cytokinu IL-8 a CRP ve vztahu k bakteriální infekci. Je zmiňována i souvislost mezi hladinou cytokinu IL-8 v plodové tekutině a bronchopulmonální dysplázií u dětí, stejně jako vyšší hladina IL-8 u FIRS. Uváděn je i význam mechanického stretchingu pro indukci cytokinu IL-8 a následnou indukci předčasného porodu (23, 26, 46, 128, 197, 213, 256, 328, 234).

## **TNF- $\alpha$**

De Bont et al. (48) upozorňuje na vysoké plazmatické hladiny cytokinů TNF- $\alpha$  a IL-6 u novorozenců se sepsí. Kashlan et al. (138) zdůrazňuje význam zvýšené hladiny cytokinů TNF- $\alpha$  a IL-6 v pupečnickové krvi s tím, že tyto hladiny korelují histologickým nálezem chorioamnionitidy. Sérová hladina TNF- $\alpha$  je uváděna jako vhodný indikátor vzniku časné novorozenecké sepse. Baud et al. (25) upozorňuje, že zvýšené koncentrace cytokinů TNF- $\alpha$ , IL-1 a IL-6 před 32. týdnem jsou spojeny s výskytem chorioamnionitidy a neonatální infekce. Cassel et al. (43) sledoval hodnoty TNF- $\alpha$  při indukci předčasného porodu. Fortunato et al. (70) upozorňuje na významnou roli TNF- $\alpha$  pro vznik PROM a předčasného porodu. Zmiňován je také význam konvertujícího enzymu a TNF- $\alpha$  v těhotenství, které je komplikováno chorioamnionitidou. Roberts et al. (225) upozorňuje na spojení polymorfismu genu TNF- $\alpha$  se zvýšeným rizikem PROM. Romero et al. (237) upozorňuje na vztah zvýšené hladiny cytokinu TNF- $\alpha$  a vznikem intraaminální infekce. Schueller (263) referuje o prevalenci dvou genů cytokinu TNF- $\alpha$  u předčasného porodu a rozvoje sepse. Silveira et al. (268) sledoval hladiny cytokinů TNF- $\alpha$ , IL-6 a IL-1 beta a upozornil na vztah těchto hladin pro včasnou diagnózu neonatální sepse. Romero et al. (237) se zabývá časnou diagnózou FIRS a potenciální homeostatickou rolí solubilního receptoru TNF- $\alpha$ . Upozorňuje také na vyšší hladiny cytokinů TNF- $\alpha$ , IL-6 a IL-8 v amniové tekutině a mateřském séru u pacientů s předčasně odteklou plodovou vodou.

## **sICAM-1**

Význam sledování hladin sICAM-1 v souvislosti s diagnostikou intraamniální a novorozenecké infekce je rozdílný. Aliefendioglu et al. srovnává hladiny ICAM-1 v séru matek a v pupečnickové krvi novorozenců (6). Hladiny ICAM-1 korelovaly jen s gestačním stářím novorozence a asi souvisí s hladinami u matky (vysoké hladiny matek s preeklampií měly děti). DiStefano et al. (56) v roce 1997 sledoval prospektivně hladiny sICAM-1 dva týdny po porodu. Cirkulující sICAM-1 byl zvýšen u novorozenců s poruchami dýchání a infekcí. Třetí den po porodu byly signifikantně zvýšené hladiny u infekcí. Koexistence chorioamnionitidy s časnou novorozeneckou sepsí zvyšuje u nich hladiny sICAM-1. Při normální hladině sICAM-1 v pupečnickové krvi nelze vyloučit časnou novorozeneckou sepsi, protože nemocní novorozenci z gravidity, ve které se vyskytla chorioamnionitida, nemusí reagovat zvýšenou hladinou sICAM-1 (92). Uvádí, že ve srovnání s ostatními markery má ICAM-1 nejmenší výpovědní hodnotu a že při časné sepsi novorozence jsou vysoké hladiny sICAM-1 z pupečnickové krve hodnoceny z pohledu diagnózy jen jako suspektní. Není tedy,

na rozdíl od cytokinů, vhodné používat hodnoty této adhezivní molekuly k potvrzení časně novorozenecké sepse. Hansen et al. (101) v roce 2000 srovnával význam sICAM-1 a CRP, jejichž kombinace je vhodným testem pro identifikaci novorozence s infekcí do 5.dne věku. Ma et al. (170) hodnotil hladiny sICAM-1 jako markeru infekce. Zjistil, že sICAM-1 koreluje s novorozeneckou sepsí. Senzitivita u novorozenců se suspektní infekcí byla 85%, specificita 54,3 %. Smulian et al. (273) v roce 1997 srovnával hladiny sICAM-1 mezi pupečnickovou vénou a artérii. Nenašel rozdíl. Smulian (273) dále doporučuje využít pro diagnózu neonatální sepse spíše hladiny IL-6 než hladiny sICAM-1. Smulian (273) dále konstatoval, že hladiny IL-6 a sICAM-1 korelují v umbilikální artérii a véně. Zou et al. (336) sledoval hladiny sICAM-1 v séru zdravých matek a v séru matek s chorioamnionitidou. Došel k závěru, že hladina sICAM-1 u matky je pro diagnózu intraamniální infekce u těhotné s PROM důležitější marker než CRP.

Jako součástí cytokinové sítě, která se účastní při rozvoji intraamniální infekce, jsou také zmiňovány další cytokiny, například IL-10. V patogenezi intraamniální infekce je popisován i význam IL-18 (311).

V literatuře se také v souvislosti s patogenezi intraamniálních infekcí uvádějí údaje o významu Granulocyte colony stimulating faktoru (G-CSF) (22).

V patogenezi intraamniálních a novorozeneckých infekcích hrají významnou roli kromě cytokinové sítě také lokální zánětové a imunitní procesy. O těchto se např. zmiňuje D'Alquen et al. (53). Např. Harris et al. (102) se zmiňuje o endotoxinu, který ovlivňuje adhesi mesenterických postkapilárních vén. Chaiworapongsa et al. (122) v roce 2005 pozoroval migraci makrofágů u předčasných porodů a zároveň mikrobiální invazi. Význam Toll-like receptoru (TLRs) při vzniku infekce je popisován v souvislosti s bakteriální vaginózou (125, 174, 278, 283, 311).

Z předloženého přehledu vyplývá, že celá řada autorů využívá k diagnostice intraamniální infekce a časně novorozenecké sepse celou škálu laboratorních markerů. Jejich hodnoty se liší podle toho odkud a jaký biologický materiál byl odebrán (plodová voda, krev matky, pupečnicková krev atd.). Ve své práci jsem se zabýval hodnocením hladin cytokinů a sICAM-1 z pupečnickové vény. Skrínigová vyšetření za dané situace není možné provádět vyšetřením plodové vody. Odběr krve od matky pouze za výzkumným účelem vyžaduje také souhlas Etické komise. Kromě toho je nutné uvést, že skrínigové vyšetření intraamniální a neonatální infekce v tomto rozsahu, tj. založené na sledování hladin cytokinů a sICAM-1 v pupečnickové

krvi není literárně dokladováno. Významným faktorem je také ekonomická náročnost takto provedeného výzkumu.

Jednotlivé vybrané markery byly hodnoceny z pohledu senzitivity a specifity. Za zmínku stojí skutečnost, že při samostatném použití TNF- $\alpha$  jako markeru rizika časně novorozenecké sepse, byla jeho senzitivita oproti ostatním markerům nízká (36,4 %), zatímco u IL6, IL-8 a sICAM-1 se pohybovala v rozmezí 80,0–87,5 %. Specifita všech testů byla vysoká, pohybovala se v rozmezí 94,3–97,2 %. T tohoto pohledu se jeví použití TNF- $\alpha$  jako samostatného skriningového markeru jako nevhodné. Při kombinaci jednotlivých markerů již mezi jednotlivými kombinacemi nebyly nalezeny významnější rozdíly (tab. 20).

Při hodnocení využití použitých markerů jako skriningového vyšetření rizika časně novorozenecké sepse, se pro skupinu novorozenců narozených ženám s pPROM, tedy před 37. týdnem těhotenství, jeví jako dostatečné spolehlivé vyšetření pouze jednoho ze zvolených markerů, vzhledem k nízké specifitě snad pouze mimo TNF- $\alpha$ . Pro ostatní skupiny v naší studii platilo, že novorozence s rizikem časně novorozenecké sepse určí spolehlivě vyšetření jakékoli kombinace dvou až čtyř markerů (tab. 22, 23 a 24, 25).

Při hodnocení výzkumu bylo nutné brát v úvahu skutečnost, že role sledovaných markerů není samostatná, ale jsou součástí cytokinové sítě, tedy že nikdy nepůsobí samostatně. Vzhledem k provázanosti těchto procesů jde o velmi komplikovanou situaci. Výběr použitých cytokinů identifikující riziko časně novorozenecké sepse lze podle mého názoru považovat na základě literárního přehledu za opodstatněný. Pouze IL-1 nebylo možné z provozních důvodů v době zahájení studie do výzkumu zařadit.

Tam, kde jsou jisté rozdíly mezi našimi výsledky a literárními údaji (např. cytokin IL 6, v naší studii však nemá nejvyšší výpovědní hodnotu) je nutné brát v úvahu i skutečnost, že naše studie se zabývá pouze možným rizikem vzniku časně novorozenecké sepse u žen s PROM, nikoli již prokázanou infekcí. Výsledky tak jsou ovlivněny i malým počtem pozitivních případů. Z výsledků výzkumu je patrné, že pro určení rizika časně novorozenecké sepse mají v podstatě všechny tři cytokiny přibližně stejný význam. Podtržený význam zvýšených hladin cytokinu IL-8 může být ovlivněn malým počtem pozitivních případů.

Pozoruhodný je výsledek, který prokazuje význam hladin adhezivní molekuly sICAM-1 pro časnou diagnostiku rizika časně novorozenecké sepse. Tuto skutečnost lze vysvětlit tím, že v dostupné literatuře nebyly k dispozici práce, které by se podobnou tematikou zabývaly, tj. referovaly významu této adhezivní molekuly pro diagnostiku časně novorozenecké sepse. Tuto skutečnost je však možné pouze konstatovat při vědomí nutnosti tento výsledek dále ověřovat. Je zřejmé, že v budoucnu budou jistě studovány i mnohé další markery, které by

mohly přispět k včasnému rozpoznání intraamniální infekce a rizika časně novorozenecké sepse.

***Na základě výsledků naší studie se hypotéza:***

H1: V genitálním traktu rodiček existuje konkrétní mikrobiální kmen, jehož nález zvyšuje riziko PROM nebo pPROM – nepotvrdila (tab. 6).

H2: V genitálním traktu rodiček existuje konkrétní mikrobiální kmen, jehož nález zvyšuje výskyt chorioamnionitis – potvrdila (*Escherichia coli*) (tab. 17).

H3: V genitálním traktu rodiček existuje konkrétní mikrobiální kmen, jehož nález přispívá ke zvýšení rizika časně novorozenecké sepse u novorozence – potvrdila (*Streptococcus viridans*) (tab. 11).

H4: Histologický průkaz chorioamnionitis zvyšuje riziko časně novorozenecké sepse – potvrdila (tab. 14).

H5: Mediátory zánětu IL6, IL-8, TNF- $\alpha$  a sICAM-1 v pupečnickové krvi lze použít jako markery rizika časně novorozenecké sepse – potvrdila (tab. 20, 22, 23, 24, 25).

## 6. ZÁVĚR

1. V našem souboru jsme neprokázali, že by konkrétní bakteriální kmen přispíval k PROM nebo k pPROM.
2. U žen s termínovou graviditou a s MOP VI (mykózou) docházelo statisticky významně častěji k PROM nežli v ostatních skupin.
3. MOP I byl statisticky významně častěji prokazován u žen bez PROM.
4. U novorozenců rodiček s pPROM bylo oproti ostatním skupinám statisticky významně vyšší riziko časně novorozenecké sepse.
5. Kolonizace rodičky kmenem *Streptococcus viridans* statisticky významně zvyšuje riziko časně novorozenecké sepse.
6. U rodiček s pPROM jsme prokázali statisticky významně vyšší výskyt chorioamnionitis respektive funisitis.
7. Histologický nález chorioamnionitis a/nebo funisitis statisticky významně zvyšoval riziko časně novorozenecké sepse.
8. U rodiček kolonizovaných kmeny *Escherichia coli* byl statisticky významně vyšší výskyt chorioamnionitis.
9. Senzitivita a specificita sledovaných mediátorů zánětu jako skriningového testu rizika časně novorozenecké sepse byla následující: IL-6 (80 %, 97 %), TNF-  $\alpha$  (36 %, 94 %), IL-8 (87 %, 97 %), sICAM-1 (83 %, 95 %).
10. Pro skupinu novorozenců narozených ženám s pPROM se pro stanovení rizika časně novorozenecké sepse jeví jako dostatečně spolehlivé vyšetření pouze jednoho z markerů IL-6, IL-8 nebo sICAM-1.
11. Pro novorozence narozené ženám s PROM nebo bez PROM platilo, že novorozence s rizikem časně novorozenecké sepse určí spolehlivě vyšetření jakékoli kombinace dvou až čtyř z použitých markerů

## 7. LITERATURA

1. AALTONEN, R., HEIKKINEN, T., HAKALA, K. et al. Transfer of proinflammatory cytokines across term placenta. *Obstet. Gynecol.*, 2005, vol. 106, no. 4, p. 802-7.
2. AALTONEN, R., HEIKKINEN, J., VAHLBERG, T., et al. Local inflammatory response in choriodecidua induced by *Ureaplasma urealyticum*. *BJOG*, 2007, vol. 114, no. 11, p. 1432-5.
3. ABELE-HORN, M., SCHOLZ, M., WOLFF, C., et al. High-density vaginal *Ureaplasma urealyticum* colonization as a risk factor for chorioamnionitis and preterm delivery. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 2000, vol. 79, no. 11, p. 973-8.
4. ABOYEJI, A.P., ABDUL, I.F., IJAIYA, M.A., et al. The bacteriology of pre-labour rupture of membranes in a Nigerian teaching hospital. *J. Obstet. Gynaecol.*, 2005, vol. 25, no. 8, p. 761-4.
5. ACOG. Group B Streptococcal Infections in Pregnancy. ACOG Technical Bulletin Number 170 - July 1992. *Int J Gynaecol Obstet.*, 1993, vol. 42, no. 1, p. 55-9.
6. ALIEFENDIOÄŻLU, D., ERDEM, G., TALĹLEK, N., et al. Neonatal and maternal serum levels of soluble ICAM-1 in preeci normal pregnancies. *Am. J. Perinatol.*, 2002, vol. 19, no. 6, p. 333-9.
7. ALTEMANNI, A.M. Immunohistochemical study of the inflammatory infiltrate in villitis of unknown etiology: a qualitative and quantitative analysis. *Path. Res. Pract.*, 1992, vol. 188, no. 3, p. 303-309.
8. ALTMAN, M.R., LYDON-ROCHELLE, M.T. Prolonged second stage of labor and risk of adverse maternal and operinatal outcomes: A systematic review. *BIRTH*, 2006, vol. 33, no. 4, p. 315-322.
9. ALTSHULER, G.A Conceptual approach to placental pathology and pregnancy outcome. *Sem. Diagnost. Pathol.*, 1993, vol. 10, no. 2, p. 204-221.
10. ALTSHULER, G. Pathology of the Placenta. In GILBERT-BAMESS, E. (Ed.). *Potter's Pathology ofthe Fetus and Infant*. 2nd ed. Vol I: 1997, p. 241-280.

11. ALTSHULER, G. Role of the placenta in perinatal pathology. *Pediatr. Pathol. Lab. Med.*, 1996, vol. 16, p. 207-233.
12. ALVAREZ, J.R., WILLIAMS, S.F., GANESH, V.L., et al. Duration of antimicrobial prophylaxis for group B streptococcus in patients with preterm premature rupture of membranes who are not in labor. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2007, vol. 197, no. 4, e1-4.
13. American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Diseases and Committee on Fetus and Newborn. Guidelines for prevention of group B streptococcal (GBS) infection by chemoprophylaxis. *Pediatrics*, 1992, vol. 90, no. 5, p. 775-778.
14. American Academy of Pediatrics, Committee on Infectious Diseases/Committee on Fetus and Newborn. Revised guidelines for prevention of early-onset group B streptococcal infection. *Pediatrics*, 1997, vol. 99, no. 3, p. 489-496.
15. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Obstetric Practice: prevention of early-onset group B streptococcal disease in newborns. ACOG Committee Opinion. Washington : American College of Obstetricians and Gynecologists (Bulletin No. 173), 1996.
16. AN, H., NISHIMAKI, S., OHYAMA, M., et al. Interleukin-6, interleukin-8, and soluble tumor necrosis factor receptor-I in the cord blood as predictors of chronic lung disease in premature infants. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2004, vol. 191, no. 5, p. 1649-54.
17. ANTHONY, B.F., OKADA, D.M., HOBEL, C.J. Epidemiology of the group B Streptococcus: maternal and nosocomial sources for infant ac acquisitions. *J. Pediatr.*, 1979, vol. 95, no. 3, p. 431-36.
18. ARIEL, I., SINGER, D.B. Streptococcus viridans infections in midgestation. *Pediatr. Pathol.*, 1991, vol. 11, no. 1, p. 75-83.
19. ARUTZEN, K.J., KJOELLES DAL, A.M., HALGUNSET, J., et al. TNF, IL-1, IL-6, IL-8 and soluble TNF receptors in relation to chorioamnionitis and premature labor. *J. Perinat. Med.*, 1998, vol. 26, no. 1, p. 17-26.
20. ASINDI, A.A., ARCHIBONG, E.I., MANNAN, N.B. Mother-infant colonization and neonatal sepsis in prelabor rupture of membranes. *Saudi Med. J.*, 2002, vol. 23, no. 10, p. 1270-4.



21. ASRAT, T. Intra-amniotic infection in patients with preterm prelabor rupture of membranes. Pathophysiology, detection, and management. *Clin. Perinatol.*, 2001, vol. 28, no. 4, p. 735-51.
22. BALSCHER, U., CHEN, F.C., PITZEN, A., et al. IL-1 beta, IL-6, IL-8 and G-CSF in the diagnosis of early-onset newborn infections. *J. Perinat. Med.*, 2000, vol. 28, no. 5, p. 383-8.
23. BARTUŇKOVÁ, J., VERNEROVÁ, E. *Imunologie a alergologie*. 1. vyd. Praha : Triton, 2002/2003. 83 s. ISBN 80-7254-289-3.
24. BASSO, B., GIMANEZ, F., LALPEZ, C. IL-1 beta, IL-6 and IL-8 levels in gynecobstetric infections. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.*, 2005, vol. 13, no. 4, p. 207-11.
25. BAUD, O., EMILIE, D., PELLETIER, E. Amniotic fluid concentrations of interleukin-1beta, interleukin-6, TNF alfa in chorioamnionitis before 32 weeks of gestation: histological associations and neonatal outcome. *Brit. J. Obstet. Gynecol.*, 1999, vol. 106, no. 1, p. 72-77.
26. BAUMANN, P., ROMERO, R. Intraamniotische Infektion, Zytokine und Frühgeburtslichkeit. *Wien. klin. Wschr.*, 1995, vol. 107, no. 20, p. 598-607.
27. BAUMGART, S., HALL, S.E., CAMPOS, J.M. Sepsis with coagulase-negative staphylococci in critically ill newborns. *Am. J. Dis. Child.*, 1983, vol. 137, no. 5, p. 461-3.
28. BECK, T., BAHLMANN, F., WEIKEL, W. Die Histologie der Chorioamnionitis: Bemerkungen zu mütterlichen und kindlichen Infektionsparametern. *Geburtsh. Perinatol.*, 1993, vol. 197, no. 3, p. 129-134.
29. BEDNÁŘ, M., FRANKOVÁ, A., SCHINDLER, J. *Lékařská mikrobiologie*. Vyd. 1. Praha : Marvil, 1996.
30. BENIRSCHKE, K., COEN, R., PATTERSON, B., et al. Villitis of known origin. Varicella ad toxoplasma. *Placenta*, 1999, vol. 20, no. 5-6, p. 395-399.
31. BENIRSCHKE, K., KAUFMANN, P. *Pathology of the Human Placenta*. 4th ed. New York : Springer, 2000. p. 591-659.

32. BERRY, S.M., ROMERO, R., GOMEZ, R., et al. Premature parturition is characterized by in utero activation of the fetal immune system. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1995, vol. 173, no. 4, p. 1315-1320.
33. BLANC, W. A. Pathways of fetal and early neonatal infection: viral placentitis, bacterial and fungal chorioamnionitis. *J. Pediatr.*, 1961, vol. 5, p. 473-496.
34. BLAUSTEIN, A. *Pathology of the Female Genital Tract*. 2nd ed. New York : Springer- Verlag, 1982.
35. BLOK, R., KLEJEWSKI, A., SZUMALA-KAKOL, A. The role of lower genital tract infection in PROM. *Gynekol. Pol.*, 1997, vol. 68, no. 10, p. 449-58.
36. BONE, R.C., NEWTON, I. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit. Care Med.*, 1996, vol. 24, no. 7, p. 1125-1128.
37. BOOS, R., VOBECK, K.S. Infektion in der Schwangerschaft-konatale Inektionen. In BOOS, R. (Hrsg.). *Risiken in der Schwangerschaft und kindliche Fehlbildungen*. Balingen : Spitta, 2001. Kap 3/2-3/5.
38. BRACIK, M., PANKIEWICZ, E., KRAM, A., et al. Chorioamnionitis in relation to cord blood sICAM-1 and CRP levels of newborns with and without markers of early onset infection. *Med. Wieku Rozwoj.*, 2006, vol. 10, no. 4, p. 1067-77.
39. BUHIMSHI, I.A., KRAMER, W.B., BUHIMISHI, C.S. Reduction-oxidation state regulation of matrix metalloproteinase activity in human fetal membrane. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 2000, vol. 182, no. 2, p. 458-464.
40. BUSCHER, U. *Möglichkeiten der Infektabwehr des Neugeborenen und des Feten. Evaluierung der diagnostischen Mittel*. Habil.schr. HU-Berlin, 2000.
41. BUSCHER, U., CHEN, F.C. K., PITZEN, A., et al. 11-1B, 11-6, 11-8 and G-CSF in the diagnosis of early-onset neonatal infections. *J. Perinat. Med.*, 2000, vol. 28, no. 5, p. 383-388.
42. CARARACH, V., BOTET, F., SENTIS, J., et al. Administration of antibiotics to patients with rupture of membranes at term: a prospective, randomized, multicentric study. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 1998, vol. 77, no. 3, p. 298-302.
43. CASSEL, G.H., HAUTH J, CUTTER G, et al. Ureaplasma urealyticum chorioamnion infection and prematurity. In REMINGTON, J.S., KLEIN, J.O.

*Infectious Diseases of the Fetus and Newborn*. 5th ed. London : W.B.Saunders Company, 2001.

44. CAUCI, S., THORSEN, P., SCHENDEL, D.E., et al. Determination of immunoglobulin A against Gardnerella vaginalis hemolysin, sialidase, and prolidase activities in vaginal fluid: implications for adverse pregnancy outcomes. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, vol. 41, no. 1, p. 435-8.
45. CAUCI, S., MCGREGOR J, THORSEN P, et al. Combination of vaginal pH with vaginal sialidase and prolidase activities for prediction of low birth weight and preterm birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2005, vol. 192, no. 2, p. 489-96.
46. CLOCHEY, J. [online]. [cit. 2007-15-11]. Dostupné z: [http:// www.traumaburn.com/SIRS.htm](http://www.traumaburn.com/SIRS.htm).
47. COHEN, J. The immunopatogenesis of sepsis. *Nature*, 2002, vol. 420, no. 6917, p. 885-891.
48. de BONT, E.S., MARTENS, A., van RAAN, J., et al. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-6 plasmalevels in neonatal sepsis. *Pediatr. Res.*, 1993, vol. 33, no. 4 Pt 1, p. 380-3.
49. COLLINS, T.S, CALDERON, M., GILMAN, R.H., et al. Group B Streptococcal colonization in a developing country: its association with sexually transmitted disease and socioeconomic factors. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1998, vol. 59, no. 4, p. 633-6.
50. COTTON, D.B., MITCHELL, M.D. The relationship between spontaneous rupture of membranes, labor, and microbial invasion of the amniotic cavity and amniotic fluid concentrations of prostaglandins and thromboxane B2 in term pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1993, vol. 168, no.6, p. 1654-64, discussion 1664-8.
51. CRAWFORD, J.T., PEREIRA, L., BUCKMASTER, J., et al. Amniocentesis results and novel proteomic analysis in a case of occult candidal chorioamnionitis. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.*, 2006, vol. 19, no. 10, p. 667-70.
52. ČEPICKÝ, P., BOUDA, J., ČERNOCH, J., et al. Doporučení k diagnostice a terapii vulvovaginitidy. *Čes. Gynek.*, 2002, roč. 67, č. 2, s. 97-100.

53. D'ALQUEN, D., KRAMER, B.W., SEIDENSPINNER, S., et al. Activation of umbilical cord endothelial cells and fetal inflammatory in preterm infants with chorioamnionitis and funisitis. *Pediatr. Res.*, 2005, vol. 57, no. 2, p. 263-9.
54. DAMMANN, O., LEVITON, A. Maternal intrauterine infection, cytokines, and brain damage in the preterm newborn. *Pediatr. Res.*, 1997, vol. 42, no. 1, p. 1-8.
55. DAVIES, J. K., GIBBS, R.S. Obstetric factors associated with infections of the fetus and newborn infant. In REMINGTON, J.S., KLEIN, J. *Infections diseases of the fetus and newborn infant*. Philadelphia : Saunders Company, 2001. p. 135-1370. ISBN 0-72167976-5.
56. DISTEFANO, G., BETTA, P., RODONA, A., et al. Concentration of blood ICAM-1s in the newborn at risk of infect prospective study in the first 2 weeks of life. *Pediatr. Med. Chir.*, 1997, vol. 19, no. 1, p. 27-30.
57. DJUKIĆ, S., NEDELJKOVIĆ, M., PERVULOV, M., et al. Intra-amniotic Chlamydia trachomatis infection. *Gynecol. Obstet. Invest.*, 1996, vol. 42, no. 2, p. 109-12.
58. DOELLNER, H., ARNTZEN, K.J., HAERIED, P.E., et al. Interleukin-6 concentrations in neonates evaluated for sepsis. *J. Pediatr.*, 1998, vol. 132, no. 2, p. 295-299.
59. DONDER, G.G., VEREECKEN, A., BOSMANS, E., et al. Definition of type of abnormal vaginal flora that is distinct from vaginosis: aerobic vaginatis. *BJOG*, 2002, vol. 109, no. 1, p. 34-43.
60. DORT, J. Care for High-risk population of originally very low birth weight children. *Eur. J. Public Health*, 1999, vol. 9, no. 4, p. 313.
61. DOSTATINI, R. Immunologischer Hintergrund zum Interleukin-6. News and Wiews. *Diagnostica Magazin*, 1996, no. 2.
62. DOUGHTY, L., CARCILLO, J.A., KAPLAN, S., et al. Plasma nitrite and nitrate concentrations nad multiple organ in pediatric sepsis. *Crit. Care Med.*, 1998, vol. 26, no. 1, p. 157-62.
63. DYBAŚ, I., SIDOR-WÓJTOWICZ, A., KOZIOL-MONTEWKA, M. Bacterial flora and mycosis of the vagina in women with symptoms of vaginal inflammation. *Ginekol. Pol.*, 2005, vol. 76, no. 5, p. 385-90.

64. EDGAR, D., GABRIEL, V., CRAIG, A., et al. A low serum sICAM-1 level may assist in the exclusion of neonatal infection. *Bion. Neonate.*, 2002, vol. 81, no. 2, p. 105-8.
65. EDWARDS, M.S., BAKER, C.J. Group B Streptococcal infections. In REMINGTON, J. S., KLEIN, J.O. *Infectious diseases of teh fetus and newborn infant*. 5th ed. Philidelphia : Saunders, 2001. p. 1091-1156.
66. ESSEBACH, H. *Paidopathologie*. Leipzig : VEB Thieme, 1961.
67. EVALDSON, G., CARLSTROM, G., LAGRELIUS, A., et al. Microbiological findings in pregnant women with premature repture of the membranes. *Med. Microbiol. Immunol.*, 1980, vol. 168, no. 4, p. 283-97.
68. FEINSTEIN, A.R. *Multivariable analysis*. New Haven : Yale University Press, 1996. p. 297-324.
69. FERJANI, A., BEN ABDALLAH., H, BEN SAIDA, N., et al. Portage vaginal du streptocoque du groupe B chez la femme enceinte en Tunisie : facteurs de risque et sensibilité aux antibiotiques des isolats. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 2006, vol. 99, no. 2, p. 99-102.
70. FORTUNATO, S.J., MENON, R., ROMBARDI, S.J. Role of tumor necrosis factor-alpha in the premature rupture of membranes and preterm labor pathways. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2002, vol. 187, no. 5, p. 1159-62.
71. FOX, H. *Pathology of the Placenta*. 2nd ed. London : Saunders CO, 1997. p. 294-343.
72. FOWLER, P. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus chorioamnionitis: a rare cause of fetal death in our community. *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.*, 2002, vol. 42, no. 1, p. 97-8.
73. FRIEBE-HOFFMANN, U., BENDER, D.P., SIMS, C.J. Candida albicans chorioamnionitis associated with preterm labor and sudden intrauterine demise of one twin. A case report. *J. Reprod. Med.*, 2000, vol. 45, no. 4, p. 354-6.
74. FUKUDA, H., MASUZAKI, H., ISHIMARU, T. Interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in amniotic fetal blood in patients with pre-term, premature rupture of the membrane. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 2002, vol. 77, no. 2, p. 123-9.

75. GARCIA, A.G.P., FOUSECA, E.F., et al. Placental morphology in cytomegalovirus infection. *Placenta*, 1989, vol. 10, no. 1, p. 18.
76. GARCÍA HEREDIA, J., GARCÍA, S.D., COPOLILLO, E.F., et al. Prevalencia de candidiasis vaginal en embarazadas. Identificación de levaduras y sensibilidad a los antifúngicos. *Rev. Argent. Microbiol.*, 2006, vol. 38, no. 1, p. 9-12.
77. GAUTHIER, D.W., MEYER, W.J., BIENIARZ, A. Expectant management of premature rupture of membranes with amniotic fluid cultures positive for *Ureaplasma urealyticum* alone. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1994, vol. 170, no. 2, p. 587-90.
78. GEISLER, J.P., HORLANDER, K.M., HIETT, A.K. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* as a cause of chorioamnionitis. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.*, 1998, vol. 25, no. 4, p. 119-20.
79. GEORGIJEVIĆ, A., CJUKIĆ-IVANCEVIĆ, S., BUJKO, M. Bacterial vaginosis. Epidemiology and risk factors. *Srp. Arh. Celok. Lek.*, 2000, vol. 128, no. 1-2, p. 29-33.
80. GERSELL, D.J., PHILIPS, N.J., BECKERMAN, K. Chronic chorioamnionitis. A clinicopathologic study of 17 cases. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 1990, vol. 10, p. 217-229.
81. GIBBS, R.S. Chorioamnionitis and bacterial vaginosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1993, vol. 169, no. 2, p. 460-2.
82. GIBBS, R.S., BLANCO, J.D., et al. Quantitative bacteriology of amniotic fluid from women with clinical intraamniotic infection at term. *J. Infect. Dis.*, 1982, vol. 145, no. 1, p. 1-7.
83. GIBSON, R.L., BERGER, J.I., REDDING, G.J., et al. Effect of nitric oxide synthase inhibition group Bacterial streptococcal sepsis in neonatal piglets. *Pediatr. Res.*, 1994, vol. 36, no. 6, p. 776-783.
84. GJONI, M. *Preterm Premature Rupture of the Membranes*. 8th Postgraduate Course for Training in Reproductive Medicine and Reproductive Biology. Geneva, 2003.
85. GOEPFERT, A.R., JEFFCOAT, M.K., ANDREWS, W.W., et al. Periodontal disease and upper genital tract inflammation in early spontaneous preterm birth. *Obstet. Gynecol.*, 2004, vol. 104, no. 4, p. 777-83.

86. GOETZL, L., COHEN, A., FRIGOLETTO, F., et al. Maternal epidural use and neonatal sepsis evaluation in afebrile mothers. *Pediatrics*, 2001, vol. 108, no. 5, p. 1099-102.
87. GOFFINET, F., KAYEM, G., MAILLARD, F., et al. Detection of interleukin 6 mRNA by RT-PCR in vaginal secretions: with preterm delivery and neonatal infection in women with preterm and intact membranes. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2005, vol. 123, no. 2, p. 167-73.
88. GOJNIC, M., PERVULOV, M., BOSKOVIC, V., et al. Bacterial infections--the cause of preterm delivery. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.*, 2005, vol. 32, no. 1, p. 35-6.
89. GOLDENBERG, R.L., MERCER, B.M., MODOVNIK, M., et al. Plasma ferritin, premature rupture of membranes and pregnancy outcome. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1998, vol. 179, 6 Pt. 1, p. 1599-604.
90. GOLDBERG, R.N., SUGUIHARA, C., MARTINEZ, O., et al. The role of leukotrienes in the late hemodynamic manifestations of group B streptococcal sepsis in piglets. *Prostaglandis Leukot Essent Fatty Acids*, 1998, vol. 33, no. 3, p. 191-198.
91. GOLDMAN, A.S., SCHMALSTIEG, F.C. The pathogenesis of chorioamnionitis. *J. Pediatr.*, 2008, vol. 153, no. 1, p. 3-4.
92. GOMEZ, R., ROMERO, R., GHEZZI, F., et al. The fetal inflammatory response syndrome. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 1998, vol. 179, Issue Infections P, p. 194-202.
93. GOMEZ, R., ROMERO, R., MAZOR, M., et al. The role of infection in preterm labour and delivery. In ELDER, M.G., ROMERO, R., LAMONT, R.F., editors. *Preterm Labor*. New York : Churchill Livingstone, 1997. p. 85-125.
94. GONÇALVES, L.F., CHAIWORAPONGSA, T., ROMERO, R. Intrauterine infection and prematurity. *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.*, 2002, vol. 8, no. 1, p. 3-13.
95. GRAY, E.S. Human parvovirus infection. *J. Pathol.*, 1987, vol. 153, p. 310-311.
96. GREYER, J.K., NELSON, K. Maternal infection and cerebral palsy in infants of normal birth weight. *JAMA*, 1997, vol. 278, no. 3, p. 207-210.
97. Group B Streptococcal Infections in Pregnancy. *ACOG Technical Bulletin*, 1996, vol. 170.

98. GRZEŚKO, J., ELIAS, M., MANOWIEC, M., et al. Genital mycoplasmas--morbidity and a potential influence on human fertility. *Med. Wieku. Rozwoj.*, 2006, vol. 10, 3 Pt 2, p. 985-92.
99. HÁJEK, Z. Prenatální péče u komplikací a závažných patologických stavů v graviditě. *Mod. Gynek. Porod.*, 1999, roč. 8 , č. 2, s. 66-76.
100. HÁJEK, Z. *Předčasný porod* [online]. 2007 [cit. 2008-04-13]. Dostupné z: <http://www.porodnici.cz/sos-porodnice?id=141>
101. HANSEN, A.B., VERDER, H., STAUN-OLSEN, P. Soluble intercellular adhesion molecule and C-reactive protein and markers of infection in newborn. *J. Perinat. Med.*, 2000, vol. 28, no. 2, p. 97-103.
102. HARRIS, J.S. Infections Acquired in the Nursey: Epidemiology and Control. In REMINGTON, J.S., KLEIN, J.O. *Infectious diseases of the fetus and Newborn infant*. W.B. 5th ed. Philadelphia : Saunders Company, 2001.
103. HAVLÍK, J. *Infektologie*. Praha : Avicenum, 1990. ISBN 80-201-0062-8.
104. HEBISCH, G., GRAUAUG, A.A, NEUMAIER-WAGNER, P.M., et al. The relationship between cervical dilatation, interleukin-6 and interleukin-8 during term labor. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 2001, vol. 80, no. 9, p. 840-8.
105. HEIFETZ, S.A, BAUMAN, M. Necrotizing funisitis and herpes simplex infection of placental and decidual tissues: study of four cases. *Hum Pathol.*, 1994, vol. 25, no. 7, p. 715-22.
106. HECHT, J., ONDERDONK, A., DELANEY. M., et al. Characterization of chorioamnionitis in second trimester c-section placentas and correlation with microorganism recovery from sub-amniotic tissues. *Pediatr. Dev. Pathol.*, 2008, vol. 11, no. 1, p. 15-22.
107. HERBST, N. NILSSON, C. Diagnosis of early preterm labour. *BJOG*, 2006, vol. 112, no. S3, p. 60-7.
108. HERNÁNDEZ TREJO, M., SORIANO BECERRIL, D. Elevada prevalencia de colonización por *Streptococcus* del grupo B en mujeres mexicanas embarazadas. *Ginecol. Obstet. Mex.*, 2006, vol. 74, no. 3, p. 139-43.



109. HILLER, S.H., KROHN, M.A. The role of bacterial vaginosis and vaginal bacteria in amniotic fluid infection in women in preterm labor with intact membranes. *CID* 20, 1995, vol. 20, Suppl. 2, p. 276-278.
110. HINTZE, J. *NCSS, PASS, GESS* [online]. 2007 [cit. 2008-04-14]. Dostupné z: <http://www.ncss.com>.
111. HIRANO, T. Interleukin-6 and its relation to inflammation and disease. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1992, vol. 62, 1 Pt 4, p. 60-65.
112. HITTI, J., HILLIER, S.L., AGNEW, K.J., et al. Vaginal indicators of amniotic fluid infection in preterm labor. *Obstet. Gynecol.*, 2001, vol. 97, no. 2, p. 211-9.
113. HOLEC, V. *Mikrobiální obrazy poševní - diagnostika, interpretace a trochu historie* [online]. 1999 [cit. 2007-06-15]. Dostupné z : <http://www.zuova.cz/informace/ompovabac19.php>
114. HOLST, R.M., JACOBSSON, B., HAGBERG, H., et al. Cervical length in women in preterm labor with intact membranes: relationship to intra-amniotic inflammation/microbial invasion, cervical inflammation and preterm delivery. *Ultrasound. Obstet. Gynecol.*, 2006, vol. 28, no. 6, p. 768-74.
115. HOM, H.C. Epidemiology of cytomegalovirus infection in man. In GREENOUGH, W.B, MERIGAN, T.C. (eds.). *Cytomegalovirus, biology and infection: current topics in infection diseases*. New York : Plenum, 1982. p. 79-104.
116. HOM, H.C., BECKER, V. Morphologische Plazentabefunde bei klinisch-serologisch gesicherter und vermuteter Rotelninfektion in der zweiten Schwangerschaftshälfte. *Z. Geburtsh. Perinatol.*, 1992, vol. 196, s.199-204.
117. HOŘEJŠÍ, V., BARTUŇKOVÁ, J. *Základy imunologie*. 2. vyd. Praha : Triton, 2002.
118. HUTTOVÁ, M. *Infekcie novorodzcencov - novšie poznatky o etiologii, epidemiologii diagnostike a terapii*. (Doktorská dizertačná práca). Trnava, 2001, Trnavská univerzita. Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce.
119. HUTTOVÁ, M., JURKOVIČOVÁ, J., HARTMANNOVÁ, I. Nové predstavy o etiopatogenéze intraamniovej infekcie a syndróme fetálnej zápalovej odpovede. *Čes.-slov. Pediatr.*, 2000, roč. 55, č. 11, s. 745-748.

120. HUTTOVÁ, M., CHABADA, J., CHOVANCOVÁ, D., et al. Infekcie plodu a novorodenca získané v perinatálnom období. *Neonatolog. zvesti*, 2000, roč. 4, č. 2.
121. HYDE, S.R., GIACOIA, G.P. Congenital herpes infection: placental and umbilical cord findings. *Obstet. Gynecol.*, 1993, vol. 81, 5 Pt 2, p. 852-855.
122. CHAIWORAPONGSA, T., ROMERO, R., ESPINOZA, J., et al. Macrophage migration inhibitory factor in patients with preterm parturition and microbial invasion of the amniotic cavity. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.*, 2005, vol. 18, no. 6, p. 405-16.
123. CHEN, K.T., RINGER, S., COHEN, A.P., et al. The role of intrapartum fever in identifying asymptomatic term neonates with early-onset neonatal sepsis. *J. Perinatol.*, 2002, vol. 22, no. 8, p. 653-7.
124. CHEROUNY, P.H., PANKUCH, G.A., ROMERO, R., et al. Neutrophil attractant activating peptide interleukin 8: Association with histologie chorio-amnionitis, preterm delivery and bioactive amniotic fluid leukoattractants. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1993, vol. 169, no. 5, p. 1299-1303.
125. CHMEL, R. Urogynekologické infekce. *Medicína po promoci*, 2004, roč. 5, č. 6, s. 74-76.
126. Imunologické pracoviště Zdravotního ústavu se sídlem v Ústí nad Labem. *Diagnostika septických stavů* [online]. [cit. 2008-05-15]. Dostupné z: [http://www.imunol-usti.cz/index.php?ukaz=diagnostika\\_septickyh&S\\_ID=553cb6f7014dea75af88a5580b76c26f](http://www.imunol-usti.cz/index.php?ukaz=diagnostika_septickyh&S_ID=553cb6f7014dea75af88a5580b76c26f)
127. ISENBERG, H. Vorzeitiger Blassensprung und Neugeborenen Sepsis. *Der Kinderarzt*, 1989, vol. 20, no. 6, s. 806-810.
128. JANOTA, J. Syndrom systémové zánětové odpovědi (SIRS) a syndrom multiorgánové dysfunkce (MODS) [online]. [2008-03-15]. Dostupné z: [http://patf.fl1/cuni.cz/stumat/SIRS\\_Mods.pdf](http://patf.fl1/cuni.cz/stumat/SIRS_Mods.pdf).
129. JAUNIAUX, E., NESSMANN, C., et al. Morphologica-l aspects of the placenta in HIV pregnancies. *Placenta*, 1988, vol. 9, no. 6, p. 33-642.

130. JELÍNKOVÁ, J., GRAGOBVSKAYA, K.B., RÝC, M., et al. Adherence of vaginal and pharyngeal strains of group B bacterial streptococci to human vaginal and pharyngeal epithelial cells. *Zentralbl. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg.*, 1986, vol. 262, p. 492-499.
131. JERBI, M., HIDAR, S., HANNACHI, N., et al. Risk factors for group B streptococcal colonization in pregnant women at term: prospective study of 294 cases. *Gynecol. Obstet. Fertil.*, 2007, vol. 35, no. 4, p. 312-6.
132. JILL, K., DAVIES, M.D., ROLAND, S., et al. Obstetric Factors Associated with Infections of the Fetus and Newborn Infant. In *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*, 2001.
133. JIMINEZ, E., VOGEL, M., UNGER, M., et al. Morphologische Untersuchungen an Plazenten HIV - positiver Mutter. *Pathologie*, 1988, vol. 9, p. 228-234.
134. JIROVEC, O. The problem of trichomoniasis. *Akush. Ginekol.*, 1962, vol. 38, p. 84-8.
135. JONES, K.L., JOHNSON, K.A., CHAMBERS, C.D. Offspring of women infected with varicella during pregnancy: a prospective study. *Teratology*, 1994, vol. 49, no. 1, p. 29-32.
136. JUNGUEIRA, L.C., CARNIERO, J., KELLEY, R.O. *Základy histologie*. Jinocany : H&H, 1999. s. 433-436.
137. KALLMAN, J., EKHOLM, L., ERIKSSON, M., et al. Contribution of interleukin-6 in distinguishing between mild respiratory disease and neonatal sepsis in the newborn infant. *Acta Paediatr.*, 1999, vol. 88, no. 8, p. 880-4.
138. KASHLAN, F., SMULIAN, J., SHEN-SCHWARZ, S., et al. Umbilical vein interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha plasma concentrations in the very preterm infant. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2000, vol. 19, no. 3, p. 238-43.
139. KAZIMIERAK, W., Swierczewski, A., Kowalska-Koprek, U., et al. The analysis of the uterine cervix biocenosis in pregnant women. *Ginekol. Pol.*, 2007, vol. 78, no. 3, p. 214-7.
140. KEENAN, W.J., STEICHEN, J.J., MAHMOOD, K., et al. Placental pathology compared with clinical outcome. *Am. J. Dis. Child.*, 1977, vol. 131, no. 11, p. 1224-7.

141. KIM, J.C., YOON, B.H., MENOR, R., et al. A role for the 72 kDa gelatinase (MMP-2) and its inhibitor (TIMP-2) in human parturition, premature rupture of membranes and intraamniotic infection. *J. Perinat. Med.*, 2001, vol. 29, no. 4, p. 308-16.
142. KLEBANOFF, M., SEARLE, K. The role of inflammation in preterm birth - focus on periodontitis. *BJOG*, 2006, vol.113, Suppl. 3, p. 43-45.
143. KLEIN, J.O. Bacterial Sepsis and Meningitis. In REMINGTON, J.S., KLEIN, J.O. *Infectious diseases of the fetus and Newborn infant*. 5th ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company, 2001.
144. KLOOS, K., VOGELL, M. *Pathologie der Perinatal periode*. Thieme : Stuttgart, 1974. p. 67-77.
145. KNOX, W.F., FOX, H. Villitis of unknown aetiology: its incidence and significance from a British population. *Placenta*, 1984, vol. 5, p. 395-402.
146. KONRAD, G., KATZ, A. Epidemiology of early-onset neonatal group B streptococcal infection: implications for screening. *Can. Fam. Physician.*, 2007, vol. 53, no. 6, p. 1054-1055.
147. KOUČKA, M., HÁJEK, Z., PAŘÍZEK, A. Diagnosis and management of infection and its role in preterm. *Česká Gynekol.*, 2006, roč. 71, č. 1, s. 6-13.
148. KOVAVISARACH, E., YING, W.S., KANJANAHAREUTAI, S. Risk factors related to group B streptococcal colonization in pregnant women in labor. *J. Med. Assoc. Thai.*, 2007, vol. 90, no. 7, p. 1287-92.
149. KUČERA, M., MELICHAR, J. Periventrikulární leukomalacie-nové představy o etiopatogeneze. *Neonatal. Listy*, 1998, roč. 4, s. 202-220.
150. KÜSTER, H., WEISS, M., WILLEITNER, A.E., et al. Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation. *Lancet*, 1998, vol. 352, no. 9136, p. 1271-7.
151. LABERRERE, C.A., FAULK, W.P. Maternal cells in chronic villitis from placenta of normal and abnormal pregnancies. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1995, vol. 33, p. 54-59.

152. Laboratorní cvičení z obecné mikrobiologie. *Mikroskopické preparáty* [online]. 2005 [cit. 2007-06-12]. Dostupné z: [http://webak.upce.cz/~kbbv/Student/Vyuka/Obecná\\_klinická\\_mikrobiologie/Laboratorní\\_cviceni/Navody/Mikroskopické\\_preparaty.pdf](http://webak.upce.cz/~kbbv/Student/Vyuka/Obecná_klinická_mikrobiologie/Laboratorní_cviceni/Navody/Mikroskopické_preparaty.pdf)
153. LACOSTE, A. TORREGROSA, A., DUBOIS, S., et al. Maternal-fetal staphylococcal toxic shock syndrome with chorioamnionitis. *Arch. Pediatr.*, 2006, vol. 13, no. 8, p. 1132-4.
154. LADFORS, L., MATTSSON, L.A., ERIKSSON, M., MILSON, I. Prevalence and risk factors for prelabor rupture of the membranes (prom). at or near-term in an urban Swedish population. *J. Perinat. Med.*, 2000, vol. 28, no. 6, p. 491-6.
155. LEDLEY, R.S., LUSTED, L.B. Reasoning foundations of medical diagnosis. *Science*, 1959, vol. 130, p. 9-21.
156. LEE, S.E., ROMERO, R., KIM, C.J., et al. Funisitis in term pregnancy is associated with micro amniotic cavity and intra-amniotic inflammation. *J. Matern. Fetal Neonatal. Med.*, 2006, vol. 19, no. 11, p. 693-7.
157. LENCKI, S.G., MACIULLA, M.B., EGLINTON, G.S. Maternal and umbilical cord serum interleukin levels in preterm clinical chorioamnionitis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 170, no. 5 Pt 1, p. 1345-51.
158. LEVITON, A., PANETH, N., REUSS, L. Maternal infection, fetal inflammatory response, and brain damage in very low birthweight infants. *Pediatr. Res.*, 1999, vol. 46, no. 5, p. 566-575.
159. LEVY, M.M., FINK, M.P., MARSHALL, J.C., et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS. International sepsis definitions conference. *Crit. Care Med.*, 2003, vol. 31, no. 4, p. 1250-1256.
160. LEWIS, D.F., BARRILLEAUX, P.S., WANG, Y., et al. Detection of interleukin-6 in maternal plasma predicts neonatal infectious complications in preterm premature rupture of membranes. *Am. J. Perinatol.*, 2001, vol. 18, no. 7, p. 387-91.
161. LEWIS, S.H., PERRIN, E. *Pathology of the Placenta*. 2nd ed. New York : Churchill Livingstone, 1999. p. 317-343.
162. LIEBERMAN, E., LANG, J.M., FRIGOLETTO, F., et al. Epidural analgesia, intrapartum fever and neonatal sepsis. *Pediatrics*, 1997, vol. 99, no. 3, p. 415-9.

163. LING, E.W.Y., NOYA, F.J.D., RICARD, G., et al. Biochemical mediators of meningeal inflammatory response to group B Streptococcus in the newborn piglet model. *Pediatr. Res.*, 1995, vol. 38, no. 6, p. 981-987.
164. LOCKSMITH, G.J., CLARK, P., DUFF, P., et al. Amniotic fluid matrix metalloproteinase-9 levels in women with preterm labor and suspected intra-amniotic infection. *Obstet. Gynecol.*, 1999, vol. 94, no. 1, p. 1-6.
165. LONG, S.S. Chorioamnionitis: Tripartite pathophysiology related to inciting events, maternal and fetal host responses. *J. Pediatr.*, 2008, vol. 153, no. 1, p. A3.
166. LOPEZ, A.R., HERNANDEZ, G.M., DOMENECH, M.E. Vertically transmitted bacteremias: to treat. *An. Esp. Pediatr.*, 2001, vol. 54, no. 2, p. 160-4.
167. LOPEZ, S.J.B., COTO, C.G.D., et al. Neonatal sepsis of vertical transmission: an epidemiological study from the „Grupo de Hospitales Castrillo“. *J. Perinat. Med.*, 2000, vol. 28, no. 4, p. 309-15.
168. LOU, H., PRYDS, O., GREISEN, G. Pathogenesis of hypoxic-ischemic encephalopathy and germinal matrix haemorrhage. In ROBERTON, N.R.C. *Textbook of Neonatology*. 2nd ed. Edinburgh : Churchill Livingstone, 1992.
169. LUTTKUS, A., HAGEDOM, C., et al. *Klinische Wertigkeit der Elastase der polymorphke-migen Granulozyten bei Chorioamnionitis, Endometritis puerperalis und Neugeborenen-infektion.* *Perinatal. Med.*, 1993, vol. 5, p. 42-48.
170. MA, L., LIU, C.Q., LIU, Z.H., et al. Significance of soluble intercellular adhesion molecular procalcitonin in diagnosis of neonatal septicemia. *Zhonghua. Er. Ke. Za. Zhi.*, 2004, vol. 42, no. 9, p. 654-8.
171. MAHESHWARI, A. DUTTA, S., KUMAR, P. Early onset mixed Morganella and Klebsiella sepsis in a neonate. *Indian. J. Pediatr.*, 2001, vol. 68, no. 7, p. 671-2.
172. MARTIN, H., OLANDER, B., NORMAN, M. Reactive Hyperemia and Interleukin 6, Interleukin 8, and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in the Diagnosis of Early-Onset Neonatal Sepsis. *Pediatrics*, 2001, vol. 108, no. 4, e61.
173. MARTIUS, J.A., ROOS, T., GORA, B. et al. Risk factors associated with early-onset sepsis in premature infants. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 1999, vol. 85, no. 2, p. 151-8.

174. MAŠATA, J., JEDLIČKOVÁ, A., a kol. *Infekce v gynekologii a porodnictví, základy antiinfekční léčby*. Praha : Maxdorf, 2004. 371 s.
175. MAYMON, E., BERRY, S. Fetal plasma MMP-9 concentrations are elevated in preterm premature rupture of the membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2002, vol. 187, no. 5, p. 1125-30.
176. McCARTHY, M. Amniotic fluid infection and cerebral palsy. *JAMA*, 1997, vol. 278, no. 3, p. 247-249.
177. McKNIGHT, A.A., KEYES, W.G., HUDAK, M.L., et al. Oxygen free radicals and the cerebral arteriolar response to group B streptococci. *Pediatr. Res.*, 1992, vol. 31, no. 6, p. 640-644.
178. McLAREJN, J., TAYLOR, D.J., BELL, S.C. Increased concentration of pro-matrix metalloproteinase 9 in term fetal membranes overlying the cervix before labor: implications to membrane remodelling and rupture. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 2000, vol. 182, no. 2, p. 409-413.
179. MĚCHUROVÁ, A. Předčasný odtok vody plodové. *Moderní babičtví*, 2004, roč. 3, s. 30-33.
180. MĚCHUROVÁ, A., ROKYTOVÁ, V. Předčasný odtok plodové vody. Premature rupture of fetal membranes. *Ceska Gynekol.*, 2002, roč. 67, Suppl. 1, s. 33-6.
181. MĚCHUROVÁ, UNZEITIG, V., VLK, R. Doporučený postup při diagnostice a léčbě streptokoků skupiny B v těhotenství a za porodu. *Česká Gynekol.*, 2004, roč. 5, s. 421-422.
182. MEIS, J.F., BERGMAN, K.A., SMEDTS, F., et al. Fulminant neonatal sepsis due to *Haemophilus influenzae*. *Scand. J. Infect. Dis.*, 1991, vol. 23, no. 5, p. 649-52.
183. MELIS, G.B., ORRŮ, M., URAS, R., et al. Chorioamnionitis. *J. Chemother.*, 2007, vol. 19, no. 2, p.17-9.
184. MENDEZ, M.P., MORRIS, S.B., WILCOXEN, S. et al. Disparate mechanisms of sICAM-1 production in the peripheral lung: contrast between alveolar epithelial cells and pulmonary microvascular endothelial cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2008, vol. 294, p. 807-814.

185. MENDL, V. Bakteriální a mikrobakteriální obraz vagíny. *Cesk. Gynekol.*, 1998, roč. 53, č. 6, s. 448-50.
186. MENON, R., FORTUNATO, S.J. Fetal membrane inflammatory cytokines: a switching mechanism between the preterm premature rupture of the membranes and preterm labor pathways. *J. Perinatal. Med.*, 2004, vol. 32, no. 5, p. 391-9.
187. MESSER, I., EYER, D., DONATO, L., et al. Evaluation of interleukin 6 and soluble receptors of tumor necrosis factor for early diagnosis of neonatal infection. *J. Pediatr.*, 1996, vol. 129, p. 574-580.
188. Members of the American College of Chest Physicians / Society of Crit Care Med Consensus Conference Committee: American College of Chest Physicians / Society of Crit Care Med Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit. Care Med.*, 1992, vol. 20, no. 6, p. 864-874.
189. MIINTEFERING, H., PODLECH, J. Infektionskrankheiten des Embryo, des Fetus und des Neugeborenen. In REMMELE, W. (Hrsg.). *Pathologie*. 2. Aufl. Berlin : Springer, 1997. s. 461-500.
190. MITSUNARI, M., YOSHIDA, S., DEURA, I., et al. Cervical *Ureaplasma urealyticum* colonization might be associated with increased incidence of preterm delivery in pregnant women without prophylactic microorganisms on routine examination. *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, 2005, vol. 31, no. 1, p. 16-21.
191. MIYANO, A., MIYAMICHI, T., NAKAYAMA, M., et al. Effect of chorioamnionitis on the levels serum proteins in the premature infants. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1996, vol. 120, no. 3, p. 245-8.
192. MONTIEL, F., CASSELL, G.H. Infection and labor. VII. Microbial invasion of the amniotic cavity in spontaneous rupture of membranes at term. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1992, vol. 166, no. 1 Pt. 1, p. 129-33.
193. MORENCY, A.M., RALLU, F., LAFERRIÈRE, C., et al. Eradication of intra-amniotic *Streptococcus mutans* in a woman with a short cervix. *J. Obstet. Gynaecol. Can.*, 2006, vol. 28, no. 10, p. 898-902.
194. MOTLÍK, K., ŽIVNÝ, F. *Patologie v ženském lékařství*. Praha : Grada Publishing, 2001, s. 519-520.



195. MÜLLER-WERDAN, U. Septischer Schock und systemisches Endzündungsreaktions-Syndrom-Diagnostik. *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 2003, vol. 128, p. 2368-2371.
196. MÜLLER-WERDAN, U. Septischer Schock und systemisches Endzündungsreaktions-Syndrom-Therapie. *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 2003, vol. 128, p. 2368-2372-2376. Comment in *Am. Obstet. Gynecol.*, 1993, vol. 168, no. 1, p. 275-6.
197. MÜLLER-WERDAN, U., PRONDZINSKY, R., et al. Das herz bei Sepsis und MODS. *Wien. Klin. Wochenschr.*, 1997, vol.109, Suppl. 4, p. 3-24.
198. MURTHA, A.P., SINCLAIR, T., HAUSER, E.R., et al. Maternal serum cytokines in preterm premature rupture of membrane. *Obstet. Gynecol.*, 2007, vol. 109, no. 1, p. 121-7.
199. NAEYE, R.L., ROSS, S.M. Amniotic fluid infect~on syndrome. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 1982, vol. 9, no. 3, p. 593-607.
200. NACCASHA, N., HINSON, R., MONTAG, A., et al. Association between funisitis and elevated interleukin-6 in cord. *Obstet. Gynecol.*, 2001, vol. 97, no. 2, p. 220-4.
201. NADRA, L., ARIEL, I., SINGER, D.B. Infections, preterm delivery, and perinatal death in midgestation. *R. I. Med. J.*, 1991, vol. 74, no. 1, p. 25-29.
202. NEGISHI, H., MATSUDA, T., OKUYAMA, K., et al. Staphylococcus aureus causing chorioamnionitis and fetal death with intact membranes at term. A case report. *J. Reprod. Med.*, 1998, vol. 43, no. 4, p. 397-400.
203. NEWTON, E. R. Chorioamnionitis and intraamniotic infection. *Obstet. Gynecol.*, 1993, vol. 36, no. 4, p. 795-807.
204. NIKOLOV, A., SHOPOVA E, MŮSEVA A, et al. Vaginal candida infection in the third trimester of pregnancy. *Akush. Ginekol.*, 2006, vol. 45, no. 6, s. 7-9.
205. OPPENTEIM, J., RUSUTTI, F.W., FALTÝNEK, C. Cytokiny. In STITES, O., TERR, A. *Základní a klinická imunologie*. Praha : Victoria Publisting, 1991.
206. OSHIRO, B.N., MONGA, M., BLACO, J. Intra-amniotic infection. *Sem. Perinatol.*, 1993, vol. 17, no. 6, p. 420-425.

207. PACIFICO, L., CHIESA, C., MIRABELLA, S., et al. Early-onset *Pseudomonas aeruginosa* sepsis and *Yersinia enterocolitica* neonatal infection: a unique combination in a preterm infant. *Eur. J. Pediatr.*, 1987, vol. 146, no. 2, p. 192-3.
208. PANACEK, E.A., MARSHALL, J., FISCHKOFF, S., et al. Neutralization of TNF by monoclonal antibody improves survival and reduces organ dysfunction in human sepsis: Results of the MONARCS trial. *Chest*, 2000, vol. 118, p. 885.
209. PANERO, A., PACIFICO, L., ROSSI, N., et al. Interleukin 6 in neonates with early and late onset infection. *Pediatr. Infect Dis. J.*, 1997, vol. 16, no. 4, p. 370-5.
210. PATNI, S, FLYNN, P, WYNEN, L.P. An introduction to Toll-like receptors and their possible role in the initiation of labour. *BJOG*, 2007, vol.114, no. 11, p. 1326-34.
211. PAUL, V.K., DAWAR, R., GUPTA, S.D., et al. Histologic chorioamnionitis & its association with prematurity in a hospital-based study. *Indian. J. Med. Res.*, 1998, vol. 108, p. 272-8.
212. PAWŁOWSKA, A., NIEMIEC, K.T., FILIPP, E., et al. Chlamydia trachomatis infection in pregnant women hospitalised in the Institute of Mother and Child in Warsaw, Poland. *Med. Wieku. Rozwoj.*, 2005, vol. 9, no. 1, p. 21-6.
213. PENKA, M., MATÝŠKOVÁ, M., BULIKOVÁ, J., et al. *Diseminovaná intravaskulární koagulace (DIC)*. 1. vyd. Praha : Grada, 2004. 238 s. ISBN 80-247-0341-6.
214. PERENYI, A., JOHANN-LIANG, R., STAVOLA, J.J. Assessment of cord blood IL-6 levels as an indicator of neonatal infection. *Am. J. Perinatol.*, 1999, vol. 16, no. 10, p. 525-30.
215. PILKA, R., KUDELA, M., PROCHÁZKA, M. Matrix proteinázy, embryonální implantace a nádorová invaze. *Čes. Gynek.*, 2003, roč. 68, č. 3, s.179-85.
216. PILKA, R., PROCHÁZKA, M., KUDELA, M. Význam metalproteináz v těhotenství. *Česká Gynekol.*, 2003, roč. 4, s. 259.
217. PILZ, G., WERDAN, K. Scores fur MODS ind Multuorganversagen. *Internist*, 1998, vol. 39, no. 5, p. 502-508.

218. PINHEIRO, J.M.B., PITT, B.R., GILLS, C.N. Roles platele activating factor and thromboxane in group B Streptococcus induced pulmonary hypertenzion in piglet *Pediatr. Res.*, 1989, vol. 26, no. 5, p. 420-2.
219. POLLIN, R.A. *Hippokrates*. Katovice, 1997.
220. POSEN, R., de LEMOS, R.A. C-reactive protein levels in the extremely premature infant: case studiesand literature review. *J. Perinatol.*, 1998, vol. 18, no. 2, p. 138-41.
221. POTTER, N.T., KOSUDA, L., BIGAZZI, P.E., et al. Relationships among cytokines (111, TNF and 11-8) and histologic markers of acute intrauterine infection. *J. Mat. Fet. Med.*, 1992, vol. 1, p. 142-147.
222. POURCYROUS, M., BADA, H.S., KORONES, S.B., et al. Significance of serial C-reactive protein responses in neonatal infant and other disorders. *Pediatrics*, 1993, vol. 92, no. 3, p. 431-5.
223. RAGOULLIAUX, C.J., KEENEY, S.E., HAWKINS, H.K., et al. Maternal Factors in Extremely Low Birth Weight Infants Who Develop Spontaneous Intestinal Perforation. *Pediatrics*, 2007, vol. 120, no. 6, e1458-64.
224. REMINGTON, J.S., KLEIN, J.O. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. Philadelphia : Saunders Company, 2001. p. 135-1370. ISBN 0-72167976-5.
225. ROBERTS, A.K., MONZON-BORDONABA, F., VAN DEERLIN, P.G, et al. Association of polymorphism within the promoter of the tumor necrosis factor alpha gene with increased risk of preterm premature rupture of the fetal membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1999, vol. 180, no. 5, p. 1297-302.
226. RODE, M.E., MORGAN, M.A., RUCHELLI, E., et al. Candida chorioamnionitis after serial therapeutic amniocenteses: a possible association. *J. Perinatol.*, 2000, vol. 20, no. 5, p. 335-7.
227. ROGERS, B.B., ALEXANDER, J.M., HEAD, J., et al. Umbilical vein interleukin-6 levels correlate with the severity of inflammation and gestational age. *Hum. Pathol.*, 2002, vol. 33, no. 3, p. 335-40.
228. ROH, C.R., OH, W.J., YOON, B.K., et al. Up-regulation of matrix metallo-pröteinase-9 in human myometrium during labour: cytokine-mediated process in uterine smooth muscle cells. *Mol. Hum. Reprod.*, 2000, vol. 6, no. 1-5, p. 96-102.

229. ROMERO, R., et al. The diagnostic and prognostic value of amniotic fluid, white blood cell count, glucose, interleukin-6, and Gram stain in patients with preterm labor and intact membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1993, vol. 169, no. 4, p. 805-816.
230. ROMERO, R. et al. The preterm parturition syndrome. *BJOG*, 2006, vol.113, Suppl. 3, p. 17-42.
231. ROMERO, R., AVILA, C., SANTHANAM, U., et al. Amniotic fluid interleukin 6 in preterm labor. Association with infection. *J. Clin. Invest.*, 1990, vol. 85, no. 5, p. 1395-400.
232. ROMERO, R., ESPINOZA, J., GONÇALVES, L.F., et al. Inflammation in preterm and term labour and delivery. *Semin Fetal Neonatal Med*, 2006, vol. 11, no. 5, p. 317-26.
233. ROMERO, R., ESPINOZA, J., MAZOR, M., et al. The preterm parturition syndrome. In CRITCHELY, H., BENNETT, P., THORNTON, S., ed. *Preterm Birth*. London : RCOG Press, 2004. p. 28-60.
234. ROMERO, R., ESPINOZA, J., SANTOLAYA, J. et al. Term and preterm parturition. In MOR, G., ed. *Immunology of Pregnancy*. New York : Springer, Landes Bioscience, 2006. p. 253-93.
235. ROMERO, R., GOMEZ, R., MAZOR, M., et al. The preterm labor syndrome. In ELDER, M.G., ROMERO, R., LAMONT, R.F., editors. *Preterm labor*. New York : Churchill Livingstone, 1997. p. 29-49.
236. ROMERO, R., KUIVANIEMI, H., TROMP, G. Functional genomics and proteomics in term and preterm parturition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, vol. 87, no. 6, p. 2431-4.
237. ROMERO, R., MAYMON, E., PACORA, P., et al. Further observations on the fetal inflammatory response syndrome: a potential homeostatic role for the soluble receptors of tumor necrosis alpha. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2000, vol. 183, no. 5, p. 1070-7.
238. ROMERO, R., MAZOR, M. Infection and preterm labor. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 1988, vol. 31, no. 3, p. 553-84.

239. ROMERO, R., MAZOR, M., OYARZUN, E., et al. Is genital colonization with *Mycoplasma hominis* or *Ureaplasma urealyticum* associated with prematurity/low birth weight? *Obstet Gynecol.*, 1989, vol.73, no. 3Pt2, p. 532-6.
240. ROMERO, R., MAZOR, M., MORROTTI, R., et al. Infection and labor. VII. Microbial invasion of the amniotic cavity in spontaneous rupture of membranes at term. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1992, vol. 166, 1 Pt 4, p.129-33.
241. ROMERO, R., MAZOR M, MUNOZ H, et al. The preterm labor syndrome. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1994, vol. 734, p. 414-29.
242. ROMERO, R., MAZOR, M., WU, Y., et al. Infection in the pathogenesis of preterm labor. *Seminars Perinatol.*, 1988, vol. 12, no. 4, p. 262-279.
243. ROMERO, R., SALAFIA, C.M., et al. The relationship between acute inflammatory lesions of the preterm placenta and amniotic fluid microbiology. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1992, vol. 166, no. 5, p. 1382-1386.
244. ROMERO, R., SIRTORI, M., OYARZUN, E., et al. Infection and labor. V. Prevalence, microbiology, and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1989, vol. 61, no. 3., p. 817-24.
245. ROMERO, R., SEPULVEDA, W., KENNEY, J.S., et al. Interleukin 6 determination in the detection of microbial invasion of the amniotic cavity. *Ciba. Found. Symp.*, 1992, vol. 167, p. 205-220.
246. ROZTOČIL, A. *Antagonisté oxytocinu v léčbě předčasného porodu*. XXII. konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP. Mílovy, 2005.
247. ROZTOČIL, A. Mykózy a těhotenství. *Causa subita*, 2005, roč. 8, č. 7, s. 261-262.
248. ROZTOČIL, A. *Mykózy v těhotenství*. Sborník abstrakt. 4. česko - slovenská mezioborová konference lékařské mykologie, 2007, s. 41-42. ISBN 978-80-239-9306-6.
249. ROZTOČIL, A., NOVOTNÁ, M., MATUSKOVÁ, D., et al. Aktivní přístup při odtoku plodové vody před 32. týdnem gravidity a dosažené perinatální výsledky. *Ces. Gynek.*, 1996, roč. 61, č. 3, s. 157-61.

250. SAITO, S., KASAHARA, T., KATO, Y., et al. Elevation of amniotic fluid interleukin 6 (IL-6), IL-8 and granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) in term and preterm parturition. *Cytokine*, 1993, vol. 5, no. 1, p. 81-8.
251. SAJI, F., SAMEJIMA, Y., KAMIURA, S., et al. Cytokine production in chorioamnionitis. *J. Reprod. Immunol.*, 2000, vol. 47, no. 2, p. 185-196.
252. SALAFIA, C.M., VOGEL, C.A., et al. Placental pathologic findings in preterm birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1991, vol. 165, 4 Pt 1, p. 934-938.
253. SALING, E. Basic aspects of prematurity prevention and results achieved by a suitable simple program. *J. Perinat. Med.*, 1998, vol. 26, no. 6, p. 466-468.
254. SAKUNG, E., BRANDT-NIEBELSCHUTZ, S., SCHMITZ, C. Vermeidung van Spataborten und risikoreichen Frühgeburten. *Z. Geburtsh. Perinatol.*, 1991. vol. 195, p. 209-221.
255. SARKAR, S., BHAGAT, I., DECRISTOFARO, JD., et al. A study of the role of multiple site blood cultures in the evaluation of neonatal sepsis. *J Perinatol.*, 2006, vol. 26, no. 1, p. 18-22.
256. SAUER, I., SCHRÖDER, W., RAUMANN, S., et al. Sepsis and SIRS (systemic inflammatory response syndrom) the puerperium-pathogenesis nad clinical management. *Z. Geburtsh. Neonatol.*, 1998, vol. 202, no. 1, p. 30-4.
257. SEAWARD, P.G., HANNAH, M.E., MYHR, T., et al. International multicenter term PROM study: evaluation of predictors of neonatal infection in infants born to patients with premature rupture of membranes at term. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1998, vol. 179, 3 Pt 1, p. 635-639.
258. SHIM, S.S., ROMERO, R., JUN, J.K., et al. C-reactive protein concentration in vaginal fluid as amniotic inflammation/infection in preterm premature membranes. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.*, 2005, vol. 18, no. 6, p. 417-22.
259. SHIMOYA, K., MATSUZAKI, N., TANIGUCHI, T., et al. Interleukin-8 in cord sera: a sensitive and specific marker for the preterm chorioamnionitis. *J. Infect. Dis.*, 1992, vol. 165, no. 5, p. 957-60.
260. SHIMOYA, K., TANIGUCHI, T., MATSUZAKI, N., et al. Chorioamnionitis decreased incidence of respiratory distress syndrome elevating fetal interleukin-6 serum concentration. *Hum. Reprod.*, 2000, vol. 15, no. 10, p. 2234-40.

261. SCHIBLER, K.R., TRAUTMAN, M.S., et al. Diminished transcription of interleukin-8 by monocytes from preterm infants. *J. Leuk. Biol.*, 1993, vol. 53, no. 4, p. 399-403.
262. SCHOLL, W., AUNER, H., PURSTNER, P. Das fetale Amnioninfektionssyndrom bei vorzeitigem Blasensprung im Vergleich zu perinatalen Infektionen ohne vorzeitigem Blasensprung. *Gynecol. Geburtshilfliche Rundsch*, 1993, vol. 33, Suppl. 1, p. 347-349.
263. SCHUELLER A.C., HEEP, A., KATTNER, E., et al. Prevalence of Two Tumor Necrosis Factor Gene Polymorphisms in Premature Infants with Early Onset Sepsis. *Biol Neonate*, 2006, vol. 90, no. 4, p. 229-32.
264. SCHWARTZ, D.A., LARSEN, D.A., BECK-SAGUE, C., et al. Pathology of the umbilical cord in congenital syphilis: analysis of 25 cases. *Hum. Pathol.*, 1995, vol. 26, p. 781-784.
265. SCHWARZ, T.F., ROGGENDORF, M., et al. Human parvovirus B 19 infection in pregnancy. *Lancet II*, 1988, p. 566-567.
266. SCHWARZ, S., CAMPBELL, W.A. Maternal chorioamnionitis and umbilical vein interleukin-6 levels for identifying early neonatal sepsis. *J. Matern. Fetal. Med.*, 1999, vol. 8, no. 3, p. 88-94.
267. SCHWINGSHACKL. A., DUSZYK, B., BROWN, N., et al. Human eosinophils matrix metalloproteinase-9 on stimulation with TNF-alpha. *J. Allergy Cklin. Immunol.*, 1995, vol. 104, no. 5P, p. 983-989.
268. SILVEIRA, R.C., PROCIANOY, R.S. Evaluation of interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta for early diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr.*, 1999, vol. 88, no. 6, p. 647-50.
269. SILVERBERG, K., BOEHM, F.H. Haemophilus influenzae amnionitis with intact membranes: a case report. *Am. J. Perinatol.*, 1990, vol. 7, no. 3, p. 270.
270. SINGH, B., MERCHANT, P., WALKER, C.R. et al. Interleukin-6 expression in cord blood of patients with clinical chorioamnionitis. *Pediatr. Res.*, 1996, vol. 39, no. 6, p. 976-9.

271. SKULDBŘL, T., JOHANSEN, K.H., DAHLÉN, G., et al. Is pre-term labour associated with periodontitis in a Danish maternity ward? *J. Clin. Periodontol.*, 2006, vol. 33, no. 3, p. 177-83.
272. SŁOMKO, Z., BREBOROWICZ, G., DREWS, K. Perinatal infections. Intraamniotic infections. *Przegl. Epidemiol.*, 1994, vol. 48, no. 4, p. 361-8.
273. SMULIAN, J.C., BHANDARI, V., CAMPBELL, W.A. et al. Value of Umbilical Artery and Vein Levels of Interleukin-6 and Soluble Intracellular Adhesion Molecule-1 as Predictors of Neonatal Hematologic Indices and Suspected Early Sepsis. *The Journal of Maternal-Fetal Medicine*, 1997, no. 6, no. 5, p. 254-259.
274. SMULIAN, J.C., CAMPBELL, W.A., VINTZILEOS, A.M. et al. Correlation between umbilical artery and vein levels of interleukin soluble intracellular adhesion molecule-1. *J. Matern. Fetal. Med.*, 1997, vol. 6, no. 2, p. 67-70.
275. STALLMACH, T., HEBISCH, G., et al. Expression pattern of cytokines in the different compartments of the foeto-maternal unit under various conditions. *Reprod. Fertil. Dev.*, 1995, vol. 7, no. 6, p. 1573-1580.
276. STRÁNSKÝ, P., NÁDVORNÍK, P. Computer-assisted diagnosis of acute states after head injuries. *World Medical Electronics*, 1967, vol. 5, p. 191.
277. SUZUKI, Y., YAMAMOTO, T., KOJIMA, K., et al. Evaluation levels of cytokines in amniotic fluid of women with intrauterine infection in the early second trimester. *Fetal. Diagn. Ther.*, 2006, vol. 21, no. 1, p. 45-50.
278. SVARE, JA., SCHMIDT, H., HANSEN, BB., et al. Bacterial vaginosis in a cohort of Danish pregnant women: prev relationship with preterm delivery, low birthweight and perinataly. *BJOG*, 2006, vol. 113, no. 12, p. 1419-25.
279. SVENSSON, S., INGEMARSSON, J. Chorioamnionitis and the isolation of microorganismus from the placenta. *Obstet. Gynecol.*, 1986, vol. 64, no. 3, p. 403-407.
280. ŠEDIVÁ, A. *Imunitní systém u dětí*. 1. vyd. Praha : Triton, 1999. ISBN 80-85875-95-0.
281. ŠEFC, L. *Cytokiny* [online]. 2003. [cit. 2008-05-14]. Dostupné z: <http://patf.lf1.cuni.cz/stumat/cytokiny.pdf>



282. ŠRÁMKOVÁ, H. Výskyt sepsí v České republice. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.*, 1995, roč. 44, č. 4, s. 155-160.
283. TAKEI, H., RUIZ, B. Shift in vaginal flora (bacterial vaginosis) and the frequency of chorioamnionitis in a high-risk population. *Acta Cytol.*, 2006, vol. 50, no. 4, p. 410-4.
284. TANTALEÁN, J.A., LEÓN, R.J., SANTOS, A.A., et al. Multiple organ dysfunction syndrome in children. *Pediatr. Crit. Care Med.*, 2003, vol. 4, no. 2, p. 181-5.
285. TASCI, Y., DILBAZ, B., UZMEZ ONAL, B., et al. The value of cord blood interleukin-6 levels for prediction chorioamnionitis, funisitis and neonatal infection premature rupture of membranes. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2006, vol. 128, no. 1-2, p. 34-9.
286. TAYLOR, J.K., HALL, R.W., DUPRE, A.R. The incidence of group B streptococcus in the vaginal tracts of pregnant women in central Alabama. *Clin. Lab. Sci.*, 2002, vol. 15, no. 1, p. 16-7.
287. TERR, I.A. Zánětové mechanismy. In SITTES, P.D., TERR, I.A. *Základní a klinická imunologie*. Praha : Victoria Publishing, 1991.
288. TOPALOVSKI, M, YANG, S.S., BOOUPAST, Y. Listeriosis of the placenta: Clinicopathologic study of seven cases. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1993, vol. 169, p. 616-620.
289. TORABI, R., CHARNOVA, S., ABELLAR, R., et al. Intrauterine infection with *Klebsiella pneumoniae*: Report of a case and literature review. *Pediatr. Dev. Pathol.*, 2007, vol. 16, no. 1.
290. TORBÉ, A., CZAJKA, R., KORDEK, A. Maternal serum proinflammatory cytokines in preterm labor with intact membranes: neonatal outcome and histological associations. *Eur. Cytokine Netw.*, 2007, vol. 18, no. 2, p. 102-7.
291. UNZEITIG, V. Poševní prostředí a jeho nejčastější poruchy. *Causa subita*, 2000, roč. 3, č. 1, s. 21.
292. UNZEITIG, V. Vaginální ekosystém a poruchy jeho rovnováhy. *Lékařské listy*, 2008, roč. 57, č. 9, s. 10-15.

293. UNZEITIG, V., BUČEK, R. Mikrobiální profil předčasného porodu. *Ceska Gynekol.*, 1993, roč. 58, č. 1, s. 27-32.
294. UNZEITIG, V., BUČEK, R., CUPR, Z., et al. Epidemiologie a diagnostika ve vaginálním prostředí. I. *Ces. Gynek.*, 1991, roč. 56, č. 1, s. 1-10.
295. UNZEITIG, V., BUČEK, R., NEZDAŘILOVÁ, J. Vaginální ekosystém v prevenci sexuálně přenosných nemocí. *Ces. Gynek.*, 1993, roč. 58, č. 1, s. 35-38.
296. UNZEITIG, V., JANKŮ, P., BUČEK, P. Intraamniální infekce a předčasná porod. In *Recent Advances on the Pathophysiology of Pregnancy*. Tokyo: Simul International, 1997. p. 305-308. ISBN 4-88329-002-6.
297. UNZEITIG, V., PASEKA, J. Chorioamnionitis and preterm delivery. In COSMI, E. (Ed.). *Labor and delivery*. New York : Partheon Publishing, 1998. p. 135-139.
298. VAVŘINKOVÁ, B., BINDER, T. Diagnostické metody stanovení odtoku plodové vody. *Čes. Gynek.*, 1998, roč. 63, č. 5, s. 427-429.
299. VELEMÍNSKÝ, M. Interpretace výsledků základních kultivačních vyšetření v porodnictví. *Nové trendy v ošetrovatelství*. VI. Sborník příspěvků z konference s mezinárodní účastí. VI. jihočeské ošetrovatelské dny. České Budějovice : Jihočeská univerzita České Budějovice, 2007. s. 423-426.
300. VELEMÍNSKÝ, M. *Péče o těhotnou ženu s hrozícím předčasným porodem*. Přednáška na V. odborné konferenci ČAPA jihočeského regionu. České Budějovice, 2003.
301. VELEMÍNSKÝ, M. *Předčasný odtok vody plodové, rizika pro matku a novorozence*. Přednáška na VI. odborné konferenci ČAPA jihočeského regionu. České Budějovice, 2004.
302. VELEMÍNSKÝ, M. Sepse novorozence. In *Lékařské repertorium*. Praha: Galén, 2003. s. 245-246.
303. VELEMÍNSKÝ, M. Syndrom infikovaného amnia z hlediska neonatologa. In *Diagnostika a terapie v neonatologii*. Bratislava : Behringer-Ingelheim, 1999. s. 61.
304. VELEMÍNSKÝ, M. Syndrom infikovaného amnia z hlediska neonatologa. In *Diagnostika a terapie v neonatologii*. Bratislava : Behringer-Ingelheim, 1999. s. 113.

305. VELEMÍNSKÝ, M., HANZL, M. Neonatologický edukační program modul IV. Infekce plodu a novorozence. *Česká neonatologická společnost, Česká pediatrická společnost, Slovenská pediatrická společnost*. Salt Lake City : Trasher Reascher Found, 1996. s. 70-126.
306. VELEMÍNSKÝ, M., POTUŽNÍK, V. *Infekce plodu a novorozence*. Praha: Avicenum, 1984. 135 s.
307. VELEMÍNSKÝ, M. jr., PŘÁDNÁ, J., VELEMÍNSKÝ, M. et al. Relationship of amniotic-type placenta inflammation to pPROM, PROM and risk of early onset neonatal sepsis. *Neuro Endocrinol Lett.*, 2008, vol. 29, no. 4, p. 447-50
308. VELEMÍNSKÝ, M., SAK, P. Management of Pregnancy with Premature Rupture of Membranes (PROM). *Journal of Health Sciences Management and Public Health*, 2006, vol. 7, no. 2, p. 192-197
309. VELEMÍNSKÝ, M., SCHACHERL, O., BERKOVÁ, M. Význam histologického nálezu chorioamnitidy pro perinatální mortalitu a morbiditu. *Čs. Pediat.*, 1981, roč. 36, č. 12, s. 704-706.
310. VELEMÍNSKÝ, M. jr., STRÁNSKÝ, P., VELEMÍNSKÝ, M. et al. Relationship of IL-6, IL-8, TNF and sICAM-1 levels to PROM, pPROM, and the risk of early-onset neonatal sepsis. *Neuro Endocrinol Lett.*, 2008, vol. 29, no. 3, p. 303-11.
311. VELEMÍNSKÝ, M., ŠVIHOVEC, P.jr., VELEMÍNSKÝ, M. jr. a kol. *Infekce plodu a novorozence*. Praha : Triton, 2005. 414 s.
312. VELEMÍNSKÝ, M. jr., TOŠNER, J. Relationship of vaginal microflora to PROM, pPROM and the risk of early-onset neonatal sepsis. *Neuro Endocrinol Lett.*, 2008, vol. 29, no. 2, p. 205-21.
313. VELEMÍNSKÝ, M., VELEMÍNSKÝ, M. jr., SAK, P., HANZL, M. Terminology of Infections of Foetus and newborn. *Journal of Health Sciences Management and Public Health*, 2005, vol. 6, no. 1, p. 46-64.
314. VENKATESH, M.P., PHAM, D., FEIN, M., et al. Neonatal coinfection model of coagulase-negative Staphylococcus (*Staphylococcus epidermidis*) and *Candida albicans*: fluconazole prophylaxis enhances survival and growth. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 2007, vol. 51, no. 4, p. 1240-5.

315. VERMA, R.P., KAPLAN, C., SOUTHERTON, K. Placental histopathology in the extremely low birth weight infants. *Fetal. Pediatr. Pathol.*, 2008, vol. 27, no. 2, p. 53-61.
316. VĚTR, M., KUDELA, M., DZVINČUK, P. a kol. Infekce v etiologii předčasného porodu (výsledky studie CIPRACT). *Praktická gynekologie*, 2003, roč. 3, s. 8-12.
317. VOGEL, M. *Atlas der morphologischen Plazentadiagnostik*. 2. Aufl. Berlin: Springer, 1996, p. 39-93.
318. VOGEL, M. Klinische Pathologie der Embryonal-, Fetal- und Perinatalperiode. In DUDENHAUSEN, J.W. (Hrsg.). *Praxis der Perinatalmedizin*. Stuttgart: Thieme, 1984. p. 413-454.
319. VOGEL, M., LOTT, E., DUDENHAUSEN, J.W. Korrelation zwischen morphologischem Stadium und klinischem Symptom einer Amnionentzündung. In DUDENHAUSEN, J.W., SALING, E. (Hrsg.). *Perinatale Medizin*. X. Stuttgart : Thieme, 1984. p. 266-267.
320. VOGEL, I., THORSEN, P., CURRY, A., et al. Biomarkers for the prediction of preterm delivery. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 2005, vol. 84, no. 6, p. 516-25.
321. WAITES, K.B., BOBO, R.A., DAVIS, R.O., et al. Clinically silent polymicrobial amnionitis and intrauterine fetal death associated with a Cu-7 intrauterine contraceptive device. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1984, vol. 150, no. 8, p. 998-9.
322. WATTS, D.H., KROHN, M.A., HILLIER, S.L., et al. The association of occult amniotic fluid infection with gestational age and neonatal outcome among women in preterm labor. *Obstet. Gynecol.*, 1992, vol. 79, no. 3, p. 351-357.
323. WEIMANN, E., RUTKOWSKI, S., REISBACH, G. G-CSF, GM-CSF and IL-6 levels in cord blood: diminished increase and IL-6 in preterm with perinatal infection compared to term newborn. *J. Perinat. Med.*, 1998, vol. 26, no. 3, p. 211-8.
324. WIESENFELD, H.C., SWEET, R.L. Perinatal infection. In SCOTT, J.R. et al.(eds.). *Danforth's Obstetrics and Gynecology*. 7th ed. Philadelphia : Lippincott - Raven, 1997. p. 1121.
325. WILKS, M., WIGGINS, R., WHILEY, A., et al. Identification and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production of vaginal lactobacilli from pregnant women at high risk of preterm birth and relation with outcome. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, vol. 42, no. 2, p. 713-7.

326. WINN, H.N. Group B streptococcus infection in pregnancy. *Clin. Perinatol.*, 2007, vol. 34, no. 3, p. 387-92.
327. WINRAM, S.B., JONAS, M., CHI, E., et al. Characterization of group B streptococcal invasion of human chorion and amnion epithelial cells in vitro. *Infect. Immun.*, 1998, vol. 66, no. 10, p. 4932-4941.
328. WITTHAUT, R., WERDAN, K., SCHUSTER, H.P. Multiorgan dysfunctions - Syndrom und Multiorganversagen-Diagnose, Prognose, und Therapiekonzepte. *Internist*, 1998, vol. 39, no. 5, p. 493-501.
329. YANCEY, K., DUFF, P., CLARK, P., et al. Peripartum infection associated with vaginal group B streptococcal colonization. *Obstet. Gynecol.*, 1994, vol. 84, no. 5, p. 816-819.
330. YANG, L., FROIO, R.M., SCIUTO, T.E., et al. ICAM-1 regulates neutrophil adhesion and transcellular migration of TNF- $\alpha$ -activated vascular endothelium under flow. *Blood*, 2005, vol. 106, no. 2, p. 584-592.
331. YOON, B.H., KIM, Y.A., ROMERO, R., et al. Association of oligohydramnios in women with preterm premature rupture of membranes with an inflammatory response in fetal, amniotic and maternal compartments. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1999, vol. 181, no. 4, p. 784-788.
332. YOON, B.H., ROMERO, R., PARK, J.S. et al. The relationship among inflammatory lesions of the umbilical cord plasma interleukin 6 concentration, amniotic fluid neonatal sepsis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2000, vol. 183, no. 5, p. 1124-9.
333. YOON, B.H., ROMERO, R., YANG, S.H., et al. Interleukin-6 concentrations in umbilical cord plasma are elevated in neonates with white matter lesions associated with periventricular leukomalacia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1996, vol. 174, no. 5, p. 1433-1440.
334. ZÁVADA, J. *Syndrom multiorganové dysfunkce*. 1. vyd. Praha : Grada, 2003. 256 s. ISBN 80-7169-781-8.
335. ZBOJAN, J. Niktoré novšie laboratórne markery sepsy a ich možné využitie v neonatológii. *Čs. Pediat.*, 1998, roč. 53, č. 10, s. 645-649.

336. ZOU, L., ZHANG, H., ZHU, J. The value of the soluble intercellular adhesion molecule-1 level serum for determination of occult chorioamnionitis in premature membranes. *J. Huazhong. Univ. Sci. Technolog. Med. Sci.*, 2004, vol. 24, no. 2, p. 154-7.

Citováno podle normy ČSN ISO 690 a ČSN ISO 690-2