

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

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

Miloš Velemínský

Autoreferát disertační práce

Doktorský studijní program: *gynekologie a porodnictví*

Hradec Králové

2008

Disertační práce byla vypracována v rámci *kombinovaného* studia doktorského studijního programu *gynekologie a porodnictví* na Porodnické a gynekologické klinice Lékařské fakulty UK v Hradci Králové.

Student: MUDr. Miloš Velemínský
Gynekologicko-porodnické oddělení
Nemocnice České Budějovice a.s.

Školitel: doc. MUDr. Jindřich Tošner, CSc.
Porodnická a gynekologická klinika
Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

Oponenti: prof. MUDr. Aleš Roztočil, CSc.
Primář gynekologicko – porodnického oddělení
Nemocnice Jihlava
Vrchlického 59
586 33 Jihlava

doc. MUDr. Július Chramec, PhD.
prednosta gynekologickej kliniky
FN Trnava
ul. A. Žarnova 17
917 75 Trnava

Prostor pro doplnění místa konání a termínu obhajoby (6 cm k následujícímu textu) – doplní studijní odd.

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové (tel. 495 816 131).

Jméno, příjmení, tituly
Předseda komise pro obhajoby disertačních prací
v doktorském studijním programu

OBSAH

Souhrn	4
Summary	5
1. Úvod do problematiky	6
1.1 Fyziologie poševního prostředí	6
1.2 Infekce plodového vejce	7
1.2.1 Epidemiologie	7
1.2.2 Etiopatogeneze intraovulární infekce	8
1.2.3 Zánětová reakce plodu (FIRS)	9
1.2.4 Zánět placenty, pupečníku a plodových obalů	9
1.2.5 Rizikové faktory	10
1.2.6 Klinický obraz perinatálních infekcí	11
1.3 Cytokiny a další mediátory zánětu	12
2. Hypotézy a cíle disertační práce	13
3. Materiál a metodika	14
3.1 Definice výzkumného souboru	14
3.2 Provedení	15
4. Výsledky	17
4.1 Mikrobiální osídlení	17
4.2 Hladiny mediátorů zánětu v pupečnickové krvi	18
4.3 Histologická vyšetření placent	21
4.4 IL-6, IL-8, TNF- α a sICAM-1 jako skríníng rizika časně novorozenecké sepse	24
5. Diskuse	28
5.1 Komentář výsledků – mikrobiální osídlení	28
5.2 Komentář výsledků – histologická vyšetření placent	30
5.3 Komentář výsledků – mediátory zánětu v pupečnickové krvi	31
6. Závěr	34
7. Použitá literatura	35
8. Přehled publikační činnosti autora	38

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- α 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 specificita mediátorů zánětu jako skríningu rizika časně novorozenecké sepse byla pro IL-6 (80 %, 97 %), TNF- α (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 specificitu IL-6, IL-8, TNF- α 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 37th week of pregnancy (52); group B – women with pre-term PROM before completed 37th week of pregnancy (47); group C – women without PROM, delivering after 37th 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- α 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- α (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- α 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

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 sepsy. 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.

Poševní ekosystém představuje přirozenou ochranu genitálního ústrojí ženy před rozvojem zánětlivých onemocnění. Za jeho základní složky jsou považovány **slizniční imunitní systém** tvořený sekrečním imunoglobulinem A (IgA), leukocyty, lymfocyty, makrofágy a poševním transudátem, **hormonálními hladinami menstruačního cyklu**, především estrogenu, vedoucí 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), a **endogenní poševní mikroflórou** s klíčovou úlohou laktobacilů.

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

- časně – způsobují převážně embryo a fetopatie a intrauterinní retardace růstu
- pozdní – způsobují intrauterinní růstovou retardací 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

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. Frekvence infekcí u novorozenců se

uvádí mezi 1–8 případů na 1000 živě narozených. Incidence novorozeneckých sepsí se podle literárních zdrojů pohybuje v průměru okolo 1,5 %. Mortalita dětí s infekcí je vysoká a zvyšuje se úměrně s klesající porodní hmotností.

1.2.2 Etiopatogeneze intraovulární infekce

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.

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

Při ascendentním šíření infekce se mikroorganismy se 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).

1.2.3 Záněťová reakce plodu (FIRS)

U plodu jsou obranné mechanismy reprezentovány nástupem stresové reakce založené na neurohumorálním zapojení příslušných orgánů a jeho systémové záněťové 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.

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. 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. 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.

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

1.2.4 Záněť placenty, pupečníku a plodových obalů

Typický je průběh zánětu plodových obalů, placenty a pupečníku, který probíhá ve fázích a při němž rozlišujeme časnou reakci ze strany matky a později následující reakci ze strany plodu. 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. 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.

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. Jedná se o akutní granulocytární a zčásti nekrotizující zánět plodových obalů, choriové plotny a nebo pupečníku. Zánět se může týkat amnia, choriové plotny nebo pupečníku. V literatuře existuje pro tento stav mnoho synonym: *Amnionic sac infection syndrome*, *chorioamnionitis*, *intraamniotic infection* nebo *ascending infection*. 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.

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

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. Intrapartálními rizikovými faktory jsou protražovaný porod, časté vaginální vyšetřování, nitroděložní hypoxie plodu, a další.

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. 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.

Syndrom infikovaného amnia probíhá patogeneticky ve čtyřech stádiích. 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.

V této souvislosti je uváděn termín *riziko maternálního syndromu infikovaného amnia (RMSIA)*, jehož vznik předpokládáme například při předčasném odtoku plodové vody nebo při pozitivním kulturačním 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/mm³, 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.

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)*.

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.

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 sepsy*. Tu definovali především na základě poměrně širokého spektra laboratorních vyšetření, především některých cytokinů.

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.

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 α , β (interleukin-1), IL-6 a TNF- α , β (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.

2. HYPOTÉZY A CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

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- α 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- α) 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- α) 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- α) 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 časně 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 skríningu časně 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">• Gestační stáří 24+0 a více• Jednočetná gravidita• Negativní kultivační vyšetření moči ve smyslu významné bakteriurie10^5• Skutečnost, že při PROM nebo pPROM před odběry kultur z pochvy a hrdla děložního ještě nebyla aplikována antibiotika• Kortikoidy, které byly eventuelně indikované za účelem indukce plicní zralosti plodu, byly aplikovány až po příjmovém vyšetření a odebrání kultur• Souhlas rodičky se zařazením do studie	<ul style="list-style-type: none">• Gestační stáří 23+6 a méně• Vícečetná gravidita• Významná bakteriurie10^5 a více• Zahájení aplikace antibiotik ještě před odběry kultur z pochvy a hrdla děložního• Nesouhlas rodičky se zařazením do studie

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 ukončením 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. a z údajů Centrálních laboratoří Nemocnice České Budějovice.

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

3.2 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 kultivační vyšetření
- Stěry z pochvy na kultivační, mikroskopické, mykologické a parazitologické vyšetření a dále na vyšetření mykoplasmat a ureaplasmat
- 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- α 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.

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.

Všechna laboratorní vyšetření získaného biologického materiálu byla provedena standardními laboratorními metodami podle doporučených metodik a standardů laboratoří Nemocnice České Budějovice, a.s.

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.

4. VÝSLEDKY

4.1 Mikrobiální osídlení

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

*smíšená flóra

V tabulce 3 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. 4. 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 4 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. 5. 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. 5). Patologické hodnoty IL-6 byly přítomny v 10 případech, TNF- α v 11 případech, IL-8 v 8 případech a sICAM-1 v 6 případech.

Vyšetřování mělo skriningový 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. 6).

Tab. 6. 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. 7. 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.7. 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. 8. 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 8 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).

4.3 Histologická vyšetření placent

Tab. 9. 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%
Celkem	31	x

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

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

Tabulka 10 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. 11. Vztah funisitis a rizika časně novorozenecké sepse (12 novorozenců) v souboru 152 vyšetřených

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

Tabulka 11 ukazuje vztah mezi prokázanými případy funisitis a novorozenci 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. 12. 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)
<i>Candida albicans</i>	38	9	1	6	2	23,7%	NS
<i>Candida glabrata</i>	3	1	0	0	1	33,3%	NS
<i>Corynebacterium sp.</i>	37	7	0	7	0	18,9%	NS
<i>Escherichia coli</i>	14	8	1	6	1	57,1%	p = 0,002
<i>Enterococcus faecalis</i>	54	10	1	9	0	18,5%	NS
<i>Gardnerella vaginalis</i>	25	5	0	4	1	20,0%	NS
<i>Streptococcus agalactiae</i>	28	6	0	4	2	21,4%	NS
<i>Chlamydia trachomatis</i>	13	3	0	1	2	23,1%	NS
<i>Mycoplasma hominis</i>	8	2	0	1	1	25,0%	NS
<i>Staphylococcus koag. neg.</i>	100	18	2	14	2	18,0%	NS
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	3	0	2	1	25,0%	NS
<i>Streptococcus viridans</i>	34	11	0	9	2	32,3%	p = 0,057
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	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 12 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- α a sICAM-1 jako skrining rizika časně novorozenecké sepsy

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. 13). 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. 13. 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

Tab. 14. Senzitivita a specifická 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. 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). 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).

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 časné novorozenecké sepse při pozitivním nálezu jednoho mediátoru zánětu a příslušnosti do dané skupiny jsou v tab. 15, při pozitivním nálezu kombinací dvou mediátorů zánětu v tab. 16, tří v tab. 17 a v případě, že jsou pozitivní výsledky vyšetření všech čtyř mediátorů zánětu, jsou pravděpodobnosti uvedeny v tab. 18.

Tab. 15. Odhad pravděpodobnosti rizika časně novorozenecké sepse při pozitivním nálezu 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. 16. Odhad pravděpodobnosti rizika časně novorozenecké sepse při pozitivním nálezu 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. 17. Odhad pravděpodobnosti rizika časně novorozenecké sepse při pozitivním nálezu 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. 18. Odhad pravděpodobnosti rizika časně novorozenecké sepse při pozitivním nálezu 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. 15) 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

Výzkumný soubor tvořilo po vyřazení rodiček nesplňujících 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. 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, 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

Výsledky kultivačních vyšetření a frekvence průkazu jednotlivých bakteriálních kmenů se v našem souboru významněji nelišily od údajů publikovaných v literatuře. U většiny z nich také nebyl prokázán žádný statisticky významný vztah k PROM, chorioamnionitis, hladinám sledovaných infekčních markerů ani k riziku časně novorozenecké sepse.

Streptococcus viridans jsme 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 nálezů 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.

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 nálezů kmenů v souboru 152 žen byly mezi skupinami A a B a skupinou C na hranici statistické významnosti. Tento vztah však vyznívá ve prospěch žen bez PROM. Pro tuto skutečnost jsem nenalezl adekvátní vysvětlení, snad mimo možné chyby malých čísel.

Escherichia coli jsme v našem souboru prokázali u 9,2 % těhotných žen. Prokázali jsme statisticky významný vztah mezi nálezů kmeny *Escherichia coli* a histologicky prokázaným zánětem placenty u 31 vyšetření 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.

Laktobacily jsme 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.

Kmeny *Gardnerella vaginalis* jsem prokázali 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.

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 specifíkem.

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

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). Při histologickém nálezů chorioamnionitis bylo v našem souboru statisticky také statisticky významně zvýšené riziko časně novorozenecké sepse, přičemž totéž platilo i při histologickém nálezů funisitis.

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. a ze sedmileté praxe Centrálních laboratoří Nemocnice České Budějovice a.s. Ideální cut-off sérové hodnoty IL-6, IL-8, TNF- α 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.

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 a v dalších analýzách jsme již s tímto údajem nepracovali.

Celá řada autorů využívá k diagnostice intraamniální infekce a časně novorozenecké sepse širokou 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 specificity. Za zmínku stojí skutečnost, že při samostatném použití TNF- α 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 %. Specificita všech testů byla vysoká, pohybovala se v rozmezí 94,3–97,2 %. T tohoto pohledu se jeví použití TNF- α jako samostatného skrínigového 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 markerům, vzhledem k nízké specifitě snad pouze mimo TNF- α . 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

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

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

H4: Histologický průkaz chorioamnionitis zvyšuje riziko časně novorozenecké sepse – potvrdila

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

6. ZÁVĚR

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

1. ARUTZEN, K.J., KJOELLESDAL, 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.
2. 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.
3. BARTUŇKOVÁ, J., VERNEROVÁ, E. *Imunologie a alergologie*. 1. vyd. Praha : Triton, 2002. 83 s. ISBN 80-7254-289-3.
4. 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.
5. BONE, R.C., NEWTON, I. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit. Care Med.*, 1996, vol. 24, no. 7, p. 1125-1128.
6. 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.
7. EVALDSON, G., CARLSTROM, G., LAGRELIUS, A., et al. Microbiological findings in pregnant women with premature rupture of the membranes. *Med. Microbiol. Immunol.*, 1980, vol. 168, no. 4, p. 283-97.
8. 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.
9. HÁJEK, Z. *Předčasný porod* [online]. 2007 [cit. 2008-04-13]. Dostupné z: <http://www.porodnici.cz/sos-porodnice?id=141>
10. HINTZE, J. *NCSS, PASS, GESS* [online]. 2007 [cit. 2008-04-14]. Dostupné z: <http://www.ncss.com>.
11. 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>
12. 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.
13. CHMEL, R. Urogynekologické infekce. *Medicína po promoci*, 2004, roč. 5, č. 6, s. 74-76.
14. 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_septickyx&S_ID=553cb6f7014dea75af88a5580b76c26f

15. 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.
16. KOUCKA, M., HÁJEK, Z., PAŘÍZEK, A. Diagnosis and management of infection and its role in preterm. *Čes. Gynek.*, 2006, roč. 71, č. 1, s. 6-13.
17. Laboratorní cvičení z obecné mikrobiologie. *Mikroskopické preparáty* [online]. 2005 [cit. 2007-06-12]. Dostupné z: http://webak.upce.cz/~kbbv/Student/Vyuka/Obecna_klinicka_mikrobiologie/Laboratorni_cviceni/Navody/Mikroskopicke_preparaty.pdf
18. 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.
19. MARTIN, H., OLANDER, B., NORMAN, M. Reactive Hyperemia and Interleukin 6, Interleukin 8, and Tumor Necrosis Factor- α in the Diagnosis of Early-Onset Neonatal Sepsis. *Pediatrics*, 2001, vol. 108, no. 4, e61.
20. MAŠATA, J., JEDLIČKOVÁ, A., a kol. *Infekce v gynekologii a porodnictví, základy antiinfekční léčby*. Praha : Maxdorf, 2004. 371 s.
21. MĚCHUROVÁ, A., UNZEITIG, V., VLK, R. Doporučený postup při diagnostice a léčbě streptokoků skupiny B v těhotenství a za porodu. *Čes. Gynek.*, 2004, roč. 69, č. 5, s. 421-422.
22. PILKA, R., PROCHÁZKA, M., KUDELA, M. Význam metalproteináz v těhotenství. *Čes. Gynek.*, 2003, roč. 68, č. 4, s. 259-64.
23. ROMERO, R. et al. The preterm parturition syndrome. *BJOG*, 2006, vol.113, Suppl. 3, p. 17-42.
24. 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.
25. ROZTOČIL, A. *Antagonisté oxytocinu v léčbě předčasného porodu*. XXII. konference Sekce perinatální medicíny ČGPS ČLS JEP. Milovy, 2005.
26. 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.
27. STRÁNSKÝ, P., NÁDVORNÍK, P. Computer-assisted diagnosis of acute states after head injuries. *World Medical Electronics*, 1967, vol. 5, p. 191.
28. ŠEFC, L. *Cytokiny* [online]. 2003. [cit. 2008-05-14]. Dostupné z: <http://patf.fl1.cuni.cz/stumat/cytokiny.pdf>
29. UNZEITIG, V. Vaginální ekosystém a poruchy jeho rovnováhy. *Lékařské listy*, 2008, roč. 57, č. 9, s. 10-15.
30. UNZEITIG, V., BUČEK, R. Mikrobiální profil předčasného porodu. *Ces. Gynek.*, 1993, roč. 58, č. 1, s. 27-32.

31. 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.
32. VAVŘINKOVÁ, B., BINDER, T. Diagnostické metody stanovení odtoku plodové vody. *Čes. Gynek.*, 1998, roč. 63, č. 5, s. 427-429.
33. 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.
34. 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.
35. VELEMÍNSKÝ, M., ŠVIHOVEC, P.jr., VELEMÍNSKÝ, M. jr. a kol. *Infekce plodu a novorozence*. Praha : Triton, 2005. 414 s.
36. 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.
37. 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, s. 46-64.
38. VĚTR, M., KUDELA, M., DZVINČUK, P. a kol. Infekce v etiologii předčasného porodu (výsledky studie CIPRACT). *Praktická gynekologie*, 2003, roč. 2003, č. 3, s. 8-12.
39. VOGEL, M. *Atlas der morphologischen Plazentadiagnostik*. 2. Aufl. Berlin: Springer, 1996, p. 39-93.
40. 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.
41. ZÁVADA, J. *Syndrom multiorgánové dysfunkce*. 1. vyd. Praha : Grada, 2003. 256 s. ISBN 80-7169-781-8.
42. 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

8. PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI AUTORA

Monografie a kapitoly v monografiích

- VELEMÍNSKÝ, M. Těhotenství, porod a šestinedělí. In GREGORA, M. a kol. *Kniha o matce a dítěti*. Praha: Grada Publishing, 2005, s. 12-13. ISBN 80-247-0854-X.
- VELEMÍNSKÝ, M. Hypertenze v těhotenství z pohledu gynekologa. In ADÁMKOVÁ, V. a kol. *Arteriální hypertenze mladých osob, těhotných a dětí*. 1. vyd. Praha : Vega, 2004, s. 50-67. ISBN 80-903186-9-X.
- VELEMÍNSKÝ, M., ŠVIHOVEC, P. jr., VELEMÍNSKÝ, M. jr. a kol. *Infekce plodu a novorozence*. Praha : Triton, 2005. 414 s. ISBN 80-7254-614-7.
- GREGORA, M., VELEMÍNSKÝ, M. *Čekáme dítěátko*. Praha : Grada Publishing, 2007. 368 s. ISBN 978-80-247-1489-9.

Původní články a statě ve sbornících

- VELEMÍNSKÝ, M., SÁK, P., ZAMPACHOVÁ, E., DVOŘÁKOVÁ, A. Colonization of pregnant women by Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis – the view of perinatologist. In *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, Book of Abstracts of XVIII. European Congress of Perinatal Medicine, 19-22.6.2002*, Oslo, 2002, p. 259.
- SAK, P., VELEMINSKY, M., HANZL, M. Malignant tumors in pregnancy – three case-reports. In *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, Book of Abstracts of XVIII. European Congress of Perinatal Medicine, 19-22.6.2002*, Oslo, 2002, p.135.
- VELEMÍNSKÝ, M., SÁK, P. Odběry pupečnickové krve v Perinatologickém centru Nemocnice České Budějovice jsou realitou. *Kontakt*, 2003, roč. 5, č. 4, s. 240-243.
- VELEMÍNSKÝ, M., SÁK, P. Použití atosibanu v praxi – dvě kazuistiky. Neúspěšná tokolýza – kazuistika 2. *Bulletin Gynstart*, 2004, roč. 1, č. 3, s. 4.
- VELEMÍNSKÝ, M., SÁK, P. Úloha porodní asistentky při odběrech pupečnickové krve. In *Nové trendy v ošetrovatelství III. Sborník příspěvků z konference s mezinárodní účastí III. jihočeské ošetrovatelské dny*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, 2004, s. 295-300. ISBN: 80-7040-705-0.
- VELEMÍNSKÝ, M., SÁK, P., MALLÁTOVÁ, N. Toxoplasmosis in pregnancy – real danger. In *1st International Symposium in Hot Topics & Controversies in Perinatal Medicine, Final Program & Book of Abstracts*. Rhodos Island, 2005, s. 23.
- VELEMÍNSKÝ, M. 1. mezinárodní symposium „Hot Topics and Controversies in Perinatal Medicine“, Rhodos, 2005, Řecko. *Gynekolog*, 2005, roč.14, č. 4, s.182-183.

- VELEMÍNSKÝ, M., SÁK, P. Předčasný odtok vody plodové z pohledu porodní asistentky. In *Nové trendy v ošetrovatelství IV. Sborník příspěvků z konference s mezinárodní účastí IV. jihočeské ošetrovatelské dny*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, 2005, s. 450-459. ISBN: 80-7040-791-3.
- VELEMÍNSKÝ, M., SÁK, P. 1. mezinárodní sympozium „Hot Topics & Controversies in Perinatal Medicine“ a 2. kongres Mediterranean Association for Ultrasound in Obstetrics & Gynecology, Rhodos. *Bulletin Gynstart*, 2005, roč. 1, č. 3, s. 6-8.
- VELEMÍNSKÝ, M., HANZL, M., VELEMÍNSKÝ, M.jr. Terminologie a patogeneze intraamniálních infekcí včetně FIRS. *Neonatologické listy*. 2005, roč.11, č. 2, s. 7.
- VELEMÍNSKÝ, M., KAVEČKOVÁ, V. Význam výživy v těhotenství. In *Výživa – nedílná součást léčby závažných chorob. Sborník příspěvků z mezinárodní konference*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice, 2005, s. 42-48. ISBN 80-7040-820-0.
- VELEMÍNSKÝ, M., SÁK, P. Vaginal micro-flora – a perinatal risk factor? In *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine, Book of Abstracts of XX. European Congress of Perinatal and Neonatal Medicine 2.–27.5.2006*, Prague, 2006, p. 78.
- VELEMINSKY, M. jr., SAK, P., MALLATOVA, N. Toxoplasmosis in Pregnancy – A Problem Still Topical. *Journal of Health Sciences Management and Public Health*, 2005, vol. 9, no. 1, p. 65-68.
- VELEMINSKY, M., VELEMINSKY, M. JR., SAK, P., HANZL, M. Terminology of Infections of Foetus and newborn. *Journal of Health Sciences Management and Public Health*, 2005, vol. 9, no. 1, p. 46-64.
- VELEMÍNSKÝ, M. jr, VELEMÍNSKÝ, M. sen. Teorie intraamniální infekce. In *Nové trendy v ošetrovatelství V. Sborník příspěvků z konference s mezinárodní účastí V. jihočeské ošetrovatelské dny*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2006, s. 444. ISBN: 80-7040-884-7.
- VELEMINSKY, 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.
- VELEMÍNSKÝ, M., SAK, P., TOSNER, J. Cytokines cord blood levels as a screening for intraamniotic infection. In *The Journal of Perinatal Medicine, Book of Abstracts of 8th World Congress of Perinatal Medicine 9-13 September 2007*. Florence, 2007, s. 291-292.
- VELEMÍNSKÝ, M., SAK, P., HANZL, M., TOSNER, J. Cord blood cytokine levels in PROM and pPROM and risk of early-onset neonatal sepsis. *Farmací & terapia, international journal on drugs and therapy*, 2007, vol. 24, no. 3-4, p. 53-54.

- VELEMÍNSKÝ, M. Interpretace výsledků základních kultivačních vyšetření v porodnictví. In *Nové trendy v ošetrovatelství VI. Sborník příspěvků z konference s mezinárodní účastí VI. jihočeské ošetrovatelské dny*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2007, s. 423-426. ISBN: 978-80-7040-992-3.
- VELEMINSKY, M., SAK, P., HANZL, M., TOSNER, J. Cytokines in cord blood and early detection of risk of early-onset neonatal sepsis. *Acta Paediatrica*, 2008, vol. 97, suppl. 458, p. 30-31.
- VELEMINSKY, M.JR., TOSNER, 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.
IF 1,42
- VELEMINSKY, M JR., STRANSKY, P., VELEMINSKY, 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.
IF 1,42
- VELEMINSKY, M JR., PRADNA, J., VELEMINSKY, 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.
IF 1,42

Přehledové články

- VELEMÍNSKÝ, M., SÁK, P. Předčasný odtok plodové vody. *Florence*, 2006, roč. 2, č. 2, s. 46-49.
- VELEMÍNSKÝ, M. Syndrom infikovaného amnia. *Gynekolog*, 2007, roč.16, č. 5, s. 188-189.

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

Přednášky na odborných setkáních, které přednesl autor disertace

- Regionální perinatologický seminář
30. 4. 2004, Č.Budějovice
Referát:
Rozbor porodů u dětí s HIE v regionálním perinatologickém centru Nemocnice Č.Budějovice v roce 2003
Velemínský, M.
- VI. Odborná konference ČAPA Jihočeského regionu
29. 5. 2004, Jindřichův Hradec
Přednáška: Předčasný odtok vody plodové, rizika pro matku a novorozence
Velemínský, M.

- III. Jihočeské ošetrovateľské dny s mezinárodní účastí
23.–24. 9. 2004, České Budějovice
Přednáška: Úloha porodní asistentky při odběrech pupečnickové krve
Velemínský, M.
- Regionální seminář „Porodní analgezie“
23. 2. 2005, Hotel Malý pivovar, Č.Budějovice
Přednáška: Epidurální analgesie při porodu z pohledu porodníka
Velemínský, M.
- 1st International Symposium in Hot Topics & Controversies in Perinatal Medicine, 16–19. 6. 2005, Rhodos Island, Greece
Poster: Toxoplasmosis in pregnancy – real danger
Velemínský, M., Sák, P., Mallátová, N.
- Konference: Výživa – nedílná součást léčby závažných chorob
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta,
České Budějovice 22. 9. 2005
Přednáška: Význam výživy v těhotenství
Velemínský, M., Kavečková, V.
- IV. Jihočeské ošetrovateľské dny s mezinárodní účastí
29.–30. 9. 2005, České Budějovice
Přednáška: Předčasný odtok vody plodové z pohledu porodní asistentky
Velemínský, M., Sák, P.
- XXII. Neonatologické dny, České Budějovice 9–11. 11. 2005
Přednáška: Terminologie a patogeneze intraamniálních infekcí včetně FIRS
Velemínský, M., Hanzl, M, Velemínský, M.jr.
- Výživa – nedílná součást léčby závažných chorob. Mezinárodní konference.
22. 9. 2005, České Budějovice
Přednáška: Význam výživy v těhotenství
Velemínský, M., Kavečková, V.
- Gynekologicko-porodnická konference Nemocnice České Budějovice, a.s.
23. 2. 2006
Přednáška: Epidurální analgesie při porodu – nové zásady spolupráce s ARO
Velemínský, M., Růžičková, L.
- Gynekologicko-porodnická konference Nemocnice České Budějovice, a.s.
22. 6. 2006
Přednáška: Epidurální analgesie při porodu
Velemínský, M., Růžičková, L.
- XX. European Congress of Perinatal and Neonatal Medicine
24.–27. 5. 2006, Prague, Czech Republic
Poster: Vaginal micro-flora – a perinatal risk factor?
Veleminsky, M., Sak, P.

- V. Jihočeské ošetrovateľské dny s mezinárodnou účasťou
19.–20. 9. 2006, České Budějovice
Přednáška: Teorie intraamniální infekce
Velemínský, M. jr, Velemínský, M. sen.

- 8th World Congress of Perinatal Medicine
9.–13. September 2007, Florence, Italy
Poster: Cytokines cord blood levels as a screening for intraamniotic infection
Veleminsky, M., Sak, P. Tosner, J.

- 4th International Workshop on Neonatology and 1st Meeting on Neonatal Infectivology
25.–27. 10. 2007, Cagliari, Italy
Poster: Cord blood cytokine levels in PROM and pPROM and risk of early-onset neonatal sepsis
Veleminsky, M., Sak, P., Hanzl, M., Tosner, J.

- VI. Jihočeské ošetrovateľské dny s mezinárodnou účasťou
20.–21. 9. 2007, České Budějovice
Přednáška: Interpretace výsledků základních kultivačních vyšetření v porodnictví
Velemínský, M.

- 4th Eurabi International Meeting Siena, (Italy) – April 3.–5. 2008
Poster: Cytokines in cord blood and early detection of risk of early-onset neonatal sepsis
Veleminsky, M., Sak, P., Hanzl, M., Tosner, J.

- Solidarita pro zdraví v evropském regionu, Č.Budějovice 11–12. září 2008
Přednáška: Efektivita antibiotické profylaxe u GBS pozitivních rodiček
Velemínský, M., Hruběšová, M.