

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Elvyra
STANEVIČIŪTĖ

Antiseptikų veiksmingumo
palyginimas veikiant
Staphylococcus aureus infekuotą
austą kraujagyslės protezą
in vitro ir *in vivo*

DAKTARO DISERTACIJA

Medicinos ir sveikatos mokslai
Medicina M 001

VILNIUS 2019

Disertacija rengta 2015-2019 metais Vilniaus universitete, Medicinos fakultete. Mokslinius tyrimus rėmė Lietuvos mokslo taryba (doktorantūra buvo finansuojama ES struktūrinių fondų lėšomis).

Mokslinis vadovas:

prof. habil. dr. Vytautas Jonas Sirvydis (Vilniaus universitetas, Medicinos ir sveikatos mokslai, Medicina – M 001).

Mokslinis konsultantas:

dr. Mangirdas Malinauskas (Vilniaus universitetas, Gamtos mokslai, Fizika – N 002).

Nuoširdžiai dėkoju prof. habil. dr. Vytautui Jonui Triponiui
už profesinę pagalbą ir visapusišką paramą
doktorantūros studijų metu

TURINYS

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS	7
ĮVADAS	9
1. LITERATŪROS APŽVALGA	13
1.1 KPI epidemiologija ir etiologija	13
1.2 KPI klasifikacija	15
1.3 KPI prevencija	15
1.4 KPI sukėlėjai	17
1.5 KPI klinikinis pasireiškimas ir diagnostikos būdai	18
1.6 KPI gydymo būdai	22
1.6.1 Chirurginis KPI gydymas, šalinant infekuotą protezą	25
1.6.2 Chirurginis KPI gydymas, išsaugant infekuotą protezą	28
1.6.3 Konservatyvus KPI gydymas: antibiotikų terapija	28
1.6.4 Konservatyvus KPI gydymas: neigiamo slėgio žaizdų terapija ..	30
1.6.5 Konservatyvus KPI gydymas: vietinis žaizdos gydymas antibiotikais, antiseptikais ar kitomis medžiagomis	30
1.7 Eksperimentiniai žaizdų modeliai	33
1.8 Lietuvos moksliniai tyrimai, susiję su kraujagyslės protezų infekcijomis	34
2. MEDŽIAGOS IR METODAI	36
2.1 <i>In vitro</i> eksperimentų metodika	37
2.1.1 Skirtingų <i>S. aureus</i> padermių bioplėvelių formavimo vertinimas	37
2.1.2 Mikroskopinis <i>S. aureus</i> bioplėvelių integralumo vertinimas	39
2.1.3 Antiseptinių tirpalų antimikrobinio veiksmingumo tyrimas <i>S. aureus</i> bioplėvelėms	41
2.1.4 Antiseptinių tirpalų antimikrobinio veiksmingumo tyrimas <i>S. aureus</i> bioplėvelėms ant kraujagyslės protezų	42
2.1.5 Kraujagyslės protezų skenavimas elektroniniu mikroskopu	43
2.2 <i>In vivo</i> eksperimentų metodika	44
2.2.1 Paruošiamieji eksperimentai	44
2.2.2 Pirmojo etapo <i>in vivo</i> eksperimentai	45
2.2.3 Antrojo etapo <i>in vivo</i> eksperimentai	48
2.3 Statistinė duomenų analizė	51
3. REZULTATAI	52
3.1 <i>In vitro</i> eksperimentų rezultatai	52
3.1.1 Kokybinė ir kiekybinė skirtingų <i>S. aureus</i> padermių bioplėvelių formavimo charakteristika	52

3.1.2 Antiseptinių tirpalų veiksmingumo vertinimas, ardant <i>S. aureus</i> bioplėvelių integralumą	53
3.1.3 Antiseptinių tirpalų antimikrobinio veiksmingumo vertinimas, veikiant <i>S. aureus</i> bioplėveles	55
3.1.4 KPI modelio sukūrimas <i>in vitro</i> . Antiseptinių tirpalų antimikrobinio veiksmingumo vertinimas, veikiant <i>S. aureus</i> bioplėveles ant kraujagyslės protezų	57
3.2 <i>In vivo</i> eksperimentų rezultatai	59
3.2.1 Galutinis imties dydis eksperimentuose	59
3.2.2 Makroskopiniai radiniai	60
3.2.3 Mikrobiologiniai radiniai	61
3.2.4 Išplėstiniai tyrimai su oktenidino dihidrochloridu	63
4. REZULTATŲ APTARIMAS	69
4.1 <i>In vitro</i> eksperimentų rezultatų aptarimas	70
4.2 <i>In vivo</i> eksperimentų rezultatų aptarimas	72
IŠVADOS	76
PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS	77
DARBO TĘSTINUMAS	78
NAUDOTOS LITERATŪROS SĄRAŠAS	79
PUBLIKACIJŲ IR PRANEŠIMŲ SĄRAŠAS	79
PADĖKOS	97
INFORMACIJA APIE AUTOREĮ	98

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS

CRB – C reaktyvinis baltymas

FBT – fosfatinio buferio tirpalas

KFV – kolonijas formuojantys vienetai

KPI – kraujagyslės protezo infekcija

KT – kompiuterinė tomografija

M – mediana

MASA – meticilinui atsparus *Staphylococcus aureus*

MF – Medicinos fakultetas

MLT – modifikuota Lubbock'o terpė

MRT – magnetinio rezonanso tomografija

NSŽT – neigiamo slėgio žaizdų terapija

OT – optinis tankis

PGR – polimerazės grandininė reakcija

PMN – polimorfonuklearai

PTFE – politetrafluoroetilenas

SEM – skenuojantis elektroninis mikroskopas

SN – standartinis nuokrypis

TKP – tarpkvartilinis plotis

TSA – triptozės sojos agaras

TSS – triptozės sojos sultinys

VU – Vilniaus universitetas

1. ĮVADAS

Darbo aktualumas

Kraujagyslės protezo infekcija (KPI) yra gana reta, tačiau viena iš sunkiausiai gydomų komplikacijų kraujagyslių chirurgijoje. Ją patiria nuo 0,5 proc. iki 9,5 proc. visų ligonių, kuriems implantuojami sintetiniai kraujagyslių pakaitalai [1-8]. Negydant ši infekcija dažnai komplikuojasi gyvybei pavojingu kraujavimu ar sepsiu [9]. Tačiau net ir gydant neišvengiama pačių blogiausių išėičių – galūnių amputavimo (5-70 proc. visų atvejų) bei mirties (10-75 proc.) [4, 9-14].

KPI gali išsivystyti perioperaciniu laikotarpiu (dėl aseptikos pažeidimo atliekant chirurginius veiksmus) ir pooperaciniu laikotarpiu (dažniausiai dėl chirurginės žaizdos supūliavimo arba sisteminės bakteriemijos dėl kitų paciento infekcinių susirgimų). Dažniausiai KPI sukelia fakultatyviniai anaerobai: stafilokokai, žarnyno lazdelės, enterokokai, salmonelės ir kt. Stafilokokai yra ypač dažni – jie sudaro nuo 24 iki 50 proc. visų KPI tiek ankstyvuojų, tiek vėlyvuojų pooperaciniu laikotarpiu [11, 15-19]. Kasdienėje kraujagyslių chirurgijos praktikoje ypač aktualus yra *Staphylococcus aureus* sukeltos KPI gydymas, nes ši bakterija ne tik dažniausiai sukelia KPI ankstyvuojų pooperaciniu laikotarpiu, bet ir yra linkusi formuoti bioplėveles, kurios dar labiau apsunkina gydymo eigą [2, 15-18].

Bioplėvelė – tai paplitusi bakterijų gyvavimo forma, veikianti tarsi atskiras organizmas. Joje bakterijos yra susijungusios tarpusavyje tvirtomis polimerinėmis jungtimis ir gaubiamos polisacharidinio matriksu, kuris padaro jas sunkiau paveikiamas išorės veiksnių. Per pastaruosius keletą dešimtmečių bakterinių bioplėvelių savybės gana išsamiai išnagrinėtos ir aprašytos mokslinėje literatūroje [20-22]. Pastebėta, kad bioplėvelės yra linkusios kolonizuoti įvairius organizmo paviršius ir ypač dažnai prisitvirtinti prie svetimkūnių – implantų. Dėl šios savybės bioplėvelių formavimasis išlieka viena iš pagrindinių temų, tiriant implantų ir kitų svetimkūnių infekcijas [23].

Diagnozavus KPI gydytojui tenka nuspręsti, kokią gydymo taktiką rinktis, kadangi gydymo būdo, efektyvaus visais KPI atvejais, nėra. Remiantis pagrindiniais chirurgijos principais, norint išgydyti svetimkūnio infekciją reikia jį pašalinti, todėl sėkmingai gydyti KPI išsaugant patį protezą yra labai sudėtinga. Beveik visais KPI atvejais naujas kraujagyslės pakaitalas turi būti implantuotas tuojau pat, kad tam tikra kūno sritis nenukentėtų nuo kraujotakos nepakankamumo. Kraujagyslių chirurgijoje dažniausiai naudojamas implantas – iš poliesterinių mikrofilamentų suauštas gofruotas dakrono protezas.

Nelygus šio protezo paviršius sudaro itin palankias sąlygas mikrobu kolonizacijai ir bioplėvelėms formuotis, o dėl apsunkinto prieinamumo antimikrobiniais preparatais bei šeimininko imuninėms ląstelėms bioplėvelių išnaikinimas tampa dar mažiau tikėtinas [16, 24].

Įprastai KPI atveju rekomenduojama agresyvi chirurginė taktika: pašalinti infekcijos apimtus audinius kartu su pačiu kraujagyslės protezu, suformuoti ekstraanatominių šuntų, apeinant infekuotą vietą, skirti sisteminę antibiotikų terapiją didelėmis dozėmis [4]. Tačiau ši gydymo taktika ne visada įmanoma, ypač kai infekcijos apimtas protezas yra įsiūtas į aortą ar kitas gyvybiškai svarbias arterijas, kai ligonis išsekęs nuo gretutinių ligų ir neatlaikytų didelės apimties operacijos arba kai infekcijos sukėlėjas yra atsparus daugeliui antimikrobinų medžiagų. Dėl šių priežasčių tam tikrais atvejais bandoma taikyti kitus chirurginius arba konservatyvius gydymo metodus, leidžiančius išsaugoti protezą. Mokslinėje literatūroje vis dažniau randama aprašytų sėkmingų pavienių bei mažų imčių serijų KPI atveju, gydytų konservatyviai [25, 26].

Stengiantis išsaugoti implantuotą kraujagyslės protezą, dažniausiai taikomi keli konservatyvaus KPI gydymo metodai: ilgalaikė sisteminė antibiotikų terapija, neigiamo slėgio žaizdų terapija (NSŽT) ir vietinis žaizdos drenažas nuolatiniiais arba cikliškais plovimais [1, 3, 9, 26]. Žaizdos gali būti plaunamos steriliu 0,9 proc. natrio chlorido tirpalu [27], antibiotikų arba antiseptikų tirpalais.

Nors antibiotikai yra neatsiejama KPI gydymo dalis, taikant sisteminę antibiotikų terapiją susiduriama su dviem didelėmis problemomis. Pirma, dauguma antibiotikų sunkiai prasiskverbia pro bakterijų suformuotas bioplėveles. Įrodyta, kad antibiotikai daug efektyviau veikia tos pačios rūšies planktonines bakterijas nei bakterijas, įeinančias į bioplėvelės sudėtį [28-30]. Antra, nuolat atsiranda antibiotikams atsparių bakterijų padermių, ir tai verčia ieškoti gydymo alternatyvų. Šiandien pranašesnės tampa kitos antimikrobinės medžiagos – antiseptikai, nes bakterijų atsparumas jiems išlieka minimalus [31]. Nors iki šiol antiseptikai dažniausiai naudojami chirurginės žaizdos infekcijos profilaktikai [32] arba nekomplikuotų žaizdų infekcijos gydymui, vis dažniau juos bandoma pritaikyti tais atvejais, kai antibiotikų terapija pasirodo neveiksminga.

KPI gydymas ne tik sunkiai prognozuojamas, bet ir labai brangus. Apskaičiuota, kad JAV per metus implantuojama apie 450 000 kraujagyslių protezų, o KPI gydymo kaštai siekia 640 mln. dolerių [4]. Šveicarijos federalinis statistikos biuras skelbia duomenis, kad devyni iš 100 000 hospitalizuojamų pacientų turi KPI, o jų gydymas kainuoja ~72 350 Šveicarijos frankų (63 225 eurus) vienam pacientui [5]. Duomenų, kiek kraujagyslės protezų supūliavimo

gydymas kainuoja Lietuvai, nėra, tačiau apytiksliai šalyje dėl šios komplikacijos kasmet gydoma ~30-50 ligonių.

Darbo tikslas

Įvertinti įprastai klinikinėje praktikoje naudojamų antiseptinių tirpalų efektyvumą, veikiant *Staphylococcus aureus* užkrėstą austa kraujagyslės protezą *in vitro* ir *in vivo*.

Darbo uždaviniai

1. Palyginti 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalų poveikį ardant skirtingų *S. aureus* padermių suformuotų bioplėvelių struktūrą *in vitro*.
2. Palyginti 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalų antimikrobinį veiksmingumą skirtingų *S. aureus* padermių suformuotoms bioplėvelėms *in vitro* sąlygomis imituojant žaizdos aplinką.
3. Sukurti eksperimentinį infekuoto austo kraujagyslės protezo modelį *in vitro* ir palyginti 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalų antimikrobinį veiksmingumą skirtingų *S. aureus* padermių bioplėvelėms ant kraujagyslės protezo lopinėlių.
4. Sukurti eksperimentinį infekuoto austo kraujagyslės protezo modelį *in vivo* Wistar klono žiurkėms ir palyginti 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalų veiksmingumą, gydant *S. aureus* užkrėstas žiurkių žaizdas su kraujagyslės protezo lopinėliais.
5. Įvertinti žiurkių gydymo trukmę, reikalingą pašalinti *S. aureus* iš kraujagyslės protezo aplinkos, atlikti citologinę bei histologinę žaizdos audinių analizę.

Ginamieji teiginiai

1. Antiseptiniai tirpalai *in vitro* sąlygomis geba paveikti *S. aureus* bioplėveles.
2. Žaizdų plovimas antiseptikais yra efektyvus metodas, gydant *S. aureus* sukeltą žaizdos infekciją su kraujagyslės protezu.

Tyrimo naujumas

Sparčiai besivystant bakterijų atsparumui antimikrobinėms medžiagoms, ieškoma alternatyvių būdų, kaip kovoti su infekcijomis. Konservatyvus KPI gydymo metodas – vietinis žaizdos plovimas antiseptiniais tirpalais – vis labiau diegiamas į praktiką, tačiau visuotinai neįsitvirtinęs kovos su KPI būdas. Išnagrinėjus šia tema paskelbtas publikacijas pastebėta, kad trūksta reprezentatyvių, žaizdai artimų *in vitro* modelių, kurie padėtų įvertinti antiseptikų poveikį bioplėveles formuojančiam *S. aureus* ant kraujagyslės protezų. Taip pat nerasta paskelbtų tyrimų, kur antiseptiniai tirpalai *in vivo* sąlygomis būtų panaudojami KPI gydymui, o ne profilaktikai.

S. aureus bioplėveles ardančio bei antimikrobinio antiseptikų poveikio vertinimui sukurtas naujas *in vitro* modelis, artimas žaizdai ir KPI. Tam, kad būtų įvertintas dar plačiai klinikinėje praktikoje netaikomas konservatyvus KPI gydymo metodas – žaizdų plovimas antiseptiniais tirpalais – sukurtas naujas eksperimentinis modelis, panaudojant Wistar kloną žiurkės.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 KPI epidemiologija ir etiologija

KPI – nedažna, tačiau sunkiai gydoma komplikacija kraujagyslių chirurgijoje, nuolat kelianti diskusijas dėl gydymo taktikos bei metodų pasirinkimo [3, 19, 33-35].

Jau 1950 metais šiuolaikinės širdies bei kraujagyslių chirurgijos tėvas Michael DeBakey, pasinaudodamas savo žmonos siuvimo mašina, iš dakrono audinio pasiuvo pirmą sintetinį kraujagyslės pakaitalą, kurio patobulintos versijos iki šių dienų naudojamos kasdienėje kraujagyslių chirurgo praktikoje [36]. Pirmą kartą aortos chirurgijoje M. DeBakey savo sukurtą dakroninį protezą išbandė 1957 m. [37-38]. Po kiek daugiau nei 20 metų, 1976 m., pirmą kartą panaudotas politetrafluoroetileno (PTFE) protezas [37, 39]. Sintetinių kraujagyslės pakaitalų įdiegimas į praktiką leido kraujagyslių chirurgijos sričiai tobulėti ir atrasti naujus būdus revaskuliarizacijos procedūroms atlikti. Nors sintetiniai protezai nusileidžia biologiniams pakaitalams savo polinkiu į infekcijas bei neointimos hiperplaziją, o periferinių arterijų rekonstrukcijos atvejais pasižymi ir trumpesniu funkcionavimu, šių dienų kraujagyslių chirurgijos praktikoje dakrono ir PTFE protezai yra vieni labiausiai paplitusių neautologinių konduitų [16, 37].

Kraujagyslių protezai naudojami protezuoti arterijų aneurizmas bei periferinės arterijų ligos atvejais suformuoti šuntus ir intarpus, užlopyti kraujagyslių defektus, taip pat dializės prieigos – arterioveninių fistulių – suformavimo operacijoms [37, 40-41]. Stambiųjų arterijų protezavimo atvejais kraujagyslės protezai yra pirmiausiai pasirinktini kraujagyslių pakaitalai. Rekonstruojant periferines arterijas rekomenduojama naudoti autologinius pakaitalus, tačiau taupant laiką kritinių situacijų metu arba nesant tinkamos autologinės venos sintetinis kraujagyslės protezas gali santykinai pigiai išspręsti konduito klausimą [37].

Įvairiuose literatūros šaltiniuose nurodomas panašus KPI paplitimo dažnis, svyruojantis nuo 0,5 iki 9,5 proc. [1-8]. Supūliuoja <1 proc. subrenalinėje aortoje implantuojamų protezų, 1-2 proc. aorto-femoralinių šuntų ir daugiau nei 6 proc. kirkšnyse implantuojamų protezų [3, 5, 6, 7, 42-45].

Apie 53 proc. KPI įvyksta per pirmąsias 30 dienų po implantavimo ir 70 proc. – per pirmuosius du mėnesius [19, 46, 47]. Net imantis visų gydymo priemonių iki 70 proc. KPI atvejų baigiasi galūnių amputacijomis ar net paciento mirtimi [4, 9-14].

Kraujagyslės protezo supūliavimui įtaką daro daug veiksnių: vyresnis paciento amžius, vyriška lytis, didelis kūno masės indeksas, gretutinės paciento ligos (ypač svarbios infekcinės būklės operacijos metu, pvz., nosiaryklės kolonizacija *S. aureus*, odontologinės, urogenitalinės, virškinamojo trakto infekcijos bei imunosupresinės būklės – hormoniniais preparatais gydomos autoimuninės ligos, cukrinis diabetas, žmogaus imunodeficit virusas, dėl buvusios organų transplantacijos vartojami imunosupresantai), protezo implantavimo priežastis bei anatomicinė vieta [40, 48, 49]. Pastebėta, kad dažniausiai supūliuoja protezai, kurie implantuojami kirkšnyse [3, 43] ir/arba pravedami poodžiu (femoro-femoraliniai, femoro-poplitiniai, aksilofemoraliniai šuntai) [50]. Kirkšnies pjūviai lengvai infekuojasi dėl pjūvio metu pažeidžiamų limfinių takų bei limfmazgių, taip pat dėl greta esančios anogenitalinės srities [51].

Dažnai protezas infekuojamas implantavimo operacijos metu, tačiau tai įvyksta ir dėl paciento kraujyje cirkuliuojančios infekcijos (bakteriemijos) arba protezo kontaktavimo su kitais kūno organais, kuriuose tuo metu vyksta infekcinis procesas ar kurių mikrobiota gali tapti patogeniška (pvz., žarnyno arba urogenitalinio trakto) [40]. Neretas protezų infekavimosi kelias yra dėl kontaktavimo su hematomomis ar limfocelėmis, susidariusiomis ir supūliavusiomis po operacijos. Daugiausia KPI įvyksta kirkšnyse ir artimuoju pooperaciniu laikotarpiu, progresuojant operacinės žaizdos infekcijai [52]. Nustatyta, kad labiau linkę supūliuoti protezai, implantuoti skubių operacijų metu.

Operacijos metu labai dažnai infekcijos sukėlėjas į žaizdą patenka tiesiog nuo paciento odos, tačiau nesilaikant visų aseptikos ir antiseptikos principų mikroorganizmai į žaizdą gali pakliūti nuo medicinos personalo ar operacinės aplinkos objektų. Ilgas paciento gulėjimas ligoninėje iki operacijos taip pat didina KPI riziką, nes paciento oda kolonizuojasi patogeniškais ir daugeliui antimikrobinų medžiagų atspariais ligoninėse cirkuliuojančiais mikroorganizmais. Nustatyta, kad KPI žymiai dažniau išsivysto ligoniams, kai atliekama pakartotinė rekonstrukcinė arterijų operacija, abipusiai pjūviai kirkšnyse, operacijos metu pacientas turi trofinių opų ar gangrenos apimtų audinių [44]. Nors bakterijų patekimas į protezą limfiniais takais nėra galutinai įrodytas, pastebėta, kad kirkšnyje implantuotas protezas dažniau infekuojasi esant užkrėstoms opoms ar gangrenai apatinėje galūnėje [53].

1.2 KPI klasifikacija

KPI klasifikuojamos į ankstyvasias pooperacines, įvykstančias per pirmus keturis mėnesius po protezo implantavimo, ir vėlyvasias pooperacines, įvykstančias praėjus daugiau kaip keturiems mėnesiams po operacijos. Pooperacinių žaizdų infekcijoms klasifikuoti naudojama 1972 m. paskelbta Szilagyi'o klasifikacija [54, 55], taip pat pritaikyta KPI klasifikavimui:

- I laipsnis – infekcija apima odą;
- II laipsnis – infekcija apima odą ir poodį;
- III laipsnis – infekcija apima patį kraujagyslės protezą.

KPI galima suskirstyti į grupes ir pagal protezo implantavimo vietą [40] bei segmentą, kurį apėmė infekcija.

1988 m. paskelbta Samson'o KPI klasifikacija [56] yra detalesnė:

- I laipsnis – infekcija apima odą;
- II laipsnis – infekcija apima poodinį audinį, tačiau nėra kontakto su kraujagyslės protezu;
- III laipsnis – infekcija apima patį kraujagyslės protezą, bet ne jo anastomozės sritis;
- IV laipsnis – infekcija apima anastomozę, tačiau nėra kraujavimo ir bakteriemijos;
- V laipsnis – yra kraujavimas iš anastomozės srities, bakteriemija.

1.3 KPI prevencija

Neatsiejama implantologijos mokslo sritis yra infekcijų prevencija. Didžioji dalis veiksnių, kurių rekomenduojama imtis norint išvengti bet kokio implanto infekcijos, yra universalūs ir juos galima pritaikyti KPI prevencijai. Chirurginės žaizdos infekavimas operacijos metu – viena dažniausiai pasitaikančių implanto infekcijos priežasčių. Norint užkirsti tam kelią, svarbu nepažeisti plačiai žinomų aseptikos bei antiseptikos taisyklių bei taikyti perioperacinę profilaktinę antibiotikų terapiją [57, 58].

Kiek mažiau paplitusi, tačiau ne vienu moksliniu tyrimu patvirtinta praktika yra operacinės žaizdos išplovimas prieš užsiuvant [57]. Remiantis kelių skirtingų klinikinių studijų duomenimis, žaizdų išplovimas steriliu 0,9 proc. natrio chlorido ar iki 3,5 proc. atskiestu povidono-jodo tirpalu sumažina implantų infekcijos riziką ortopedinių bei neurochirurginių operacijų metu [59-61]. Cheng ir bendr. [61] aprašo žymiai sumažinę pooperacinių žaizdų infekcijų dažnį prieš užsiuvant išplovę žaizdas 3,5 proc. povidono-jodo tirpalu stuburo operacijų metu, o Brown ir bendr. [60] – kelio artroskopijų metu

(kontrolinės grupės žaizdoms plauti panaudotas 0,9 proc. natrio chlorido tirpalas).

Ieškant antimikrobiškai efektyvaus, bet minimaliai audiniams citotoksiško preparato, operacinių žaizdų infekcijų profilaktikai atlikta nemažai tyrimų *in vitro* sąlygomis. Vieni pagrindinių medikamentų, naudojamų žaizdų infekcijų prevencijai – antiseptikai. Jų pranašumas lyginant su antibiotikais yra nesivystantis bakterijų atsparumas [31], o pagrindinis trūkumas – citotoksiškumas audiniams. Citotoksiškas preparatas gali stabdyti žaizdos gijimą ar net paskatinti infekcijos išsivystymą [62-66]. *In vitro* studija su klinikinėje praktikoje naudojamais antiseptikais (povidono-jodu, chlorheksidino digliukonatu, oktenidino dihidrochloridu, poliheksanidu ir vandenilio peroksidu) atlikta užkratui panaudojus dažnus KPI sukėlėjus – *Staphylococcus epidermidis* ATCC 49134, *S. aureus* ATCC 29213 ir iš klinikinio mėginio išskirtą *S. aureus* padermę. Vaistų citotoksiškumas tirtas *in vitro* sąlygomis dvi minutes paveikus žmogaus fibroblastus ir mezenchimines stromos ląsteles. Nustatyta, kad mažiausiai citotoksiškai suveikė povidono-jodas, ir operacinių žaizdų plovimui siūloma jį naudoti skiestą iki 1,3 g/l (0,13 proc.) [57]. Kituose literatūros šaltiniuose pateikiamų *in vitro* tyrimų duomenys dėl antiseptikų citotoksiškumo skiriasi. Müller ir Kramer [65] 30 minučių antiseptikais veikė pelių fibroblastus, užkratui panaudodami *Escherichia coli* ir *S. aureus*. Ištyrus povidono-jodą, chlorheksidino digliukonata, oktenidino dihidrochloridą ir poliheksanidą, mažiausiai citotoksiškai ir labiausiai baktericidiškai veikė pastarieji du antiseptikai.

Įrodyta, kad mažai traumuojanti chirurginė technika, kruopšti hemostazė, žaizdos užsiuvimas keliais sluoksniais sumažina KPI dažnį [53]. Kadangi nustatyta, kad didžioji dalis supūliuojančių protezų būna implantuoti kirkšnies srityje, esant galimybei rekomenduojama vengti pjūvių kirkšnyse ir protezų anastomozes siūti kitose vietose, taip pat naudoti infekcijai atsparesnius protezus, dengtus sidabru arba rifampicinu [41].

Dar viena universali rekomendacija infekcijų prevencijai – vengti ilgo gulėjimo ligoninėje prieš planines protezo implantavimo operacijas. Taip išvengiama odos kolonizacijos dauginiu atsparumu pasižyminčiais mikroorganizmais [35]. Jei to pasiekti nepavyksta, rekomenduojama prieš operaciją ligoniams nusiprausti antibakteriniu muilu, o plaukus nuo odos nuskusti prieš pat operaciją. Nors literatūros šaltiniuose randama gana prieštaringų duomenų apie operaciniam laukui paruošti skirtų odos dezinfektantų veiksmingumą, 2018 m. paskelbtoje studijoje alkoholinio chlorheksidino ir povidono-jodo veiksmingumas vertinamas panašiai [67, 68]. Vertėtų atkreipti dėmesį, kad dėl

operacinėje tiekiamo deguonies alkoholiniai dezinfektantai gali būti pavojingi. Taip pat juos naudojant neretai pasitaiko cheminio odos nudeginimo atvejų.

Tyrimais nepatvirtinta, kokią naudą turi plėvelės, klijuojamos ant dezinfekuoto operacinio lauko prieš operacijas [69]. Nepaisant to, rekomendacija klijuoti antiseptikais impregnuotas plėveles kol kas išlieka.

Įrodyta, kad profilaktiškai skiriamos antimikrobinės medžiagos sumažina KPI dažnį, todėl jų skyrimas perioperaciniu laikotarpiu yra privalomas [70-73]. Dažniausi profilaktiniai antibiotikai – III kartos cefalosporinai arba amoksicilinas su klavulano rūgštimi [53]. Jei baiminamasi atsparių įprastinėms antimikrobinėms medžiagoms infekcijos sukėlėjų, rekomenduojama vankomicino ir gentamicino kombinacija [53]. Imliausias infekcijai implantas yra tol, kol nėra pasidengęs šeimininko albuminiais [74], taigi profilaktiniai antibiotikai turi cirkuliuoti kraujyje implantavimo metu, kitaip efekto nebus [75, 76]. Profilaktinius antibiotikus rekomenduojama suleisti 1 val. prieš odos pjūvį. Anksčiau nei 1 val. prieš operaciją rekomenduojama profilaktiškai antibiotikų neskirti, nes jie neatliktų savo funkcijos ir paskatintų atsparių bakterijų vystymąsi [35, 44]. Įrodymų, kad profilaktinius antibiotikus reikėtų tęsti ilgiau nei 24 val. po operacijos, nėra, nebent ligonis turi daug rizikos veiksnių [35, 77].

1.4 KPI sukėlėjai

Nors profilaktinės priemonės sumažina šios grėsmingos komplikacijos dažnį, visiškai išvengti KPI nepavyksta. Teoriškai bet koks mikroorganizmas galėtų sukelti KPI, tačiau vienareikšmiškai dažniausi sukėlėjai yra bakterijos. Daugiau nei 80 proc. atvejų KPI sukėlėjai yra gramteigiami mikroorganizmai [78]. Dažniausiai identifikuojami KPI sukeliantys mikroorganizmai – stafilokokai [40, 46, 49, 50, 81, 85, 86]. *S. aureus* dažniausiai sukelia KPI ankstyvuojų, o *S. epidermidis* – vėlyvuojų pooperaciniu laikotarpiu [2, 17, 18].

Stafilokokams sukėlus KPI, ligos eigą apsunkina jų gaminamos medžiagos: alfa-toksinas, leukocidinas, enterotoksinai, fermentai proteazė, lipazė, nukleazė, stafilokinazė, koaguliazė [82]. Dažniausiai identifikuojamo KPI sukėlėjo – *S. aureus* virulentiškumas irgi susijęs su jo išskiriamais fermentais, kurie sukelia hemolizę ir ląstelių nekrozę [53]. *S. aureus* gaminamas glikoproteinas apsaugo bakterijas nuo aplinkos veiksnių (šeimininko imuninių ląstelių, antimikrobinų medžiagų) ir padeda bakterijoms lengviau prisitvirtinti prie kraujagyslės protezo [53].

Gramneigiami ligos sukėlėjai – *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Enterobacter* – dažniau kolonizuoja sunkiai gyjančią operacinę žaizdą ir dėl to yra išauginami iš pasėlio, tačiau KPI nesukelia [2]. Tačiau jeigu jie iš tikrųjų yra infekcinio proceso priežastis, dėl savo rūšiai būdingo virulentiškumo sunkiai pasiduoda gydymui ir pablogina išėitis. Iš gramneigiamų sukėlėjų dažniausiai nustatomi *P. aeruginosa* [40] ir *E. coli* [7, 43, 44, 79, 80]. Žinoma, kad *P. aeruginosa* išskiria proteazes, kurios skaido arterijų sienelėse esančius kologeną, elastiną ir fibriną – tai pasireiškia audinių nekroze ir dažnu anastomozės srities kraujavimu [53]. Todėl protezus, kurie infekuoti *P. aeruginosa* ir meticilinui atspariu *S. aureus* (MASA), ypač sunku išsaugoti [83]. Neretai (14-30 proc. visų atvejų) KPI sukelia keli skirtingi mikroorganizmai [2, 6, 47, 83, 89]. Reti, tačiau literatūros šaltiniuose aprašomi KPI sukėlėjai – *Candida albicans*, *Aspergillus sp.* [85, 86] bei mikoplazmos [87].

Dažniausias aortos protezų infekcijos sukėlėjas yra *S. epidermidis*. Dėl mažo virulentiškumo ši bakterija dažnai pasiduoda konservatyviam gydymui [88]. Kitos bakterijos – *Salmonella*, *P. aeruginosa*, *E. coli* – agresyvesnės ir dažniau sukelia anastomozės srities kraujavimus, todėl jų sukeltas KPI gydyti konservatyviai pavojinga [26].

Ant kraujagyslės protezų, kaip ir ant bet kokių kitų implantų organizme, bakterijos ypač linkusios formuoti bioplėveles. Visos su bioplėvelėmis susijusios infekcijos sunkiau pasiduoda gydymui antibiotikais [89]. Tai lemia keletas veiksnių. Vienas iš jų – į bioplėvelių sudėtį įeinančios lėtai augančios bakterijos. Spėjama, kad jų medžiagų apykaita yra žymiai lėtesnė, todėl jos mažiau jautrios bakteriostatiniu principu veikiančioms antibiotikams, kurių taikymas – metaboliškai aktyvios bakterijos [90, 91]. Bioplėvelėse gyvuojančios bakterijos pailgina kovojimo su infekcija trukmę ir tampa recidyvuojančio infekcinio proceso priežastimi [90].

1.5 KPI klinikinis pasireiškimas ir diagnostikos būdai

KPI diagnostika remiasi klinikiniais ligonio simptomais, ligos anamneze, ligonio apžiūra, laboratoriniais ir mikrobiologiniais tyrimais, vaizdinių tyrimų duomenimis bei operaciniais radiniais [2, 6, 33, 92].

Kliniškai KPI pasireiškia labai skirtingai. Simptomatika priklauso nuo implantuoto protezo lokalizacijos, laiko, praėjusio po implantavimo operacijos, ir infekcijos sukėlėjo virulentiškumo. Ligonio skundai gali svyruoti nuo vos juntamo diskomforto operacinio pjūvio srityje iki febrilaus karščiavimo su šaltkrėčiu, sunkios septinės būklės ir gausaus arterinio kraujavimo.

Infekcijos simptomatikai turi reikšmės implanto lokalizacija. Periferiškai bei ekstraanomiškai implantuoto šunto infekcijos simptomatika skiriasi nuo krūtinės ar pilvo ertmėje implantuoto protezo infekcijos. Periferinių ir ekstraanominių šuntų infekcijos atvejais dažnai parausta oda, patinsta operacinio pjūvio vieta, atsiveria pūlingos odos-poodžio fistulės. Esant aortos protezo infekcijai simptomatika labai priklauso, kiek laiko praėję po protezo implantavimo [2]. Jei susergama ankstyvuju pooperaciniu laikotarpiu, simptomatika dažnai ūmesnė: pastebimas karščiavimas, kraujo tyrimuose registruojama leukocitozė, padidėję C-reaktyvinio baltymo (CRB) kiekiai [2, 19]. Galimas pilvo skausmas, žarnų nepraeinamumo simptomatika, kraujavimas iš anastomozės srities [2].

Aortos KPI, pasireiškusios daugiau kaip keturi mėnesiai po operacijos, simptomatika ne tokia specifinė: ligonis dažniausiai nekarščiuoja, gali skūstis neintensyviu kraujavimu iš virškinamojo trakto (vėmimu krauju, melena, hematochezija). Vaizdiniais tyrimais dažnai stebima susiformavusi anastomozės srities pseudoaneurizma [17, 93]. Infekcijų, pasireiškusių vėlyvuju pooperaciniu laikotarpiu, sisteminė simptomatika reta, nebent būtų prasidėjusi dėl sisteminės bakteriemijos kitų infekcinių ligų atveju [94].

Nepaisant protezo lokalizacijos, turbūt pavojingiausia infekcijos komplikacija yra kraujavimas iš anastomozės srities, kuris gali įvykti bakterijų toksinams pažeidus arterijos sienelę. Aortos protezo infekcijos atveju pasitaiko protezo-enterinės fistulės, kuomet gausus kraujavimas vyksta tiesiai į virškinamąjį traktą. Stiprus arterinis kraujavimas galimas bet kokiose lokalizacijose. Tuomet svarbi greita orientacija ir skubus operacinis gydymas.

Ligonis gali nekarščiuoti visai, karščiuoti subfebriliai arba febriliai su šaltkrėčiu. Febrilus karščiavimas dažniausiai susijęs su bakterijų išsisėjimu į kraują – septine būkle, kai KPI ima kelti grėsmę gyvybei. Legout ir bendr. [6] ištyrus 99 pacientus paaiškėjo, kad karščiavo 77 proc. pacientų, susirgę ankstyvuju, ir 53 proc. pacientų, susirgę vėlyvuju pooperaciniu laikotarpiu.

Atliekant ligonio apžiūrą svarbu įvertinti operacinių žaizdų išvaizdą: ūmių KPI atvejais dažniausiai žaizda bus nesugijusi – nesulipę odos kraštai, prasi-vėrusi odos-poodžio fistulė, atsiradęs paraudimas, patinimas aplink pjūvio vietą. Gali skirtis pūlingas, serohemoraginis arba hemoraginis sekretas. Jei sunkiasi kraujas, svarbu skubiai įvertinti, ar tai nėra gyvybei pavojingas anastomozės srities kraujavimas. Vėlyvuju pooperaciniu periodu pasireiškusios KPI atveju ligonio apžiūra gali būti mažai informatyvi. Įtariant KPI tiek ankstyvuju, tiek vėlyvuju pooperaciniu laikotarpiu svarbu įvertinti, ar protezu suformuotas šuntas / intarpas funkcionuoja – tai gali palengvinti gydymo taktikos pasirinkimą.

Laboratorinių tyrimų duomenims būdingas padidėjęs leukocitų ir CRB kiekis kraujyje. Bandyk ir bendr. nurodo, kad kraujo pasėlis būna teigiamas <5 proc. ligonių ir tai yra toli pažengusios KPI ženklas [50]. Tuo tarpu kiti autoriai pateikia daug aukštesnius procentus – išauginama ~35 proc. teigiamų kraujo pasėlių. Bakteriemijs dažnesnė tiems ligoniams, kurie KPI susergera ankstyvuojų pooperaciniu laikotarpiu, ir tiems, kuriems supūliuoja į aortą implantuoti protezai [6, 41].

Santykinai reti teigiami kraujo pasėliai yra susiję su bakterijų lokalizavimu ant paties kraujagyslės protezo ir bakterinių bioplėvelių susiformavimu, nes dėl likusio nedidelio planktoninių bakterijų kiekio jos neišsisėja į kraują [6, 33].

Svarbu nustatyti infekciją sukėlusį mikroorganizmą. Nors diagnozuojant KPI tai nėra pagrindinis diagnostinis rodiklis, tačiau jis labai gelbsti renkantis gydymo taktiką. Bakteriologinį pasėlį galima paimti iš nesugijusios pooperacinės žaizdos, atsivėrusios odos-poodžio fistulės, aspiruojant protezą supantį skystį echoskopijos metu arba per operaciją apžiūrint infekuotą protezą bei aplinkinius audinius. Operacijos metu pasėlis gali būti imamas braukiant šepetėliu per žaizdos dugną, tačiau tikslesni pasėlių rezultatai gaunami paėmus paties protezo fragmentą arba infekuotų audinių mėginį. Nepaisant pastangų, dažnai daugiau nei pusei visų KPI atvejų sukėlėjo išauginti nepavyksta. Viena iš priežasčių – bakterijos ant kraujagyslės protezo linkusios suformuoti bioplėveles ir planktoninių bakterijų žaizdoje lieka minimaliai, todėl jos į pasėlį nepatenka. Antra priežastis – neretai plataus spektro empirinė antibiotikų terapija ligoniui pradedama skirti dar iki pasėlio paėmimo. Dėl dažnai pasitaikančių neigiamų pasėlio rezultatų, komplikuojančių antimikrobinio gydymo pasirinkimą, rekomenduojama susilaikyti nuo empirinės antibiotikų terapijos iki pasėlio paėmimo, jei tik leidžia paciento būklė [33].

Esant nesugijusiai pooperacinei žaizdai ar atsivėrusiai fistulei, mikrobiologinį pasėlį iš žaizdos paimti patogų. Pavykus nustatyti infekcijos sukėlėją ir taikant tikslią sistemine antibiotikų terapiją ligos išėitys gerėja. Tačiau pasėlio paėmimas iš paviršinės žaizdos neretai suklydina – išaugę liginėse paplitę mikroorganizmai gali būti tiesiog kolonizavę žaizdos paviršių, o ne sukelti KPI. Būtina kritiškai įvertinti kitus KPI pasireiškimo simptomus ir diagnostinius radinius. Žaizdos kolonizacijos gydymas didelėmis sisteminių antibiotikų dozėmis skatina atsparių sukėlėjų atsiradimą [2]. Todėl rekomenduojama vengti pasėlio ėmimo nuo žaizdos paviršiaus dėl galimų klaidingai teigiamų rezultatų [45]. Norint išauginti tikrą KPI sukėlėją, esant galimybei rekomenduojama paimti pasėlį iš protezą supančio skysčio punkcijos būdu [2]. Net aortos protezo infekcijos atveju rekomenduojama bandyti aspiruoti

aplink protezą esantį skystį kontroliuojant rentgenu, taip minimalizuojant pasėlio paėmimo invazyvumą, o iki to laiko susilaikyti nuo empirinio antibiotikų skyrimo. Tačiau taip pat yra duomenų, kad dažnai protezą supančiame skystyje randama leukocitų, o paties sukėlėjo neaptinkama [95]. Tai siejama su bakterijų polinkiu suformuoti bioplėveles ant protezo paviršiaus. Nesant planktoninių bakterijų, punkcijos būdu aspiruotas skystis gali būti sterilus. Tokiu atveju mikrobiologinį pasėlį rekomenduojama auginti iš operacijos metu paimto protezo aplinkos audinio gabalėlio arba paties protezo fragmento.

Ajdler-Schaeffler ir bendr. [33] aprašo tyrimą, kurio metu KPI sukėlėjų nustatymui pasitelkti mikrobiologiniai ir molekuliniai tyrimai. Operacijos metu ligoniams paimti su infekuotu protezu kontaktavę audinių gabalėliai. Jie pamerkti į 0,9 proc. natrio chlorido tirpalą, homogenizuoti ir išsėti į mikrobiologines terpes. Sukėlėjų identifikacijai taip pat panaudota 16S rRNR geno polimerazės grandininė reakcija (PGR). Kadangi pasėlio paėmimo metu dauguma pacientų jau vartojo antibiotikus, net 78 proc. visų mikrobiologinių pasėlių buvo neigiami. Trečdaliui tokių atvejų PGR išaiškino infekcijos sukėlėją.

Molekuliniai KPI sukėlėjų išaiškinimo metodai rekomenduojami ir kituose literatūros šaltiniuose, tačiau šie metodai yra brangūs ir prieinami ne visuose kraujagyslių chirurgijos centruose [2, 96]. Vienas iš pagrindinių molekulinų tyrimų trūkumų – kol kas neįmanoma atskirti, ar tiriami RNR genai yra išskirti iš gyvų, ar negyvų mikroorganizmų [33].

Tų pačių tyrėjų grupė aprašo anksčiau tyrusi NSŽT kempinėse susikaupusius mikroorganizmus. Lygindami gautus rezultatus su pasėliais, paimtais iš gilesnių audinių, mokslininkai pripažino, kad panaudotų NSŽT kempinių tyrinėjimas nepasiteisino [33, 97, 98].

Diagnozuojant KPI vaizdiniai tyrimai yra vieni iš patikimiausių. Pigiausias, lengviausiai prieinamas ir gana informatyvus yra echoskopinis tyrimas. Jo metu įvertinamas protezu suformuoto šunto ar intarpo funkcionavimas, apžiūros anastomozų sritys dėl galimo pseudoaneurizmų susiformavimo ar anastomozų sritys kraujavimo [45]. Protezą supantis skystis – vienas iš pagrindinių vaizdinių KPI požymių. Punktuojant echoskopijos metu skystis gali būti aspiruojamas ir iš jo paimamas mikrobiologinis pasėlis sukėlėjui išauginti.

Sergant KPI, echoskopiškai, kompiuterinės tomografijos (KT) ir magnetinio rezonanso tomografijos (MRT) radiniams būdingas skystis ir oro intarpai aplink protezą [44]. Remiantis FitzGerald ir bendr. [2] rekomendacija, visiems pacientams, kuriems vaizdiniais tyrimais matoma oro burbuliukų ir skysčio

sankaupa aplink protezą, turi būti įtariama KPI. Dar vienas labai svarbus diagnostinis radinys – matomas protezo neįaugimas į aplinkinius audinius, ypač jei jis implantuotas prieš daugiau nei keletą mėnesių [44].

Diagnozuojant KPI dėl aukšto jautrumo ir specifiškumo, KT ir MRT tyrimai turėtų būti renkamiesi pirmiausia [3, 35, 99]. Tačiau ir šie tyrimai gali suklaidinti, jei infekcija įtariama artimuoju pooperaciniu laikotarpiu – atliekant KT, MRT ar radionuklidinį tyrimą nedidelis kiekis skysčio (iki trijų mėnesių po operacijos) ir oro (iki septynių dienų po operacijos) yra normalus radinys [3, 19, 35, 94, 100, 103]. KT pasižymi 94 proc. jautrumu ir 85 proc. specifiškumu, yra daugelyje gydymo centrų prieinamas ir greitai atliekamas tyrimas. Orton ir bendr. teigimu, tai geriausias tyrimas diagnozuoti KPI [99]. Panašiu specifiškumu ir jautrumu pasižymi pozitronų emisijos tomografija, tačiau ji brangi ir ne visur prieinama [45]. Modral ir Clagett [101] nurodo MRT pranašumą prieš KT, nes MRT geba atskirti hematoma nuo uždegiminio infiltrato aplink protezą.

Ne visuose kraujagyslių chirurgijos centruose prieinama, tačiau pasižyminti iki 100 proc. jautrumu vėlyvų KPI diagnostikoje yra technecio-99m-heksametazimu žymėtų leukocitų scintigrafija. Jos metu ligoniui suleidus radioaktyvaus izotopo vizualizuojamas KPI būdingas iki protezo nusitęsiantis drenuojantis sinusas [100, 101].

Efektyvus diagnostinis testas identifikuoti KPI lokalizaciją ir išplitimą bei kitų infekcinių procesų vietą yra indžiu¹¹¹ žymėtų leukocitų skenavimas [102].

Operuojant pacientą dėl KPI dažnai randama, kad protezas neįaugęs į aplinkinius audinius, aplink jį susikaupęs skystis, aplinkiniai audiniai pažliugę ir infekuoti, susiformavusios pseudoaneurizmos. Bakterijų toksinai gali būti pažeidę arteriją anastomozės su protezu srityje, todėl galimas gausus arterinis kraujavimas. KPI sukėlėjui esant mažo virulentiškumo net operaciniai radiniai (pseudoaneurizma, krešuliai) gali iš pirmo žvilgsnio būti apgaulingi ir atrodyti sterilūs, tačiau iš paimtų mėginių dažnai išauginamas ligos sukėlėjas [94].

1.6 KPI gydymo būdai

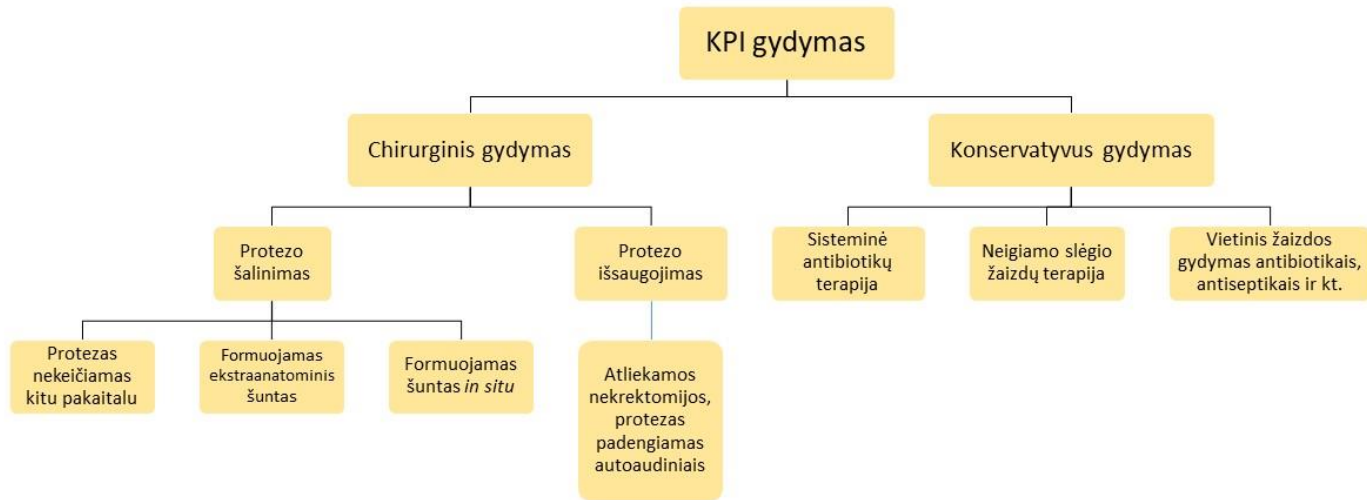
Visuotinai patvirtintų gairių KPI gydymui nėra [90]. Visos gydymo rekomendacijos kol kas paremtos mažų imčių tyrimų rezultatais bei gydytojų ekspertų nuomone [7, 11].

Bendrai visus KPI gydymo būdus galima suskirstyti į chirurginius ir konservatyvius (1 pav.). Chirurginis KPI gydymas gali būti radikalus, kai supūliavęs protezas šalinamas, ir neradikalus, kai protezą bandoma išsaugoti.

Nusprendus protezą pašalinti, nauju kraujagyslės pakaitalu gali būti suformuojamas ekstraanatominis šuntas, apeinant infekuotą vietą, arba *in situ* šuntas, atkuriant kraujotaką buvusio protezo vietoje. Kai kuriais atvejais, pvz., išnaudojus visas technines galimybes atlikti pakartotinę periferinių kraujagyslių rekonstrukciją, kraujotaka nebeatkuriama. Neretai tai baigiasi galūnės amputacija. Nusprendus bandyti išsaugoti infekuotą protezą, dažnai atliekamos supūliavusių aplinkinių audinių nekrectomijos, o pats protezas apsukamas autoaudiniais, pvz., raumens lopu arba taukine.

Konservatyvų KPI gydymą galima suskirstyti į sisteminę antibiotikų terapiją, NSŽT ir vietinį žaizdos gydymą antibiotikų, antiseptikų tirpalais ar kitomis antimikrobiškai veikiančiomis medžiagomis [5, 103, 104]. Sisteminė antibiotikų terapija yra taikoma visais KPI atvejais. Kadangi KPI gydymui pasiduoda nelengvai, beveik visada kombinuojami keli gydymo būdai.

KPI gydymo būdų klasifikacija



1 pav. Kraujagyslės protezo infekcijos gydymo būdų klasifikacija

1.6.1 Chirurginis KPI gydymas, šalinant infekuotą protezą

„Auksiniu standartu“ gydant KPI laikomas infekuoto kraujagyslės protezo ir jį supusių audinių pašalinimas, sisteminė antibiotikų terapija pagal antibiotogramos rezultatus ir ekstraanatominio arba *in situ* šunto suformavimas [8, 19, 33, 34, 90, 106, 109].

Ilgą laiką gydant KPI infekuoti sintetiniai protezai buvo keičiami kitais sintetiniais protezais, implantuotais ekstraanomiškai. Nors teoriškai ekstraanatominiai šuntai turi mažesnę reinfekcijos riziką nei atlikti *in situ*, reinfekcijos dažnis siekia 10-20 proc. [55, 107, 108]. Gydant pilvo aortos protezo infekciją siuvamas aksilo-bifemoralinis šuntas. Pašalinus aortos protezą ir perrišus pačią aortą gresia gyvybei pavojingas aortos bigės plyšimas, literatūros šaltiniuose minimas iki 20 proc. atvejų [55, 107]. Nuvilia ir aksilo-bifemoralinių šuntų funkcionavimo trukmė [109]. Po tokių operacijų iki 20-29 proc. ligonių tenka amputuoti galūnes, iki 20 proc. įvyksta protezų reinfekcija [55, 107].

Alternatyvus variantas pašalinus infekuotą protezą yra naujo kraujagyslės pakaitalo implantavimas *in situ*. Dėl trumpo ekstraanominių šuntų funkcionavimo laiko ir didelio pakartotinės infekcijos dažnio vis dažniau atliekamos būtent tokios revaskuliarizacijos [14, 112, 115, 116]. Tačiau naują sintetinį protezą implantavus senojo protezo vietoje taip pat išlieka didelė reinfekcijos rizika [113]. Todėl pradėti gaminti infekcijai atsparesni protezai, impregnuoti sidabru bei antibiotikais (pvz., rifampicinu). Mokslinėje literatūroje publikuotas *in vitro* sąlygomis atliktas tyrimas, nagrinėjantis rifampicinu dengtų dakrono protezų atsparumą infekcijai. Patvirtinta, kad lėtai išskiriamas antimikrobinis vaistas dvi savaites apsaugo nuo *S. aureus* ir *S. epidermidis* infekcijos [114]. Geri rezultatai aprašyti mažoms pacientų imtims *in situ* panaudojant rifampicinu dengtus protezus ligoniams su KPI [115]. *In situ* revaskuliarizacija, panaudojant sidabru impregnuotą protezą, rekomenduojama esant mažo virulentiškumo infekcijos sukėlėjui [111]. Tyrimuose su žiurkėmis išbandyti, tačiau kasdienėje kraujagyslių chirurgijos praktikoje galutinai neįsitvirtinę protezai, dengti vankomicinu, teikoplaninu, 40 proc. fuzidine rūgštimi, polikatijoniniais peptidais ir kvinupristinu-dalfopristinu [116, 117].

Infekcijai atsparesni antimikrobiškai veikiančiomis medžiagomis impregnuoti dakrono protezai tinka norint rekonstruoti stambesnio diametro arterijas, tačiau periferinių arterijų operacijų atvejais, ypač žemiau kelio sąnario, jų funkcionavimo trukmė nusileidžia biologiniams pakaitalams [81, 118, 119].

Gydant KPI vis dažniau siekiama panaudoti kraujagyslės pakaitalą, kuris būtų mažiau imlus infekcijai [109]. Nemažai šaltinių teigia, kad biologiniai ir biosintetiniai kraujagyslės pakaitalai yra labiau atsparūs infekcijai nei sintetiniai [118, 120-122]. Biologinių pakaitalų variantų yra keletas: autologinės poodinės ir giliosios venos, švieži bei šaldyti poodinių ir giliųjų venų bei arterijų alotransplantatai, iš perikardo gaminami kraujagyslių pakaitalai [120]. Žemiau kirkšnies raiščio esančių arterijų rekonstrukcijų atvejais, pašalinus sintetinį infekuotą protezą, pirmo pasirinkimo gydymo būdas yra jį pakeisti autologiniu pakaitalu [42, 123].

Geriausias biologinis kraujagyslės pakaitalas vienareikšmiškai yra paciento poodinė vena [81, 124, 125]. Tačiau ne visos poodinės kojų venos tinkamos rekonstrukcijai. Jei ligonis prieš tai yra turėjęs rekonstrukcinių arterijų operacijų, praityje atlikta flebektomija, vena per siaura, suskylanti į šakas ar varikozinė, jos panaudoti neįmanoma. Aprašyta, kad netinkamos venos pasitaiko iki 30 proc. atvejų [125]. Su ta pačia problema susiduriama ir kai reikia rekonstruoti arterijas, kurių diametras gerokai didesnis už poodinių kojų venų, pvz., aortą ar klubines arterijas.

Kitas, nors iki šiol nelabai populiarus variantas yra autologinės paviršinės šlaunies venos panaudojimas. Tokie šuntai funkcionuoja palyginti ilgai, o jų atsparumas infekcijoms panašus į poodinių venų. Biro ir bendr. [126] aprašo, kad ligoniams, kurių aortos ir klubinių arterijų infekuoti protezai pakeisti šaldytais alotransplantatais arba autologinėmis giliosiomis venomis, per trejus metus reinfekcijos dažnis neviršijo 8 proc., o išgyvenamumas svyravo tarp 71-79 proc. Daenens ir bendr. [127] aprašo sėkmingus dešimties metų rezultatus, kai gydant aorto-femoralinių protezų infekciją buvo naudojamos paviršinės šlaunies venos. Pašalinus supūliavusius protezus ir aplinkinius audinius, *in situ* rekonstrukcija atlikta 49 pacientams. Keturi ligoniai mirė ankstyvuojų pooperaciniu laikotarpiu. Kiti ligoniai buvo stebėti penkerius metus: 98 proc. pavyko išsaugoti galūnes, o šuntai funkcionavo 91 proc. pacientų.

Norint rekonstrukcijai panaudoti giliąsias kojų venas, žymiai pailgėja operacijos trukmė, nes jų paruošimas gana sudėtingas. Šis revaskuliarizacijos metodas nėra prigijęs kraujagyslių chirurgijos centruose, kur nėra galimybės chirurgams dirbti dviem brigadomis [127, 128]. Nepaisant to, naujos aortoiliakinės sistemos rekonstravimas iš paciento giliųjų venų vis labiau įsitvirtina aortos protezų infekcijos gydymo gairėse [55, 129], o Heinola ir bendr. [128] tvirtina, kad Suomijoje tai tapo pirmiausiai pasirenkamas aortos protezų infekcijos gydymo būdas.

Dėl skirtingo šalių medicinos lygio, finansinių išteklių bei teisinių priežasčių pasaulyje labai skiriasi kitų biologinių kraujagyslės pakaitalų prieinamumas.

Leseche ir bendr. [109] aprašo sėkmingą šaldytų arterinių alotransplantatų panaudojimą aortos KPI gydymui: aštuonerių metų periodu nei vienam pacientui iš 23, kuriems šalinti supūliavę aortos protezai, neprireikė amputacijų, nestebėta reinfekcijos, o trejų metų išgyvenamumas siekė 67 proc. Bendras su gydymu susijęs mirštamumas buvo 17 proc.

Šaldyti alotransplantatai jau daugiau kaip 20 metų naudojami kaip viena iš alternatyvų gydant KPI. Savo ilgių ir diametrų įvairove bei atsparumu infekcijai jie pranešesni už sintetinius pakaitalus [81, 130]. Pagrindinė problema – dėl organizacinių bei teisinių priežasčių jie prieinami tik mažai daliai kraujagyslių chirurgijos centrų, o kai kuriose šalyse nenaudojami apskritai. Bossi ir bendr. [81] aprašo, kad nesant galimybės panaudoti autologinę poodinę ligoonio veną, Circolo universitetinėje ligooninėje Italijoje šaldyti alotransplantatai dėl savo struktūrinių ir hemodinaminių savybių bei taupant giliųjų venų paėmimo laiką [131-133] yra pirmiausiai pasirinktina alternatyva. Vienas iš didžiausių alotransplantatų trūkumų yra dėl ligoonio imuninės sistemos poveikio bėgant laikui išsivystantis šuntų susiaurėjimas ar užakimas [134].

Šaldytų alotransplantatų pranašumas prieš sintetinius pakaitalus savo atsparumu infekcijai yra patvirtintas klinikinėmis studijomis. Jų atsparumas infekcijai susijęs su prisotinimu antibiotikų tirpalais ir pačios kraujagyslės struktūrinėmis savybėmis [135-137].

Mažiau paplitęs, tačiau Heinola ir bendr. [120] bei kitų autorių aprašomas sėkmingas KPI gydymas panaudojant iš ksenoperikardo pagamintus vamzdelius. Po tokio gydymo ilgalaikėje perspektyvoje nestebėta reinfekcijų ir su šuntu susijusio mirštamumo [120, 138-140].

Dar viena rūšis kraujagyslės pakaitalų – biosintetiniai protezai, pagaminti iš poliesterinio skeleto, padengto jaučio kolagenu. Jie laikomi santykinai atspariais infekcijai, nes kol kas aprašomi tik pavieniai jų infekcijų atvejai [123].

Ilgalaikiai duomenys rodo, kad *in situ* rekonstrukcijos panaudojant įvairius kraujagyslės pakaitalus ima pranokti aksilo-bifemoralinius šuntus savo veikimo trukme ir atsparumu infekcijai [55, 112]. O'Connor ir bendr. [141] paskelbtoje apžvalgoje *in situ* rekonstrukcijų rezultatai geresni nei ekstraanatominių šuntų reinfekcijos, šunto funkcionavimo, amputacijos ir mirštamumo aspektais.

1.6.2 Chirurginis KPI gydymas, išsaugant infekuotą protezą

Esant didelei operacinei rizikai, sunkios būklės pacientams ar esant mažo virulentiškumo KPI sukėlėjui, alternatyvus KPI gydymo būdas yra stengtis išsaugoti infekuotą protezą arba bent jo dalį [4, 142]. Operacijos metu dažniausiai pašalinami infekcijos apimti protezą supantys audiniai, žaizda išplauinama steriliu 0,9 proc. natrio chlorido, antibiotikų ar antiseptikų tirpalais, o pats protezas padengiamas autoaudiniais. Infekuoto konduito padengimas savais audiniais pagerina antibiotikų ir imuninių ląstelių patekimą į infekcijos vietą, paspartina žaizdos išskyrų absorbciją. Dažniausiai tam panaudojama taukinė ir *musculus sartorius* bei *musculus rectus femoris* [94, 143].

1.6.3 Konservatyvus KPI gydymas: antibiotikų terapija

Gydant KPI sisteminė antibiotikų terapija skiriama visuomet, tačiau viena ji dažniausiai nepakankamai veiksminga, todėl yra kombinuojama su kitais gydymo būdais. Empirinė antibiotikų terapija gydant KPI nerekomenduojama, nebent ligonis yra kritiškai sunkios būklės, nes empirinis antibiotikų vartojimas skatina atsparių bakterijų padermių atsiradimą [21]. Tikslinė sisteminė antibiotikų terapija skiriama pagal mikrobiologinio pasėlio rezultatus ir išauginto sukėlėjo jautrumą antimikrobiniais preparatais.

Nusprendus skirti empirinę antibiotikų terapiją, rekomenduojami plataus veikimo spektro antibiotikai, kurie veiktų tiek gramteigiamus, tiek gramneigiamus sukėlėjus. Pravartu kartu skirti antimikrobinę medžiagą, veikiančią į bakterijų bioplėvelę (pvz., rifampiciną) [40]. Nors visuotinai priimto sutarimo dėl empirinės KPI antibiotikų terapijos nėra, tačiau Britų antimikrobinės chemoterapijos draugija (The British Society for Antimicrobial Chemotherapy) KPI išsivysčius ankstyvuojų pooperaciniu laikotarpiu rekomenduoja skirti cefuroksimą ir metronidazolį su amoksicilinu arba be jo. Jeigu ligonis alergiškas penicilinui, siūloma skirti ciprofloksaciną ir klindamiciną [2, 5]. Kadangi iš mikrobiologinio pasėlio tikimasi išauginti stafilokoką arba gramneigiamą lazdele, taip pat galimi antibiotikai yra penicilazei-atsparus beta-laktamas arba glikopeptidas kartu su aminoglikozidu [6]. Empirinis gydymas karbapenemų grupės antibiotikais rekomenduojamas tik tuose centruose, kur paplitę plataus spektro beta-laktamazę gaminantys gramneigiami sukėlėjai [94]. Įtariant žarnyno mikrobiotą (kai infekcija apėmusi aortos protezą), verta pridėti metronidazolį. Jei KPI išsivystė vėlyvuojų pooperaciniu laikotarpiu, didelė tikimybė, kad infekciją sukėlė mažo virulentiškumo mikroorganizmas, todėl reikėtų susilaikyti nuo empirinės antibiotikų terapijos, kol nepaimtas pasėlis [2].

Pavykus nustatyti KPI sukėlėją, skiriama tikslinė antibiotikų terapija. KPI, kaip ir kitų implantų infekcijoms, būdingas bakterijų bioplėvelių susidarymas ant protezo paviršiaus, todėl efektyviausiai veikia tie antibiotikai, kurie geba prasiskverbti ir veikti į bioplėvelių sudėtį įeinančias bakterijas. Tačiau tuo pasižymi tik nedaugelis antimikrobinių medžiagų. Be to, aprašoma, kad bakterijoms bioplėvelėje pasiekus maksimalų kiekį, įprastinės antibiotikų koncentracijos tampa neefektyvios [144].

Literatūroje randama duomenų apie sėkmingą KPI gydymą rifampicinu ir daptomicinu [145, 146]. Vartojami kartu, jie pasižymi sinerginiu poveikiu, abu geba prasiskverbti pro bioplėvelių apvalkalą, veikia baktericidiškai [147-149]. Daptomiciną gerai toleruoja pacientai, sergantys inkstų nepakankamumu [145, 147-152]. Aprašyta, kad daptomicinas pasižymi greitu baktericidiniu veikimu net ir toms bakterijoms, kurių medžiagų apykaita yra sulėtėjusi, efektyviai naikina *S. aureus* ir geriau nei kiti antibiotikai, ypač vartojant kartu su rifampicinu, nuo kraujagyslės protezų pašalina bioplėveles [146, 151].

Rifampicino vartojimas gydant įvairių implantų infekciją taip pat plačiai aprašytas – jis efektyvus veikiant daugelį gramteigiamų bakterijų, o ypač – *S. aureus* [153-155]. Pagrindinis rifampicino trūkumas – greitai išsivystantis bakterijų atsparumas, ypač jei antibiotikas vartojamas vienas. Gydant KPI rekomenduojama rifampicino terapiją kombinuoti su kitais antibiotikais – daptomicinu, ciprofloksacinu – taip pasiekiamas geras gydomas efektas [156, 157]. Yra autorių, kurie teigia, kad net empiriniam gydymui galėtų būti skiriamas rifampicinas, nes jis sugeba prasiskversti pro bakterijų bioplėveles [5].

Erb ir bendr. [11] aprašo, kad gydant stafilokokų sukeltą KPI gerų rezultatų pasiekta rifampiciną kombinuojant su kitu antibiotiku, o KPI sukėlus gramneigiamiems mikrobams – ciprofloksacinu. Antimikrobinė terapija, paremta rifampicinu, buvo efektyvi ligoniams su aortos KPI [11].

Antibiotikų terapija gydant KPI retai sėkminga, jei kartu netaikomas kitas gydymo metodas. Aprašoma retrospektyvi studija, kur 44 ligoniai, sirgę KPI, gydyti vien sistemine antibiotikų terapija. Iš jų 46 proc. mirė per penkerius metus, o 9 proc. mirė artimuoju periodu [41].

Antibiotikų skyrimo trukmė nėra tiksliai apibrėžta ir įvairių autorių duomenimis siūloma nuo 11 dienų iki viso likusio gyvenimo (tais atvejais, kai protezo infekcija gydoma be chirurginės intervencijos) [2, 11, 159, 160]. Dažniausiai rekomenduojama skirti šešių savaičių intraveninių antibiotikų kursą ir po to – šešių mėnesių antibiotikų kursą *per os* [2]. Jei infekuotas protezas pakeistas autovena, antibiotikų terapija galėtų būti sutrumpinta iki trijų

savaičių. Jei protezas nebuvo pakeistas jokių kitu kodu, infekciją slopinančią antibiotikų terapiją siūloma tęsti doksiciklinu arba fluorochinolonu, priklausomai nuo infekcijos sukėlėjo [2, 95, 110]. Esant III laipsnio KPI infekcijai pagal Szilagyi'o klasifikaciją arba III-V laipsnio infekcijai pagal Samson'o klasifikaciją, gydymo antibiotikais trukmė priklauso nuo infekcijos išplitimo, kokių konduitu pakeistas supūliavęs protezas ir protezo lokalizacijos [5].

Dėl vis didėjančio bakterijų atsparumo antimikrobiniais preparatais infekcijų gydymas antibiotikais tampa visuotine problema. Dar 1999 m. paskelbta duomenų, kad nustatyta vankomicinui ir kitiems glikopeptidiniais antibiotikais rezistentiškų *S. aureus* ir koaguliazėi neigiamų stafilokoko padermių [160]. Tais pačiais metais kiti autoriai paskelbė, kad daugiau nei 90 proc. *S. aureus* padermių JAV laikomos atspariomis penicilinui ir kitiems beta-laktaminiais antibiotikais [161]. Problemai virstant globaline, 2017 m. Pasaulinė sveikatos organizacija paskelbė pasaulinį antimikrobinės medžiagos atsparių bakterijų sąrašą [162]. Iškilus naujų, atsparias bakterijas veikiančių antibiotikų poreikiui, gydytojai skatinami sumažinti nepagrįstą antibiotikų skyrimą ir esant galimybei vietoj jų naudoti kitus antimikrobinis preparatus.

1.6.4 Konservatyvus KPI gydymas: neigiamo slėgio žaizdų terapija

Siekiant sanuoti KPI pažeistus minkštuosius audinius bei išsaugoti protezą kartais taikoma NSŽT. Šis metodas dažnai kombinuojamas su protezo apvyniojimu raumeniu [163]. NSŽT taip pat gali būti panaudojama siekiant sanuoti paviršines arba gilesnes negyjančias žaizdas, dažnai kirkšnių srityse [12, 105].

1.6.5 Konservatyvus KPI gydymas: vietinis žaizdos gydymas antibiotikais, antiseptikais ar kitomis medžiagomis

Norint išsaugoti infekcijos apimtą kraujagyslės protezą, neretai infekcijos židinis drenuojamas pakartotinai arba nuolatos žaizdas plaunant įvairiais tirpalais. Labai dažnai šis gydymo metodas taikomas kartu su kitais gydymo metodais, pvz., NSŽT ar supūliavusio protezo padengimu autologiniais audiniais. Ishikawa ir bendr. [25] aprašo sėkmingą supūliavusio aortos lanko Triplex protezo gydymo atvejį nuolatinio plovimu kristalvioleto tirpalu. Pacientui KPI įvyko artimuoju pooperaciniu laikotarpiu. Identifikuotas virulentiškas sukėlėjas – MASA. Šalinti infekuotą protezą operaciniu būdu buvo labai rizikinga, todėl apsispręsta bandyti protezą išsaugoti. Operacinėje atliktas infekuotų audinių pašalinimas, žaizda išplauta kristalvioleto tirpalu, tada protezas apvyniotas taurine ir į infekcijos židinį sukišti drenai. Per juos

kristalvioleto tirpalu žaizda plauta aštuonias dienas. Gydytas buvo papildytas antibiotikų terapija: keturias savaites skirtas vankomicinas, po jų dar 35 dienas – linezolidas. Praėjus aštuoniems mėnesiams po pirmos operacijos atlikus kontrolinę KT nerasta jokių infekcijos požymių [25].

Mokslinėje literatūroje aprašytas teigiamas povidono-jodo, rifampicino ir kristalvioleto poveikis plaunant žaizdas su infekuotais dakrono protezais [25]. Povidono-jodas dažniau negu kristalvioletas dirgina audinius ir sukelia nekrozę, tačiau kristalvioletas juos dažo, o tai apsunkina mikrobiologinių pasėlių vertinimą [25]. Igari ir bendr. [164] taip pat aprašo gerus MASA užkrėstų protezų išsaugojimo rezultatus, taikant žaizdų plovimą. Operacinėje pašalinus infekuotus audinius ir praplovus žaizdas steriliu 0,9 proc. natrio chloridu toliau žaizdos plautos per drenus su 0,9 proc. natrio chlorido arba 0,02 proc. kristalvioleto tirpalu per dieną sunaudojant po 500 ml tirpalo. Toks gydymas taikytas ligoniams, kurių KPI atitiko III laipsnio infekciją pagal Samson'o klasifikaciją. Calligaro ir bendr. [165] aprašo 20 metų patirtį konservatyviai gydant KPI – protezas išsaugomas pakartotinai šalinant infekuotus audinius ir triskart per dieną keičiant povidono-jodo arba antibiotikų prisotintus tvarsčius, siekiant sterilizuoti žaizdos audinius ir skatinti audinių granuliaciją. Pasiteisinus konservatyviam gydymui, tas pats autorius praėjus devyneriems metams publikavo dar vieną straipsnį, kuriame aprašė konservatyvų devynių pacientų KPI gydymą pašalinant infekuotus audinius ir taikant perkutanišią arba retroperitoninę plovimą per drenus antibiotikų tirpalais tris kartus per dieną. Septyni iš devynių ligonių išgyveno hospitalizacijos metu [103]. Zetrenne ir bendr. [83] paskelbė duomenis, kad ligoniams, kurių KPI atitiko III laipsnį pagal Samson'o klasifikaciją konservatyvus gydymas buvo sėkmingas, o ligoniams, kurių KPI atitiko IV laipsnį pagal Samson'o klasifikaciją, konservatyvus gydymas baigėsi letaliai.

Gydant periferiškai implantuotų KPI, Stone ir bendr. [78] siūlo naudoti chlorpaktiną (hipochlorito rūgšties darinio) ir „rudąjį vulkaną“ (1:1:1 povidono-jodo:vandenilio peroksido:sterilaus 0,9 proc. natrio chlorido tirpalo) plaunant žaizdas ir šalinant infekuotus audinius. Tie patys autoriai taip pat aprašo antibiotikais impregnuotų polimetilmetakrilato karoliukų panaudojimą žaizdos infekcijos sanavimui: esant gramteigiamam ligos sukėlėjui, vartoti vankomicinu ir daptomicinu, o gramneigiamam ligos sukėlėjui – gentamicinu arba tobramicinu impregnuoti karoliukai [78].

Morris ir bendr. [104] aprašo sėkmingą aortos KPI gydymą chirurgiškai šalinant infekuotus audinius ir žaizdas plaunant antibiotikais tol, kol gaunami neigiami žaizdų pasėliai. Pasiektas 80 proc. vienerių metų išgyvenamumas. Quick ir bendr. [166] apžvelgė *E. coli* sukeltų ir nuolatine irigacija gydytų

aortos KPI rezultatus. Trys pacientai išgyveno mažiausiai dvejus metus, vienas mirė ketvirtą KPI mėnesį. Knight ir bendr. [167] aprašo nesėkmingą konservatyvaus aortos KPI gydymo atvejį: taikant infekuotų audinių pašalinimo procedūras ir nuolatinį žaizdos plovimą povidono-jodu 88 metų didelės rizikos grupės pacientas neišgyveno.

Thermann ir Wollert [27] aprašo, kaip savo centre Vokietijoje KPI gydyti taiko nuolatinį žaizdos plovimą techniką steriliu 0,9 proc. natrio chlorido tirpalu. Operacijos metu atlikus infekuotų audinių pašalinimą sukišami drenai. Per drenus plaunama tol, kol išsidenavęs skystis pasidaro skaidrus. Iš nuoplovų imami mikrobiologiniai pasėliai. Žaizdos drenuojamos tol, kol gaunami neigiami pasėlių rezultatai arba sukėlėjai randami labai mažomis koncentracijomis. Autoriai pateikia tokiu metodu gydytų pacientų rezultatus: atsižvelgiant į pasėlių rezultatus, plovimas tęstas 4-12 dienų, tuomet drenai pašalinti. Antibiotikų terapija tęsta tol, kol žaizdos galutinai užgijo. 56 proc. atvejų pavyko pasiekti visišką bakterijų eliminavimą, o protezas liko išsaugotas. Autorių teigimu, mikrobiologiniai pasėliai iš žaizdų nuoplovų – geras žaizdų būklės indikatorius.

Dar vienas retai taikomas, tačiau galimas konservatyvaus vietinės KPI gydymo būdas – fagų terapija. Fagai pasižymi gebėjimu prasiskverbti pro bakterijų bioplėveles bei naikinti bakterijas net ir sulėtėjus jų medžiagų apykaitai. Pagrindinis trūkumas – daugėja bakterijų padermių, neįautrių bakteriofagams [90, 168-172]. Chan ir bendr. [90] aprašo sėkmingą fagų terapijos atvejį gydant *P. aeruginosa* sukeltą krūtininės aortos dakrono protezo infekciją su pūlinga fistule tarpuplautyje. Dėl didelės operacinės rizikos pacientas ketverius metus su pablogėjimais gydytas antibiotikais ir negyvybingų audinių šalinimo procedūromis. Križiškai pablogėjus būklei, pacientui švirkštu suleista vienkartinė fagų OMKO1 aplikacija su ceftazidimu, po kurios buvo pasiekta infekcijos remisija.

Dėl konservatyvaus KPI gydymo yra įvairių nuomonių. Legout ir bendr. [45] aprašo prospektyvinę kohortinę studiją, kurioje dalyvavo 54 pacientai su KPI. Ištirta, kad nepaisant to, taikyta chirurginė intervencija ar ne, hospitalinis mirštamumas abiejose grupėse buvo 22,2 proc. Maze ir bendr. [173] aprašo 59 proc. mirštamumą per 40 mėnesių konservatyviai gydant aortos KPI. Viltis, kad endovaskulinių procedūrų įsitvirtinimas kraujagyslių chirurgijoje sumažins protezų infekcijos dažnį, nepasitvirtino. Atliktas retrospektyvinis kohortinis tyrimas, įtraukiant 13 000 ligonių, kur lygintas infekcijos dažnis gydant pilvo aortos aneurizmą atviru chirurginiu arba endovaskuliniu būdu – stentų infekcijos dažnis buvo tik nežymiai mažesnis nei protezų [8].

Sėkmingu KPI gydymo pagrindu išlieka žaizdos sanacija. Lawrence ir bendr. [26] teigimu, konservatyvus protezo infekcijos gydymas bus ilgalaikis tik tada, jei infekcija bus išnaikinta iš protezo aplinkos audinių.

1.7 Eksperimentiniai žaizdų modeliai

Eksperimentiniai *in vitro* bei gyvūnų modeliai nuolat kuriami norint įdiegti naujus įvairaus tipo žaizdų profilaktikos bei gydymo metodus. Dėl genetinio ir biologinio panašumo į žmones dažniausiai laboratorinių gyvūnų bandymuose naudojami graužikai. Daugelis autorių aprašo, kad graužikams sudėtinga sukurti sėkmingą chirurginės žaizdos modelį, kur susiformuotų pūlinga žaizda, opa ir išsilaikytų infekcinis procesas [24, 174, 177]. Jiems žaizdos lengvai sugyja savaime. Kartais uždegiminis procesas aktyvuoja graužikų imuninę sistemą, tuo dar labiau paspartindamas žaizdos gijimą [176]. Kadangi žinoma, jog net ir gilios odos žaizdos jiems linkusios sugyti pačios, gijimui pristabdyti dažnai į žaizdą dedamas svetimkūnis: sterilus smėlis [177], siūlai, dekstrano karoliukai, tačiau šie svetimkūniai nėra kliniškai reikšmingi [21]. Dar 1976 m. publikuotame straipsnyje aprašytas eksperimentas su pelėmis, kurioms chirurginės žaizdos nugaroje buvo užkrėstos *S. aureus* ir *P. aeruginosa* suspensijose išmirkytais siūlais [178]. Prieš keletą metų aprašytas metodiškai panašus žiurkių modelis, infekcijos sukėlimui panaudojant tirpstantį multifilamentinį siūlą (vikrilą), inokuliuotą 0,5 McFarland'o drums-tumo *E. coli* suspensijoje. Stebėtos pūlingos išskyros, lokalus patinimas [174]. Wijngaerden ir bendr. [179] aprašo eksperimentą su žiurkėmis, kurio metu gyvūnų nugarose atlikti odos pjūviai, išdalinus audinius į suformuotą ertmę implantuoti poodiniai kateteriai ir žaizdos užkrėstos nedidelėmis *S. epidermidis* dozėmis (tyrimas atliktas profilaktinių antibiotikų efektyvumui tirti). Žaizdos modeliui su bakterine bioplėvele sukurti Zhao ir bendr. [180] užaugino *P. aeruginosa* bioplėveles *in vitro* ir tik tada jas perkelė į biopsijos ėmimo prietaisu padarytas pelių žaizdas.

Žaizdos svetimkūniu pasirinkus kraujagyslės protezą gana nesunku sukurti gyvūninį KPI modelį. Mese ir bendr. [10] aprašo, kaip į poodines kišenes žiurkių nugarose implantavo 1 cm² PTFE lopinėlius, o žaizdas inokuliuavo MASA. Eksperimento tikslas buvo ištirti antibiotikų linezolido, teikoplanino ir vankomicino profilaktinį veikimą gydant KPI. Geriausi rezultatai pasiekti naudojant teikoplaniną. Atahan ir bendr. [181] aprašo analogišką eksperimentą, tik vietoj PTFE implantuoti dakrono lopinėliai – linezolidas ir teikoplaninas buvo veiksmingesni negu vankomicinas. Gao ir bendr. [19] aprašo eksperimentą, kai aštuonioms kiaulėms implantuoti ir *S. aureus* užkrėsti aortos protezai. Po

20 dienų inkubacijos atlikta laparoskopija, paimti pasėliai, atliktas infekuotų audinių pašalinimas ir protezai praskalauti rifampicino tirpalu. Po operacijos kiaulės sistemiskai gydytos rifampicinu ir ciprofloksacinu dvi savaites. Viena kiaulė nugaišo dėl klostridinės septicemijos. Baigus taikyti gydymą ir atlikus autopsiją, kitoms septynioms kiaulėms žaizdose nerasta makroskopinių infekcijos požymių, tačiau tik vienai kiaulei iš pasėlio nebeišaugo *S. aureus*. Kitame savo tyrime Gao ir bendr. [182] operavo 84 kiaules, kurioms pilvo aortos segmentas pakeistas sidabru arba kolagenu dengtu poliesterio protezu. Protezai užkrėsti standartizuota *S. aureus* ATCC 29213 doze, nustatyta apžvalgiųjų studijų metu. Visoms kiaulėms profilaktiškai skirta 1,5 g cefuroksimo. Po dviejų savaičių pašalinus ir ištyrus protezus visi buvo infekuoti.

Įvairių pūlingų žaizdų profilaktikai ir gydymui plačiai ištirti bei naudojami antiseptiniai tirpalai eksperimentiniuose KPI modeliuose iki šiol netaikyti. Antiseptikų pasirinkimas žaizdų gydymui remiasi dviem pagrindinėmis preparato savybėmis: efektyviu antimikrobiniu veikimu bei mažu citotoksiškumu organizmo audiniams. Alexander Fleming'as [183] 1919 m. teigė, kad „antiseptikas efektyviai veiks septinę žaizdą tik tuo atveju, jei turės stimuliuojantį poveikį arba bent jau išsaugos natūralius organizmo apsaugos prieš infekciją būdus“. Jo nuomone, antiseptiko vertė labiau atsiskleidžia įsitikinus jo švelniu poveikiu audiniams nei stipriu baktericidiniu aktyvumu. Ištyrus skirtingų antiseptikų antimikrobinį poveikį ir citotoksiškumą žmogaus odos ląstelėms *in vitro*, nustatyta, kad Lavasept® ir Prontosan® pasižymėjo geriausiu antibakteriniu poveikiu ir mažu citotoksiškumu, o povidono-jodo turintys antiseptikai buvo citotoksiškesni ir prasčiau veikė antimikrobiškai [66]. Langer ir bendr. [184] tyrė antiseptikų poveikį odos mikrocirkuliacijai *in vivo* ir nustatė, kad mažiausią poveikį mikrocirkuliacijai turėjo oktenidinas. Dar vienu tyrimu įrodyta, kad oktenidinas ir poliheksanidas yra efektyviausi ir geriausiai toleruojami šių dienų antiseptikai, gebantys paveikti bakterijų bioplėveles [32].

Nepaisant didelės KPI gydymo metodų įvairovės, vienas iš konservatyvaus šios patologijos gydymo metodų – vietinis žaizdų plovimas antiseptiniais tirpalais – dar nėra išsamiai ištirtas. Apžvelgus publikacijas šia tema, pastebima, kad trūksta eksperimentinės patirties analizuojant galimą tokio gydymo metodo pritaikymą klinikinėje praktikoje.

1.8 Lietuvos moksliniai tyrimai, susiję su kraujagyslės protezų infekcijomis

Sintetiniai kraujagyslės protezai Lietuvoje pradėti naudoti maždaug prieš 60 metų. Jų įdiegimas į kasdienę chirurginę praktiką glaudžiai siejasi su širdies bei kraujagyslių chirurgijos raida mūsų šalyje. Pirmą arterijų

rekonstrukcinę operaciją, panaudojant savos gamybos kraujagyslės protezą, 1960 m. atliko prof. Alfonsas Dirsė. Kadangi galimybės gauti kraujagyslės protezų iš užsienio šalių buvo labai ribotos, jis įkalbino inžinierių Viktorą Kaplaną įsteigti atskirą cechą kraujagyslės protezams gaminti Kauno „Kaspino“ trikotažo fabrike. Iš pradžių gaminti kaproniniai, vėliau lavsano (dakrono) protezai. Juos daugiausia naudojo Lietuvos, Latvijos, Estijos ir Sankt Peterburgo chirurgai. Prof. Algimantui Marcinkevičiui Vilniuje subūrus jaunų chirurgų grupę, 1962-1963 m. Lietuvoje pagaminti kraujagyslės protezai imti taikyti kasdienėje praktikoje. Vadovaujant prof. A. Marcinkevičiui, įvairias rekonstrukcines arterijų operacijas atlikdavo prof. Vytautas Sirvydis, prof. Vytautas Triponis, prof. Giedrius Uždavinyš, prof. Daumantas Kavoliūnas. Tobulėjant širdies ir kraujagyslių chirurgijai kilo įvairių kraujagyslės protezo panaudojimo niuansų. Prof. V. Triponis, ėmęs tyrinėti protezų elgsenos žmogaus organizme dėsningumus, 1982 m. apgynė habilituoto daktaro disertaciją tema „Dirbtinių kraujagyslių funkcijos sutrikimai ir pakartotinės aortos ir klubinių arterijų rekonstrukcijos“. Susidūrus su kraujagyslės protezo infekcija, sunkumais ją gydyti ir liūdnomis pasekmėmis pasirodė mokslinių darbų, kuriuose aprašytos protezų supūliavimo priežastys, simptomatika bei gydymo rezultatai [185, 186], publikuota vėlyvuju pooperaciniu laikotarpiu pasireiškusių KPI gydymo rezultatų apžvalga [187], aprašyti bandymai protezus impregnuoti kolagenu [188] bei antibiotikais (prof. Jurgis Brėdikis, prof. Rimantas Putelis, prof. Aleksandras Antušėvas). Prof. A. Antušėvas 1999-2000 m. publikavo eksperimentinių darbų rezultatus. Šių eksperimentų metu sėkmingai pavyko impregnuoti ftorlono-lavsaninius (dakroninius) protezus kolageno-gentamicino kompleksu ir įrodyti, kad tai mažina KPI riziką artimuoju pooperaciniu laikotarpiu [189]. Ta pačia tematika prof. A. Antušėvas 2000 m. apgynė habilituoto daktaro disertaciją.

Kraujagyslės protezų infekcijos studijos Lietuvoje pastarąjį dešimtmetį buvo sustojusios ir šia tema mokslinių darbų neskelbta. Eksperimentiniai darbai, tyrinėjantys KPI gydymo būdus, atnaujinti 2012 m., kai imti modeliuoti šiame darbe aprašyti eksperimentai.

2. MEDŽIAGOS IR METODAI

In vitro eksperimentai, tyrinėjantys antiseptikų efektyvumą veikiant *S. aureus* bioplėveles, atlikti Vilniaus universiteto (VU) Medicinos fakulteto (MF) Biomedicinos mokslų instituto Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedros Mikrobiologijos skyriuje ir Lietuvos mokinių neformaliojo švietimo centro Jaunojo tyrėjo laboratorijoje 2017 m. gegužės – 2018 m. spalio mėn. Eksperimentams atrinktos trys gausiai bioplėveles formuojančios *S. aureus* padermės: 215N, A7189 (MASA) ir ATCC 25923. Bioplėvelėms susiformuoti ir antiseptikų veiksmingumui testuoti sukurtos skirtingos aplinkos sąlygos. Bioplėvelės veiktos 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalais. Kontrolinei grupei naudotas fosfatinio buferio tirpalas (FBT). Eksperimentų metu vertintas antiseptikų poveikis bioplėvelių struktūrai ir bakterijų gyvybingumui.

In vivo eksperimentai, tyrinėjantys antiseptikų veiksmingumą gydant infekuotas chirurgines žiurkių žaizdas su kraujagyslės protezais, vykdyti Valstybinio mokslinių tyrimų instituto Inovatyvios medicinos centro Imunologijos departamente, VU Gyvybės mokslų centre ir VU MF Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedros Mikrobiologijos skyriuje 2012 m. vasario mėn. – 2018 m. liepos mėn. Prieš pradėdant eksperimentą, visi dalyvavę tyrėjai išklausė vieno semestro trukmės Laboratorinių gyvūnų mokslo kursus ir gavo leidimus dirbti su laboratoriniais gyvūnais. 2012 m. sausio 4 d. ir 2016 m. balandžio 25 d. gauti Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos leidimai (Nr. 0222 ir G2-43) tyrimams atlikti.

Eksperimentui naudotos Wistar klonu abiejų lyčių žiurkės. Visoms žiurkėms po oda implantuoti austo poliesterinio kraujagyslės protezo lopinėliai. Žaizdos infekuotos bioplėvelę formuojančia *S. aureus* paderme. Tyrimo metu įvertintas konservatyvaus KPI gydymo būdo – žaizdų plovimo antiseptiniais tirpalais veiksmingumas. Tyrimui pasirinkti 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalai. Kontrolinei grupei naudotas sterilus 0,9 proc. natrio chlorido tirpalas.

Identifikuojant *S. aureus* kolonijas remtasi latekso agliutinacijos, plazma-koaguliazės testais, šviesine mikroskopija. Kontrolinė *S. aureus* paderme pasirinkta ATCC 29213.

2.1 *In vitro* eksperimentų metodika

2.1.1 Skirtingų *S. aureus* padermių bioplėvelių formavimo vertinimas

Siekiant *in vitro* eksperimentus atlikti su gausiai bioplėveles formuojančiomis *S. aureus* padermėmis, įvykdyta kokybinė ir kiekybinė klinikinių *S. aureus* padermių atranka.

1. Kokybinis bioplėveles formuojančių *S. aureus* padermių vertinimas

Kokybinė bioplėveles formuojančių *S. aureus* padermių atranka vykdyta remiantis Rewatkar, Wadher [20], Darwish ir Asfour [28] aprašyta metodika. Iš VU MF Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedros Mikrobiologijos skyriuje saugomų *S. aureus* padermių atsitiktine tvarka atrinktos dešimt kultūrų, išskirtų iš žmogaus klinikinių mėginių. Ankstesnių tyrimų metu nustatytas jų atsparumas antimikrobiniais vaistams (1 lentelė). Kultūroms atšviežinti, bakterijos kultivuotos triptozės sojos agare (TSA, Liofilchem®, Italija) 24 val. $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Po kultivavimo po vieną izoliuotą kiekvienos padermės bakterijų koloniją išsėta į Kongo raudonąjį agarą (smegenų-širdies sultinys 37 g/l, sacharozė 50 g/l, agaras 10 g/l, Kongo raudonasis dažas 8 g/l) ir inkubuota 24 val. $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. *S. aureus* padermės, kurios suformavo juodos spalvos kolonijas Kongo raudonajame agare, laikytos bioplėveles formuojančiomis padermėmis [20, 190]. Rezultatų patikimumui užtikrinti, kiekviena padermė testuota po tris kartus.

1 lentelė. *S. aureus* padermių charakteristika

<i>S. aureus</i> padermės numeris	Atsparumas antimikrobinėms medžiagoms	Klinikinė medžiaga, iš kurios išskirta pasirinkta padermė
215N	P, TE	Pasėlis iš nosies landų
A1152	CD, E, P	Pasėlis iš žaizdos
A4192	OX, FOX, K, E, NOR, P, CIP	Pūliai
A6132	P	Pasėlis iš žaizdos
A7189	OX, FOX, K, CD, E, P, TE	Skrepliai
I-1242	FR	Pasėlis iš opos
I-1717	OX, FOX, K, E, NOR, P, CIP	Pūliai
I-1867	OX, FOX, K, NOR, P, GN	Pasėlis iš žaizdos
I-1975	Jautrus visoms antimikrobinėms medžiagoms	Pasėlis iš žaizdos
ATCC 25923	Jautrus visoms antimikrobinėms medžiagoms	Etaloninė padermė
ATCC 29213*	Jautrus visoms antimikrobinėms medžiagoms	Etaloninė padermė

Antimikrobinė medžiagų santrumpas: P – penicilinas, TE – tetraciklinas, CD – klindamicinas, E – eritromicinas, OX – oksacilinas, FOX – cefoksitinas, K – kanamicinas, NOR – norfloksacinai, CIP – ciprofloksacinai, FR – fuzidino rūgštis, GN – gentamicinas.

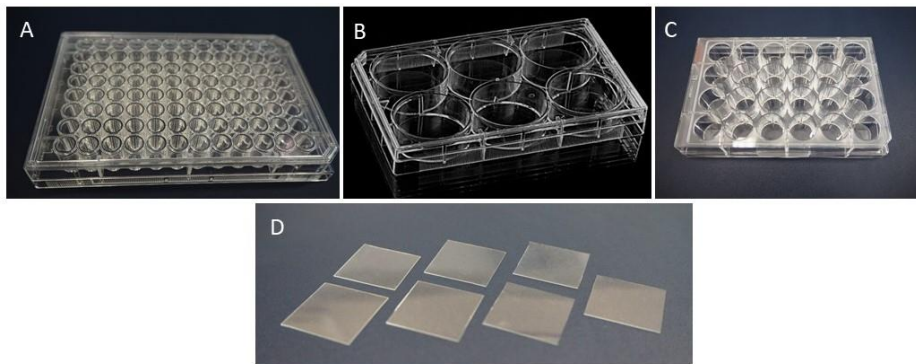
*padermė naudota tik *S. aureus* identifikacijai

2. Kiekybinis bioplėvelės formuojančių *S. aureus* padermių vertinimas

Taikant kolorimetrinį metodą, *S. aureus* bioplėvelių susiformavimas vertintas mikroplokštelių skaitytuvu – spektrofotometru (Dynex MRX) [191]. Tirtos tos pačios dešimt *S. aureus* padermių, kurios naudotos kokybiniam bioplėvelių susiformavimo vertinimui. Skirtingų *S. aureus* padermių kultūros atšviežintos TSA 24 val. 35°C ± 2°C temperatūroje. Tada paimta po vieną bakterijų koloniją, perkelta į mėgintuvėlius su triptozės sojos sultiniu (TSS, Liofilchem®, Italija) ir 24 val. kultivuota 35°C ± 2°C temperatūroje naudojant kratyklę, nustatytą 180 aps./min greičiu. Po inkubavimo bakterijų suspensijos mėgintuvėliuose praskiestos TSS (santykiu 1:2) ir toliau kultivuotos, kol optinis tankis (OT) OT_{595 nm} pasiekė 0,5. Po 100 µL kiekvienos bakterijų suspensijos perkelta į 96 šulinėlių mikroplokšteles (Thermo Scientific™, Nunc™) (2 pav. A) ir kultivuota 35°C ± 2°C temperatūroje 24 val. Po inkubavimo bakterijų augimo terpė pašalinta iš šulinėlių ir jie triskart perplauti, kaskart panaudojant po 100 µl FBT. Bioplėvelės, prisitvirtinusios šulinėlių

dugne, fiksuotos 10 proc. formaldehido tirpalu (pH 7,4) 1 val. Užfiksavus formaldehidą išpiltas ir plokštelė palikta išdžiūti. Bioplėvelės nudažytos vandeniniais 0,1 proc. kristalvioleto dažais po 300 µl tirpalo įpilant į kiekvieną šulinėlį ir palaikant 15 minučių. Plokštelė vėl praskalauta FBT ir palikta išdžiūti. Galiausiai į šulinėlius supilstyta po 300 µl 30 proc. acto rūgšties, siekiant ekstrahuoti bioplėvelėse susikaupusį kristalvioletą. Praėjus 30 minučių, po 200 µL ekstraktų perkelta į naują 96 šulinėlių plokštelę. Gautas ekstrakcijos tirpalų OT išmatuotas 595 nm bangos ilgyje naudojant mikroplokštelių skaitytuvą – spektrofotometrą. Neigiamai kontrolei buvo panaudoti šulinėliai, į kuriuos įpilta TSS be bakterijų. Rezultatų patikimumui užtikrinti, kiekviena padermė testuota 12 kartų (viena šulinėlių eilutė 96 šulinėlių plokštelėje). Kiekvienos padermės suformuotos bioplėvelės gausumui vertinti naudota vidurkinė OT vertė.

Remiantis aprašyta kokybine ir kiekybine bioplėvelės formuojančių padermių atranka, tolimesniems tyrimams buvo pasirinktos trys gausiausiai bioplėvelės formavusios *S. aureus* padermės: 215N, A7189 ir ATCC 25923.



2 pav. A – 96 šulinėlių mikroplokštelė; B – šešių šulinėlių plokštelė; C – 24 šulinėlių plokštelė; D – dengiamieji stikliukai.

2.1.2 Mikroskopinis *S. aureus* bioplėvelių integralumo vertinimas

I UŽDAVINYS: palyginti 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalų poveikį ardant skirtingų *S. aureus* padermių suformuotų bioplėvelių struktūrą *in vitro*

Tyrimė naudotos 215N, A7189 ir ATCC 25923 *S. aureus* padermės. Skirtingų *S. aureus* padermių kultūros atšviežintos TSA 24 val. 35°C ± 2°C temperatūroje. Vienkartinėmis kilpelėmis po 10 µl kiekvienos kultūros perkelta į

atskirus mėgintuvėlius su 3 ml TSS ir kultivuota 24 val. $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Po kultivavimo po 100 μL *S. aureus* kultūrų perkelta į sterilias 90 mm diametro Petri lėkšteles. Spektrofotometru nustatyta, kad 215N padermės inokulianto koncentracija siekė $1,49 \times 10^6$ KfV/ml, A7189 – $7,63 \times 10^7$ KfV/ml, ATCC 25923 – $6,91 \times 10^7$ KfV/ml.

Prieš įnešant bakterijų kultūrą, į kiekvieną Petri lėkštelę įpilta po 10 ml TSS su 1 proc. B tipo želatinos (Sigma) ir įdėta po šešis sterilius 22 x 22 mm boro silikato dengiamuosius stikliukus (2 pav. D). Kiekvienai bakterijų padermei skirta po keturias Petri lėkšteles (iš viso – 12 lėkščių).

Mitybinėse terpėse su bakterijų kultūromis dengiamieji stikliukai inkubuoti 48 val. $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje įprastinėmis sąlygomis. Po inkubacijos terpės iš Petri lėkščių pašalintos automatine pipete. Planktoninių bakterijų eliminavimui dengiamieji stikliukai Petri lėkštelėse triskart švelniai nuplauti 10 ml sterilaus FBT (pH 7,2). Nuplovus planktonines bakterijas ir terpės likučius, dengiamieji stikliukai su ant jų susiformavusiomis bioplėvelėmis po vieną atsargiai perkelti į šešių šulinėlių plokšteles (Thermo Scientific™, Nunc™) (2 pav. B). Vienai padermei skirtos keturios šešių šulinėlių plokštelės (kiekvienam antiseptikui po vieną plokštelę, šešis stikliukus). Ant kiekvieno stikliuko atitinkamai užpilta po 1,5 ml iki $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūros pašildyto 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido (Octenisept®, Schülke&Mayr GmbH, Germany), 10 proc. povidono-jodo (Betadine®, EGIS Pharmaceuticals LTD, Hungary), 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalo (Fresenius Kabi AG, Germany) arba FBT (kontrolinei grupei). Po 10 minučių ekspozicijos antiseptikai aspiruoti iš šulinėlių, o dengiamieji stikliukai tris kartus nuplauti, kaskart panaudojant po 5 ml sterilaus, pašildyto FBT. Ant nuplautų stikliukų užpilta po 3 ml šviežio TSS, papildyto 1 proc. B tipo želatina. Taip Petri lėkštelės inkubuotos dar 24 val. $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Po inkubacijos visi dengiamieji stikliukai švelniai nuplauti FBT ir fiksuoti 5 ml 10 proc. formaldehidu 1 val. (pH 7,4). Po antiseptikų veikimo ant stikliukų išlikusi *S. aureus* bioplėvelių struktūra vizualizuota nudažant juos 0,5 proc. kristalvioleto dažais. Preparatų kokybė ir informatyvumas įvertinti šviesiniu mikroskopu. Tiksliam kiekybiniam įvertinimui dengiamieji stikliukai nuskenuoti Scan Scope XT skeneriu (Leica Aperio Technologies, Vista, Kalifornija, JAV). Stikliukų plotas, padengtas bioplėvele, išanalizuotas Halo ploto skaitmeninio vertinimo algoritmu v1.0. ir išreikštas procentais. Visų *S. aureus* padermių kontrolinių grupių stikliukų bioplėvele padengtas plotas lygintas su bioplėvelių padengtu plotu antiseptikų grupėse.

2.1.3 Antiseptinių tirpalų antimikrobinio veiksmingumo tyrimas *S. aureus* bioplėvelėms

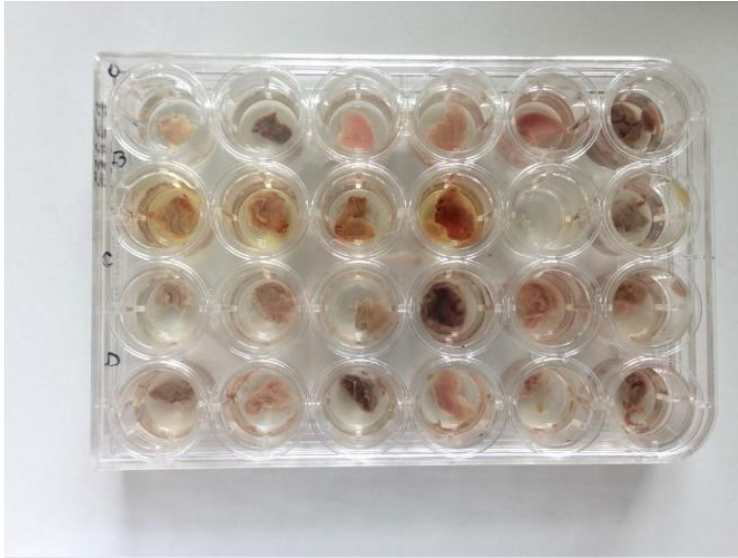
II UŽDAVINYS: palyginti 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalų antimikrobinį veiksmingumą skirtingų *S. aureus* padermių suformuotoms bioplėvelėms *in vitro* sąlygomis imituojant žaizdos aplinką

Ekspimento metodika paremta Sun ir bendr. [22] aprašyto Lubbock'o lėtinės žaizdos patogeninių bioplėvelių modeliu (Lubbock's chronic wound pathogenic biofilm model, toliau – Lubbock'o modelis). Modelio esmė – *in vitro* sąlygomis sukurti žaizdai būdingą aplinką, panaudojant terpę, susidedančią iš 50 proc. avies kraujo plazmos, 5 proc. lizuotų arklio eritrocitų, 45 proc. smegenų-širdies sultinio ir 1 proc. B tipo želatinos (toliau – modifikuota Lubbock'o terpė, MLT) [22].

Ekspimentui panaudotos 24 šulinėlių audinių kultūrų plokštelės (Thermo Scientific™, Nunc™) (2 pav. C). Kiekvienai ekspimente naudotai *S. aureus* padermei (215N, A7189 ir ATCC 25923) paskirta atskira plokštelė. Į kiekvieną plokštelių šulinėlį pripilta po 500 μl MLT. Kiekvienas šulinėlis plokštelėje inokuliuotas 5 μl *S. aureus* kultūros (prieš tai po 10 μl kiekvienos padermės kultūros kilpele perkelta į atskirus mėgintuvėlius su TSS ir kultivuota 24 val. 35°C ± 2°C temperatūroje). Spektrofotometru nustatyta, kad 215N padermės inokulianto koncentracija siekė 8,18 x 10⁷ KfV/ml, A7189 – 7,63 x 10⁷ KfV/ml, ATCC 25923 – 6,91 x 10⁷ KfV/ml.

Šulinėlių plokštelės inkubuotos termostate 72 val. 35°C ± 2°C temperatūroje. Susiformavus bioplėvelėms, šulinėliai triskart švelniai išplauti, kaskart panaudojant po 3 ml sterilaus FBT. Plauta automatine pipete, jos antgalį nukreipus į šulinėlio kraštą, neliečiant pačios bioplėvelės. Ant nuplautų bioplėvelių šulinėliuose užpilta po 750 μl iki 37°C temperatūros pašildytų 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalų. Kontrolinei grupei naudotas pašildytas FBT. Vienam antiseptikui skirta viena šulinėlių eilė plokštelėje (šeši šulinėliai). Užpylus antiseptikus, plokštelės inkubuotos 35°C ± 2°C temperatūroje 10 minučių. Praėjus ekspozicijos laikui, antiseptikai automatine pipete aspiruoti iš šulinėlių. Bioplėvelių likučiai dar kartą triskart nuplauti šulinėliuose steriliu FBT tam, kad būtų pašalintos planktoninės bakterijos ir antiseptikų likučiai (3 pav.). Nuplautos bioplėvelės iš šulinėlių buvo steriliai perkeltos į atskirus sterilius mėgintuvėlius ir pasvertos. Į kiekvieną mėgintuvėlį įpilta po 1 ml sterilaus FBT ir mėgintuvėliai sudėti į automatinę kratyklę, kurioje 1 val. purtyti 500 aps./min greičiu, kad bioplėvelės sudėtyje esančios

bakterijos atsiskirtų ir sudarytų suspensiją. Bioplėvelėse išlikusių bakterijų skaičius įvertintas atlikus serijinius suspensijų skiedimus ir išsėjus į manitolio druskos agarą lėkšteles (Liofilchem®, Italija). Lėkštelės inkubuotos 24 val. $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje ir po to vertintos.



3 pav. Antiseptikais paveiktos ir nuplautos *S. aureus* A7189 padermės bioplėvelės.

2.1.4 Antiseptinių tirpalų antimikrobinio veiksmingumo tyrimas *S. aureus* bioplėvelėms ant kraujagyslės protezų

III UŽDAVINYS: sukurti eksperimentinį infekuoto austo kraujagyslės protezo modelį *in vitro* ir palyginti 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalų antimikrobinį veiksmingumą skirtingų *S. aureus* padermių bioplėvelėms ant kraujagyslės protezo lopinėlių

Lubbock'o modelis [22] buvo modifikuotas ir adaptuotas naujam eksperimentiniam infekuoto kraujagyslės protezo modeliui *in vitro* sukurti. Bioplėvelėms suformuoti naudotos 215N, A7189 ir ATCC 25923 *S. aureus* padermės. Sterilus neimpregnuotas austas 6 mm diametro dakrono protezas (Twillweave®, Vasctek Terumo) steriliomis sąlygomis sukarpytas į vienus fragmentus (9,4 mm x 6 mm) (4 pav. A). Protezo lopinėliai pamerkti į 20 ml MLT, kuri buvo inokuluota 200 μl *S. aureus* kultūros (prieš tai po 10 μl kiekvienos padermės kultūros kilpele perkelta į atskirus mėgintuvėlius su TSS ir kultivuota 24 val. $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje). Spektrofotometru nustatyta, kad 215N padermės inokulianto koncentracija siekė $1,49 \times 10^6$ KFU/ml, A7189

– $7,63 \times 10^7$ KFU/ml, ATCC 25923 – $6,91 \times 10^7$ KFU/ml. Kraujagyslės protezo lopinėliai tokioje terpėje inkubuoti 48 val. $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ temperatūroje standartinėmis sąlygomis, kol pasidengė bioplėvelėmis (4 pav. B). Po inkubacijos, siekiant pašalinti planktonines bakterijas, kraujagyslės protezo lopinėliai buvo švelniai nuplauti 10 ml steriliu FBT tirpalu ir po vieną steriliai perkelti į 24 šulinėlių plokšteles. Ant kraujagyslės protezo lopinėlių užlašinta po 1,5 ml iki $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ temperatūros pašildyto 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo, 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalo ir FBT (kontrolinei grupei) bei inkubuota $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ temperatūroje 10 minučių. Vienam antiseptiniam tirpalui testuoti skirti šeši šulinėliai. Po inkubacijos antiseptikai iš šulinėlių pašalinti, o kiekvienas šulinėlis su jame esančiu kraujagyslės protezo lopinėliu atsargiai nuplautas tris kartus, panaudojant po 3 ml sterilaus FBT. Srovė plaunant šulinėlius nukreipta į šulinėlio kraštą, ne į pačią bioplėvelę ar protezą, kad nesuardytų bioplėvelės struktūros. Paskui po 1,5 ml MLT supilstyta į šulinėlius ir plokštelės inkubuotos 24 val. $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ temperatūroje. Tuomet terpė aspiruota, šulinėliai vėl triskart perplauti steriliu FBT (po 3 ml kaskart). Nuplauti kraujagyslių protezo lopinėliai po vieną perkelti į sterilius mėgintuvėlius, užpilti 1 ml sterilaus FBT ir purtyti kratyklėje 500 aps./min greičiu 20 minučių. Ant protezo lopinėlių išlikusių gyvų bakterijų skaičius įvertintas atlikus serijinius suspensijų skiedimus ir išsėjus į manitolio druskos agarą lėkštelėse. Lėkštelės inkubuotos 24 val. $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ temperatūroje ir po to vertintos.



4 pav. A – neimpregnuotas austas kraujagyslės protezas (dakronas) ir lopinėliai; B – kraujagyslės protezo lopinėlis, pasidengęs *S. aureus* bioplėvele.

2.1.5 Kraujagyslės protezų skenavimas elektroniniu mikroskopu

Neimpregnuoto austo poliesterinio kraujagyslės protezo (dakrono) struktūros vizualizavimui panaudotas skenuojantis elektroninis mikroskopas (SEM, HITACHI TM-1000, Japonija, 15 kV greitėjanti įtampa). Palyginimui

skenuoti švarūs ir MLT *S. aureus* bioplėvele pasidengę protezų lopinėliai. Kraujagyslės protezo lopinėliai, kolonizuoti bakterijų bioplėvelėmis, išimti iš indo su MLT, nuplauti FBT ir 12 val. fiksuoti 5 proc. gliutaraldehido tirpalu. Protezų lopinėliai vėl nuplauti FBT, išdžiovinti panaudojant etilo alkoholį ir padengti plonu aukso dulkių sluoksniu. Švarūs protezų lopinėliai taip pat padengti aukso dulkėmis. Skenuoti trys švarūs ir trys bioplėvelėmis padengti lopinėliai. Kiekvienas lopinėlis nufotografuotas po 10 kartų, kad būtų išgautas reprezentatyvus kraujagyslės protezo atvaizdas be bioplėvelės ir su ja.

2.2 *In vivo* eksperimentų metodika

Sukurta nauja eksperimentinio darbo metodika konservatyvaus žiurkių KPI gydymui. Infekcijai sukelti panaudota viena iš *in vitro* tyrimuose tirtų bioplėvelės formuojančių *S. aureus* padermių – 215N. Gydymui naudoti *in vitro* eksperimentuose išbandyti antiseptiniai tirpalai: 0,1 proc. oktenidino dihidrochloridas, 10 proc. povidono-jodas ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonatas. Kontrolinei grupei panaudotas 0,9 proc. natrio chlorido tirpalas.

Eksperimente naudotos abiejų lyčių Wistar klono žiurkės. Visi graužikai buvo 3–6 mėnesių amžiaus ir svėrė po 239–450 gramų. Prieš pagrindinį eksperimentą atlikti paruošiamieji tyrimai. Jų metu siekta nustatyti tinkamą *S. aureus* dozę, kuri sukeltų žiurkėms pūlingos chirurginės žaizdos infekciją, besitęsiančią mažiausiai dvi savaites. Paruošiamųjų bandymų metu taip pat įvertinta laiko trukmė, reikalinga sulaukti žaizdų supūliavimo.

Pagrindiniai eksperimentai atlikti dviem etapais. Pirmas etapas buvo skirtas išbandyti naujai sukurtą žiurkių KPI gydymo metodiką ir palyginti trijų pasirinktų antiseptinių tirpalų efektyvumą *S. aureus* sukeltai žaizdos infekcijai gydyti. Antras etapas atliktas su efektyviausiu antiseptiku. Antro etapo metu žiurkės gydytos tol, kol 99 proc. *S. aureus* kolonijas formuojančių vienetų (KFV) pavyko išnaikinti iš kraujagyslės protezą supusių audinių. Antro etapo metu įvertintas sukurtos metodikos atkartojamumas, citologiniai bei histologiniai žaizdų radiniai.

2.2.1 Paruošiamieji eksperimentai

Infekcijos sukėlėju pasirinkta *S. aureus* 215N padermė, išskirta iš žmogaus klinikinės medžiagos (pasėlio iš nosies landų). Padermė saugoma VU MF Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedroje Mikrobiologijos skyriuje. Pasirinktai padermei būdingas bioplėvelių formavimas, atsparumas tetraciklinui ir penicilinui bei virulentiškumą koduojantis Panton-Valentin leukocidino genas.

S. aureus 215N padermės kultūra kultivuota 5 proc. Kolumbijos avino kraujo agare („Bio-Rad“, Prancūzija) 24 val. 35°C ± 2°C temperatūroje. Atšviežinus kultūrą, paruoštos 1, 3 ir 5 McFarland'ų drumstumą atitinkančios suspensijos. Paruošiamųjų tyrimų metu po 1 ml kiekvienos suspensijos buvo sulašinta į žiurkių nugarose padarytas chirurgines žaizdas su implantuotais kraujagyslės protezo lopinėliais (dviem žiurkėms – vienos koncentracijos suspensija). Žaizdos buvo užsiūtos ir stebėtos vieną savaitę. Paruošiamųjų eksperimentų metu nustatyta, kad norint sukelti ir kliniškai bei mikrobiologiškai patvirtinti pūlingą chirurginės žaizdos infekciją žiurkėms adekvati infekcinė dozė atitinka 5 McFarland'ų drumstumo standartą. Kliniškai akivaizdus žaizdos supūliavimas stebėtas po penkių dienų.

2.2.2 Pirmojo etapo *in vivo* eksperimentai

IV UŽDAVINYS: sukurti eksperimentinį infekuoto austo kraujagyslės protezo modelį *in vivo* Wistar klonu žiurkėms ir palyginti 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalų veiksmingumą, gydant *S. aureus* užkrėstas žiurkių žaizdas su kraujagyslės protezo lopinėliais

Likus vienai savaitei iki eksperimentų pradžios, žiurkės (n = 48) įleistos į atskirus narvelius, kad apsibrastų prie pasikeitusių aplinkos sąlygų. Graužikai maitinti standartiniu pašaru ir girdyti vandeniu iki soties. Žiurkių kūno masė ir rektalinė temperatūra matuotos pirmą ir šeštą-dešimtą eksperimento dienomis (prieš operaciją, žaizdos supūliavimo piko metu, taikant kasdienius žaizdos plovimus ir paskutinę eksperimento dieną).

Anestezijai naudotas 10 proc. ketamino („Bio-ketan“, Vetoquinol Biowet Sp. Zoo, Poland, 40 mg/kg) ir 2 proc. ksilazino tirpalas („Xylazin“ 2 proc., „Bela-Pharm GmbH & Co. KG“, Vokietija, 5 mg/kg). Vaistai suleisti į pilvaplėvės ertmę. Operacinis stalas, instrumentai, chirurginė tvarsliava ir chirurginis laukas paruošti vadovaujantis aseptikos ir antiseptikos principais. Kiekvienai žiurkei nuo nugaros elektrine mašinėle nuskusti plaukai. Nuskusta oda dezinfekuota odos antiseptiku („Cutasept F“, Bode Chemie Hamburg, Vokietija). Steriliomis sąlygomis sterilus neimpregnuotas austas 6 mm diametro dakrono kraujagyslės protezas sukarpytas į lygius lopinėlius (9,4 mm x 6 mm). Kiekvienai žiurkei dešinėje stuburo pusėje atliktas 2 cm ilgio odos ir poodžio pjūvis. Buku būdu atidalinus poodinį sluoksnį nuo raumens fascijos suformuota kišenė kraujagyslės protezo lopinėliui implantuoti. Į susidariusią ertmę įdėtas protezo lopinėlis. Naudojant 3-0 monofilamento siūlus (Ethicon,

„Johnson&Johnson“) pradėta siūti oda pavienėmis siūlėmis mazgais į vidų. Prieš surišant paskutinės siūlės mazgą, į žiojėjančią žaizdą nutaikyta sterili automatinė pipetė, kuria į ertmę sulašinta 1 ml 5 McFarland'o drumstumo standartą atitinkanti *S. aureus* suspensijos dozė. Tada užrišti paskutinės siūlės mazgai ir žaizda užsandarinta.

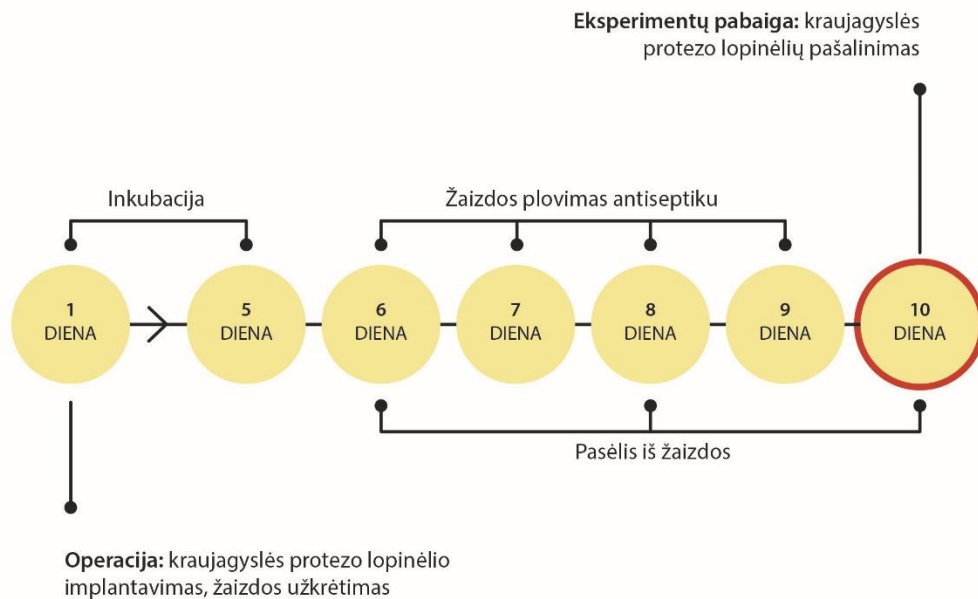
Po operacijos žiurkės laikytos atskiruose narveliuose penkias dienas, užtikrinant tas pačias temperatūros, drėgmės ir mitybos sąlygas.

Šeštą eksperimento dieną (laikas nustatytas paruošiamųjų tyrimų metu) iš operacinių žaizdų paimti mikrobiologiniai pasėliai. Pirmiausia oda dezinfekuota. Vienkartine adata punktavus žaizdos ertmę ~0,5 cm atstumu nuo pjūvio, į ertmę švirktu suleista 1 ml sterilaus 0,9 proc. natrio chlorido tirpalo. Išpunktavus žaizdos nuoplovas ta pačia adata, gautas turinys 96 šulinėlių plokštelėse serijiniu būdu atskiestas steriliu FBT ir išsėtas į manitolio druskos agarą lėkšteles. Lėkštelės vertintos po 24 val. inkubacijos 35°C ± 2°C temperatūroje.

Paėmus mėginius, tą pačią dieną žiurkės atsitiktinai suskirstytos į keturias lygias grupes nežinant jų supūliavimo lygio (pasėlių rezultatai vertinti tik po paros). Pradėti kasdieniai žaizdų plovimai skirtingais antiseptikų tirpalais – 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalu. Kontrolinei grupei naudotas 0,9 proc. natrio chlorido tirpalas. Plovimai vykdyti sterilią adatą įdūrus į žaizdos ertmę, suleidus 1 ml antiseptinio tirpalo ir po 5 minučių jį išpunktavus. Gydomieji plovimai atlikti kas dieną tuo pačiu metu keturias dienas iš eilės. Gydymo efektui ir bakterijų augimui vertinti mėginiai iš žaizdų papildomai imti aštuntą ir dešimtą eksperimento dienomis.

Laboratoriniai gyvūnai stebėti kiekvieną pooperacinę dieną. Buvo registruojami visi elgesio ypatumai, kūno masės ir temperatūrų kitimai, maisto ir vandens suvartojimas. Tyrimas baigtas dešimtą eksperimento dieną. Vadovaujantis galiojančiais juridiniais dokumentais, visi laboratoriniai gyvūnai užmigdyti CO₂ dujų kameroje. Užmigdžius gyvūnėlius kraujagyslės protezai steriliai pašalinti iš žaizdų, perkelti į sterilius mėgintuvėlius su 5 ml FBT ir kratyti automatinėje kratyklėje 1 val. 500 aps./min greičiu, kad nuo protezų atsiskirtų bakterijų likučiai. Naudojant sterilių FBT gautos suspensijos atskiestos serijiniu būdu ir išsėtos į manitolio druskos agarą lėkšteles. Lėkštelės vertintos po 24 val. inkubacijos 35°C ± 2°C temperatūroje. Eksperimentų eiga pavaizduota 5 pav. Kai kurios žiurkės į galutinę analizę neįtrauktos (žr. *In vivo* eksperimentų rezultatai).

Ekspirimentų pradžioje 48 žiurkės



Kūno masė ir temperatūra matuotos 1, 6-10 dienomis.

Ekspirimentų pabaigoje 43 žiurkės

5 pav. Pirmojo etapo *in vivo* ekspirimentų eiga.

2.2.3 Antrojo etapo *in vivo* eksperimentai

V UŽDAVINYS: įvertinti žiurkių gydymo trukmę, reikalingą pašalinti *S. aureus* iš kraujagyslės protezo aplinkos, atlikti citologinę bei histologinę žaizdos audinių analizę

Antrame tyrimų etape naudotas pirmame etape nustatytas veiksmingiausias antiseptikas. Atkartojant sukurtą metodiką, dešimt žiurkių gydytos kasdieniais oktenidino dihydrochlorido plovimais septynias dienas. Bakteriologiniai mėginiai iš žaizdų (nuoplovos) imti šeštą, aštuntą, dešimtą, dvyliktą ir tryliktą eksperimento dienomis. Kaskart išpunktavus žaizdų nuoplovas, citologiniams tyrimams paimta po 10 μ l neskiesto turinio, kuris buvo paskirtomas ant objektinių stikliukų ir fiksuotas 10 proc. formaldehido tirpalu. Stikliukai nudažyti Gramo būdu ir nuskenuoti ScanScope XT Slide skeneriu. Panaudojant Halo programinę įrangą, suskaitmeninti vaizdai išanalizuoti dviem etapais. Pirmiausia klasifikatoriaus modulis sukalibruotas atpažinti ir atskirti uždegimines ląsteles nuo artefaktų bei fono (stiklo). Tada naudojant Multiplex IHC v1.2 režimą, suskaičiuotos ant objekcinio stikliuko esančios uždegiminės ląstelės. Siekiant bakteriologiškai įvertinti žaizdų nuoplovas, likęs punktatas atskiestas serijiniu būdu ir išsėtas į manitolio druskos agarų lėkšteles. *S. aureus* manitolio druskos agarų lėkštelėse vertintas po 24 val. inkubacijos $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje.

Eksperimentas baigtas tryliktą dieną, kai žaizdų nuoplovų pasėliuose devynioms iš dešimties žiurkių nebebuvo aptikta *S. aureus* kolonijų. Užmigdžius gyvūnėlius CO_2 dujų kameroje, kraujagyslės protezai steriliai pašalinti iš žaizdų, sudėti į sterilius mėgintuvėlius su 5 ml FBT ir 1 val. kratyti automatinėje kratyklėje 500 aps./min greičiu, kad nuo protezų atsiskirtų likusios bakterijos. Gautos suspensijos atskiestos serijiniu būdu ir išsėtos į manitolio druskos agarų lėkšteles. Lėkštelės vertintos po 24 val. inkubacijos $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje.

Įvertinti galimą bakterinio proceso išsivystimą į kraują, iš širdies skilvelio steriliomis adatomis paimti kraujo mėginiai. Jie išsėti į manitolio druskos agaro lėkšteles ir vertinti po 24 val. inkubacijos $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje.

Išsamiam mikrobiologiniam ir histologiniam ištyrimui paimti visų dešimties žiurkių audinių mėginiai. Išpjautos odos-poodžio fistulės su šašais bei minkštieji audiniai, kontaktavę su kraujagyslės protezu. Fistulių audiniai padalinti į dvi lygias dalis. Dalys, skirtos mikrobiologiniam ištyrimui, buvo pasvertos, susmulkintos homogenizatoriumi, atskirai pamerktos į mėgintuvėlius su 5 ml sterilaus FBT ir 1 val. kratytos automatinėje kratyklėje

500 aps./min greičiu. Gautos suspensijos atskiestos serijinių skiedimų būdu naudojant FBT ir išsėtos į manitolio druskos agarų lėkšteles. Lėkštelės vertintos po 24 val. inkubacijos $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Fistulių dalys, skirtos histologiniam ištyrimui, ir minkštųjų audinių mėginiai atskirai pamerkti į mėgintuvėlius su 10 proc. formaldehido tirpalu. Audinių mėginiai aplieti parafinu, supjaustyti $5\ \mu\text{m}$ storio sluoksniais bei nudažyti hematoksilino ir eozino dažymu. Audinių preparatai įvertinti šviesiniu mikroskopu (Olympus BX 40) didinant 10, 20 ir 40 kartų. Audinio preparate matomas uždegimo tipas kokybiškai įvertintas pagal audiniuose rastą uždegiminių ląstelių tipą (granulocitai, limfocitai arba makrofagai / histiocitai). Uždegimo intensyvumas kiekybiškai įvertintas pagal uždegiminių ląstelių kiekį audiniuose:

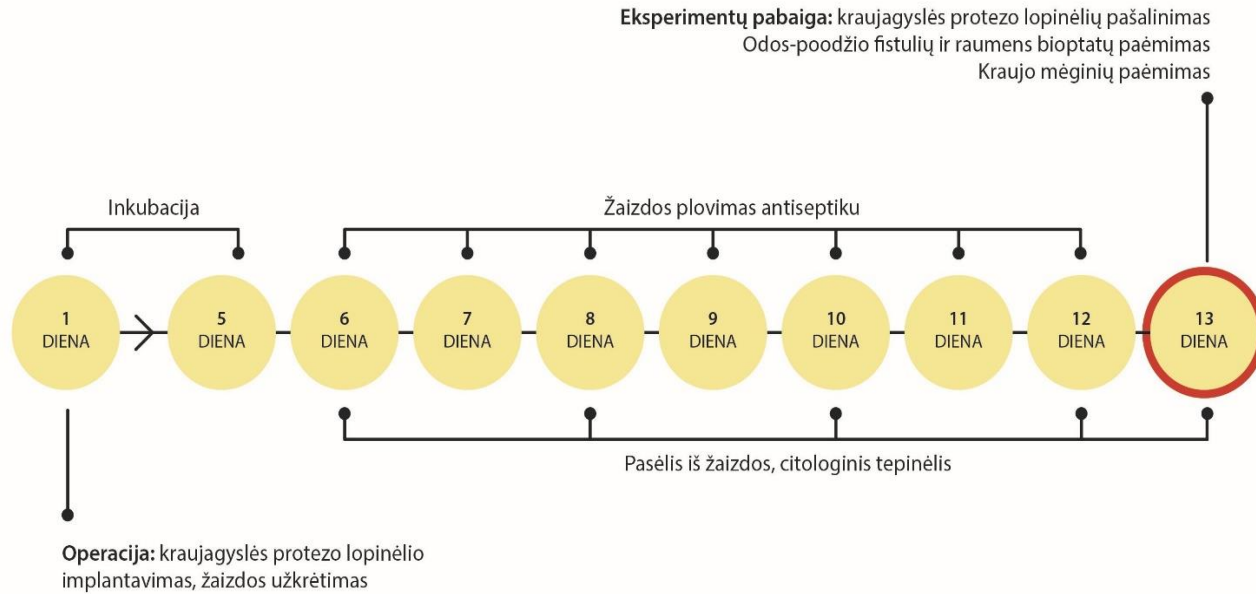
- nėra polimorfonuklearų (PMN) infiltracijos – uždegimo nenustatyta – 0 laipsnis;
- pavieniai PMN – nedidelio laipsnio uždegimas – I laipsnis;
- vidutinio tankio PMN infiltracija – vidutinio laipsnio uždegimas – II laipsnis;
- didelio tankio PMN infiltracija – sunkaus laipsnio uždegimas – III laipsnis.

Nekrozavusiais laikyti tie audiniai, kur rasti negrižtami ląstelių arba audinių be ląstelių pažeidimai, arba audiniai su negyvybingomis ląstelėmis be aiškių branduolių. Tokių ląstelių citoplazma – homogeniška ir acidofiliška.

Preparatai taip pat vertinti skaitmeniniu būdu. Jie nuskenuoti ScanScope XT Slide skeneriu, išanalizuoti Halo vaizdų klasifikatoriumi. Programinė įranga sukalibruota taip, kad atpažintų ir suskirstytų vaizdus į tris grupes: stiklą, strumą (riebalus, odą, jungiamąjį ir raumeninį audinį) bei audinių nekrozę. Audinių nekrozės plotai, apskaičiuoti skaitmeniniu būdu ir išreikšti procentais, buvo naudojami tolimesnėje rezultatų analizėje.

Antrojo etapo eksperimentų eiga pavaizduota 6 pav.

Eksperimentų pradžioje 10 žiurkių



Kūno masė ir temperatūra matuotos 1, 6-13 dienomis.

Eksperimentų pabaigoje 10 žiurkių

6 pav. Antrojo etapo *in vivo* eksperimentų eiga.

2.3 Statistinė duomenų analizė

Duomenys išanalizuoti naudojant parametrinius ir neparametrinius statistinius testus. Parametriniai testai naudoti tais atvejais, kai buvo galima taikyti normaliojo duomenų pasiskirstymo prielaidą – taikytas dviejų suporuotų imčių t-testas bei dviejų atskirų imčių t-testas. Kitais atvejais naudoti neparametriniai testai: Wilcoxon t-testas analizuojant dvi suporuotas imtis, Mann – Whitney U testas analizuojant dvi nesuporuotas imtis ir Kruskal – Wallis H testas analizuojant daugiau negu dvi imtis tarpusavyje. Duomenų koreliacija įvertinta Spearman's Rho testu. Skaičiavimai atlikti naudojantis SPSS 24.0 bei Microsoft Excel 2016 programomis. Pasirinkta statistinio reikšmingumo riba – $p < 0,05$.

3. REZULTATAI

3.1 *In vitro* eksperimentų rezultatai

3.1.1 Kokybinė ir kiekybinė skirtingų *S. aureus* padermių bioplėvelių formavimo charakteristika

Devynios iš dešimties tirtų *S. aureus* padermių suformavo juodas kolonijas Kongo raudonajame agare ir buvo laikytos bioplėvelės formuojančiomis padermėmis. Raudonas kolonijas suformavusi I-1242 *S. aureus* padermė laikyta bioplėvelės neformuojančia paderme (7 pav.).

Tolimesnis – kiekybinis bioplėvelių produkcijos vertinimas *in vitro* buvo atliktas remiantis spektrofotometriniu kristalvioleto absorbcijos analize [191]. Pagal spektrofotometru išmatuotą OT (2 lentelė) padermės suskirstytos į grupes:

- $OT < 0,5$ – mažas bioplėvelių produkavimas;
- $0,5 \leq OT < 0,6$ – vidutinis bioplėvelių produkavimas;
- $OT \geq 0,6$ – gausus bioplėvelių produkavimas.

Gausiai bioplėvelės formuojančios padermės (215N, A7189 ir ATCC 25923) buvo atrinktos tolimesniems *in vitro* tyrimams.



7 pav. Bioplėvelės formuojančių *S. aureus* padermių diferenciacija Kongo raudonajame agare.

2 lentelė. Kiekybinis skirtingų *S. aureus* padermių bioplėvelių formavimo įvertinimas

<i>S. aureus</i> padermė	OT ₅₉₅ nm (SN)*	Bioplėvelių produkavimas
215N	0,73 ± 0,04	Gausus
A1152	0,47 ± 0,14	Mažas
A4192	0,49 ± 0,08	Mažas
A6132	0,49 ± 0,13	Mažas
A7189	0,69 ± 0,12	Gausus
I-1242	0,15 ± 0,04	Neformuoja
I-1717	0,51 ± 0,09	Vidutinis
I-1867	0,57 ± 0,05	Vidutinis
I-1975	0,53 ± 0,09	Vidutinis
ATCC 25923	0,86 ± 0,04	Gausus
Kontrolinis šulinėlis	0,04 ± 0,02	-

*SN – standartinis nuokrypis

3.1.2 Antiseptinių tirpalų veiksmingumo vertinimas, ardant *S. aureus* bioplėvelių integralumą

Visose eksperimentinėse grupėse ant dengiamųjų stikliukų sėkmingai susiformavo *S. aureus* bioplėvelės. Kontrolinėse grupėse tarp padermių (215N, A7189 ir ATCC 25923) stikliukų pasidengimas bioplėvele nesiskyrė (Kruskal – Wallis H testas, $p = 0,33$) (3 lentelė).

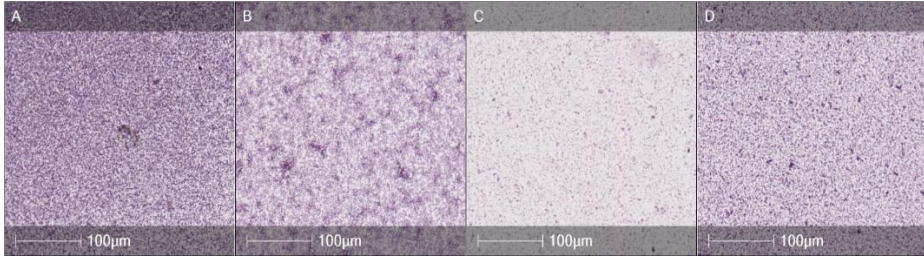
3 lentelė. Skirtingų *S. aureus* padermių suformuotų bioplėvelių plotas ant dengiamųjų stikliukų

<i>S. aureus</i> padermė	<i>S. aureus</i> bioplėvele padengtas dengiamųjų stikliukų plotas prieš paveikiant antiseptikais, proc.				p vertė
	Minimalus	Maksimalus	Mediana	TKP*	
215N	71,60	76,80	72,85	3,57	0,33
A7189	74,20	86,18	82,18	7,30	
ATCC 25923	67,66	85,65	70,32	12,43	

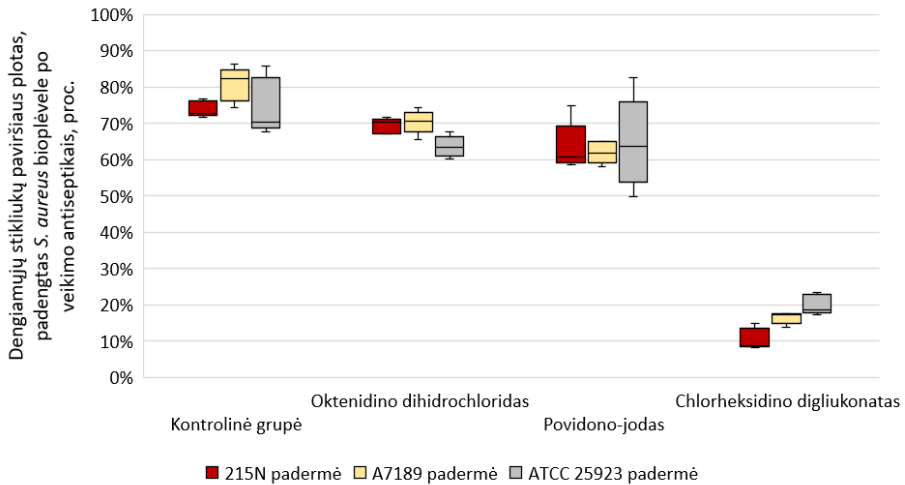
*TKP – tarpkvartilinis plotis

Skirtingais antiseptiniais tirpalais paveikus trijų skirtingų *S. aureus* padermių bioplėvelėmis padengtus stikliukus išryškėjo, kad visoms trimis *S. aureus* padermėms reikšmingas bioplėvelę ardantis poveikis stebėtas tik chlorheksidinu veiktų objektinių stikliukų grupėse (Kruskal – Wallis H testas, 215N padermei $p = 0,02$, A7189 padermei $p < 0,001$, ATCC 25923 padermei $p = 0,02$ (8 pav.).

Lyginant antiseptikų (oktenidino, povidono-jodo ir chlorheksidino) poveikį skirtingų padermių suformuotoms *S. aureus* bioplėvelėms skirtumų tarp padermių neišryškėjo (Kruskal – Wallis H testas, $p = 0,23$, $p = 0,99$, $p = 0,08$, atitinkamai) (9 pav.).



8 pav. *S. aureus* 215N padermės bioplėvelėmis apauginti objektiniai stikliukai po veikimo antiseptikais, nudažyti kristalvioleto ir nuskenuoti Scan Scope XT skeneriu (parinkta po vieną reprezentuojantį atvaizdą visai grupei): A – kontrolinės grupės atvaizdas; B – oktenidino dihidrochlorido grupės atvaizdas; C – chlorheksidino digliukonato grupės atvaizdas; D – povidono-jodo grupės atvaizdas.



9 pav. Skirtingų antiseptikų poveikis ant dengiamųjų stikliukų susiformavusios *S. aureus* bioplėvelės integralumui. 215N, A7189 ir ATCC 25923 padermių bioplėvelių plotas ant objektinių stikliukų nepakito paveikus oktenidino dihidrochloridu ($p = 0,2$) ir povidono-jodu ($p = 0,4$), bet sumažėjo paveikus chlorheksidino digliukonatu (atitinkamai padermėms $p = 0,02$, $p < 0,001$ ir $p = 0,02$).

3.1.3 Antiseptinių tirpalų antimikrobinio veiksmingumo vertinimas, veikiant *S. aureus* bioplėveles

Visų padermių (215N, A7189 ir ATCC 25923) *S. aureus* bioplėvelės, per 48 val. susiformavusios MLT, buvo tarpusavyje panašios tekstūra ir nesiskyrė mase ($p = 0,7$). Ištyrus visų padermių kontrolinių grupių (neveiktų antiseptikais) bioplėveles buvo nustatytas jas sudariusių *S. aureus* bakterijų skaičius (KFV/ml) (4 lentelė).

4 lentelė. MLT *S. aureus* bioplėveles sudariusių bakterijų skaičius

<i>S. aureus</i> padermė	Bioplėvelių sudėtyje esančių <i>S. aureus</i> bakterijų skaičius, KFV/ml			
	Minimalus	Maksimalus	Mediana	TKP*
215N	$3,50 \times 10^7$	$7,20 \times 10^9$	$4,57 \times 10^8$	$2,56 \times 10^9$
A7189	$1,00 \times 10^6$	$2,00 \times 10^{12}$	$6,00 \times 10^{11}$	$1,29 \times 10^{12}$
ATCC 25923	$4,00 \times 10^{10}$	$7,00 \times 10^{14}$	$2,00 \times 10^{14}$	$4,99 \times 10^{14}$

*TKP – tarpkvartilinis plotis

S. aureus 215N padermės bioplėveles paveikus antiseptikais nustatyta:

- *S. aureus* KFV/ml bioplėvelėse sumažėjo trimis eilėmis (pateikiama mediana (M) ir tarpkvartilinis plotis (TKP)) (nuo $M = 4,57 \times 10^8$, $TKP = 2,56 \times 10^9$ iki $M = 2,77 \times 10^5$, $TKP = 4,86 \times 10^5$ KFV/ml, $p = 0,002$), paveikus 0,02 proc. chlorheksidino digliukonatu;
- po bioplėvelių ekspozicijos 0,1 proc. oktenidino dihidrochloridu ir 10 proc. povidono-jodu *S. aureus* KFV nerasta ($p = 0,002$).

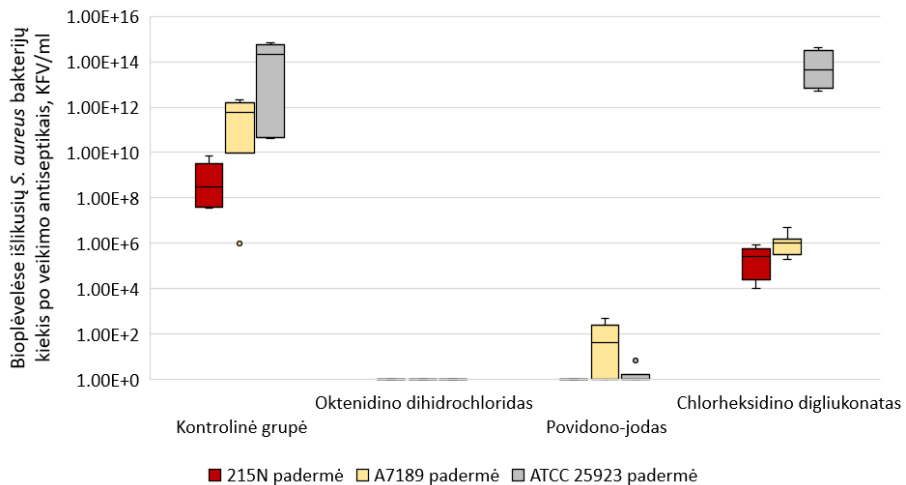
S. aureus A7189 padermės bioplėveles paveikus antiseptikais nustatyta:

- *S. aureus* KFV/ml bioplėvelėse sumažėjo penkiomis eilėmis (nuo $M = 6,00 \times 10^{11}$, $TKP = 1,29 \times 10^{12}$ iki $M = 1,00 \times 10^6$, $TKP = 7,00 \times 10^5$ KFV/ml, $p = 0,02$), paveikus 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalu, ir devyniomis eilėmis (nuo $M = 6,00 \times 10^{11}$, $TKP = 1,29 \times 10^{12}$ iki $M = 1,05 \times 10^2$, $TKP = 2,09 \times 10^2$ KFV/ml, $p = 0,002$), paveikus 10 proc. povidono-jodu.
- po bioplėvelių ekspozicijos 0,1 proc. oktenidino dihidrochloridu *S. aureus* KFV nerasta ($p = 0,002$).

S. aureus ATCC 25923 padermės bioplėvelės paveikus antiseptikais nustatyta:

- *S. aureus* KfV/ml bioplėvelėse reikšmingai nepakito (sumažėjo nuo $M = 2,00 \times 10^{14}$, TKP = $4,99 \times 10^{14}$ iki $M = 4,50 \times 10^{13}$, TKP = $2,92 \times 10^{14}$ KfV/ml, $p = 0,82$), paveikus 0,02 proc. chlorheksidino digliukonatu;
- po bioplėvelių ekspozicijos 0,1 proc. oktenidino dihidrochloridu *S. aureus* KfV nerasta ($p = 0,002$), o po veikimo 10 proc. povidono-jodu bakterijų nerasta penkiuose iš šešių mėginių; viename iš šešių mėginių rasta 7 KfV/ml ($p = 0,002$).

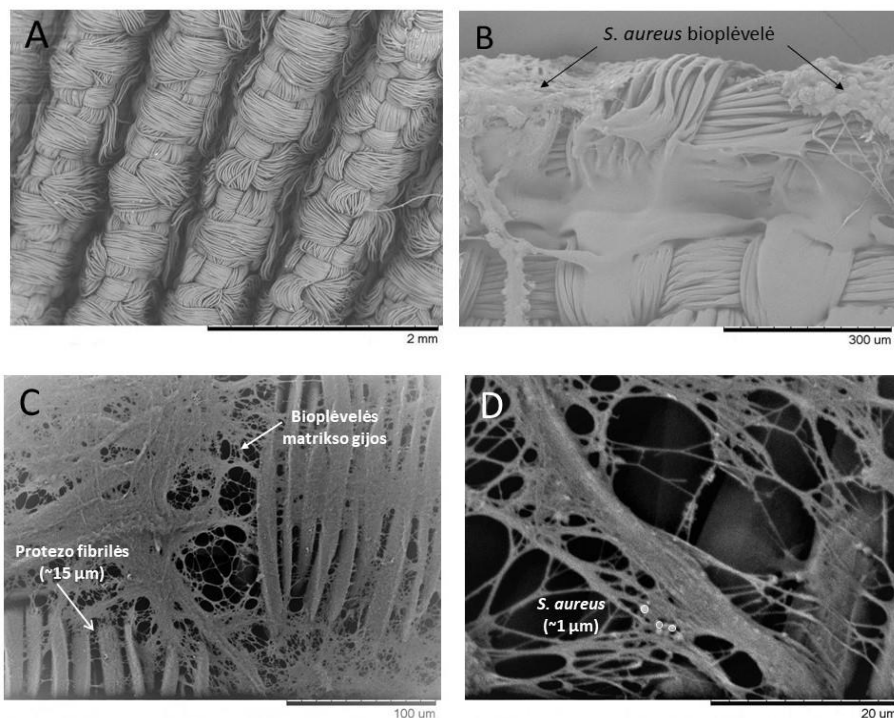
Ekspimento rezultatai atspindėti 10 pav.



10 pav. Skirtingų antiseptikų antimikrobinis poveikis, veikiant MLT užaugintas *S. aureus* bioplėvelės. Po bioplėvelių ekspozicijos oktenidino dihidrochloridu, 215N, A7189 ir ATCC 25923 padermių *S. aureus* bakterijų nerasta ($p = 0,002$). Po ekspozicijos povidono-jodu 215N padermės bakterijų nerasta ($p = 0,002$), A7189 ir ATCC 25923 padermių bakterijų žymiai sumažėjo ($p = 0,002$). Po ekspozicijos chlorheksidino digliukonatu 215N ir A7189 padermių bakterijų žymiai sumažėjo (atitinkamai $p = 0,002$ ir $p = 0,02$) ir nepakito ATCC 25923 padermei ($p = 0,82$).

3.1.4 KPI modelio sukūrimas *in vitro*. Antiseptinių tirpalų antimikrobinio veiksmingumo vertinimas, veikiant *S. aureus* bioplėvelės ant kraujagyslės protezų

Dėl sudedamųjų terpės dalių, imituojančių žaizdą *in vivo*, ir klinikinėje praktikoje susiformuojančių panašių bioplėvelių struktūrų, Lubbock'o modelis buvo panaudotas kuriant inovatyvų infekuoto kraujagyslės protezo modelį *in vitro*. Praėjus inkubacijos laikui, neimpregnuoto austo protezo lopinėliai (11 pav. A) buvo sėkmingai kolonizuoti *S. aureus* bioplėvele (11 pav. B, C ir D) ir veikti antiseptikais.



11 pav. SEM išgauti neimpregnuoto austo kraujagyslės protezo (dakrono) atvaizdai. A – 50 kartų padidintas kraujagyslės protezo atvaizdas; B – 150 kartų padidintas kraujagyslės protezo atvaizdas su *S. aureus* bioplėvele; C – 800 kartų padidintas atvaizdas – matomos bioplėvelės matrikso gijos; D – 5000 kartų padidintas atvaizdas – matomi kokai.

Ištyrus visų *S. aureus* padermių kontrolinių grupių (neveiktų antiseptikais) bioplėvelės ant kraujagyslės protezo lopinėlių buvo nustatytas jas sudariusių *S. aureus* bakterijų skaičius (KFV/ml) (5 lentelė).

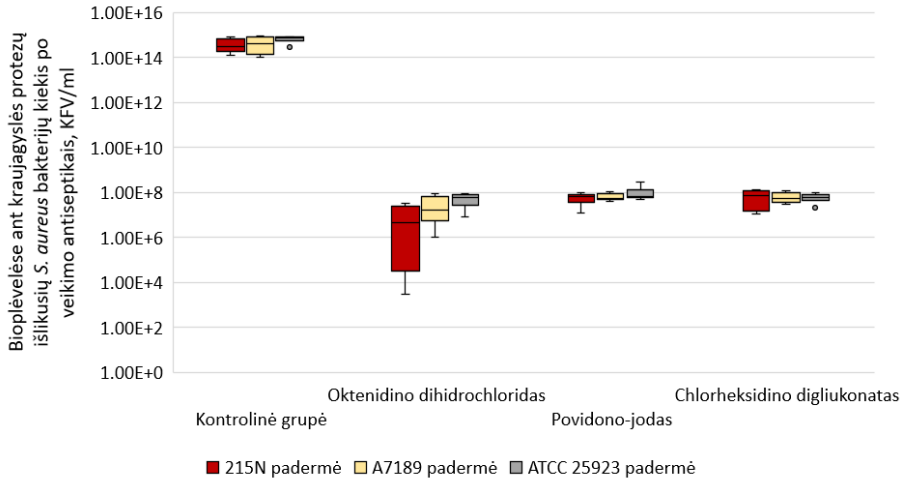
5 lentelė. MLT *S. aureus* bioplėvelės sudariusių bakterijų skaičius ant kraujagyslės protezo lopinėlių

<i>S. aureus</i> padermė	Bioplėvelių sudėtyje esančių <i>S. aureus</i> bakterijų skaičius ant kraujagyslės protezo lopinėlių, KVV/ml; $\times 10^{14}$			
	Minimalus	Maksimalus	Mediana	TKP*
215N	1,20	8,00	3,04	4,10
A7189	1,00	9,00	4,50	6,50
ATCC 25923	3,00	8,00	7,50	1,00

*TKP – tarpkvartilinis plotis

Bioplėvelės ant kraujagyslės protezų lopinėlių paveikus antiseptiniais tirpalais gauti tokie rezultatai:

- lyginant su kontroline grupe, visoms *S. aureus* padermėms visi trys testuoti antiseptikai pademonstravo efektyvų antimikrobinį veikimą naujai sukurtame kraujagyslės protezo infekcijos modelyje *in vitro* ($p = 0,002$);
- visų naudotų antiseptikų atveju *S. aureus* bakterijų ant kraujagyslės protezo sumažėjo septyniomis eilėmis;
- *S. aureus* A7189 ir ATCC 25923 padermėms 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido, 10 proc. povidono-jodo ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato efektyvumas nesiskyrė ($p > 0,05$);
- *S. aureus* 215N padermei 0,1 proc. oktenidino dihidrochloridas buvo veiksmingesnis už 10 proc. povidono-jodą ($p = 0,02$) ir 0,02 proc. chlorheksidino digliukonatą ($p = 0,04$). Povidono-jodo ir chlorheksidino efektyvumas nesiskyrė ($p = 0,94$);
- naikinant *S. aureus* bakterijas nuo kraujagyslės protezų, oktenidino dihidrochloridas pasireiškė didesniu efektyvumu 215N padermei nei ATCC 25923 (Mann – Whitney testas, $p = 0,02$). Eksperimento rezultatai atspindėti 13 pav.



12 pav. Antiseptikų antimikrobinis veiksmingumas, veikiant *S. aureus* bioplėveles ant kraujagyslės protezo. Lyginant su kontroline grupe, visi tirti antiseptikai pademonstravo panašų antimikrobinį veiksmingumą naujai sukurtame KPI modelyje *in vitro* ($p = 0,002$).

3.2 *In vivo* eksperimentų rezultatai

3.2.1 Galutinis imties dydis eksperimentuose

Viena žiurkė, kuri buvo priskirta kontrolinei grupei, neatsibudo po narkozės (įtariamas anestetikų perdozavimas). Dvi žiurkės, kurios buvo priskirtos povidono-jodo grupei, ir viena žiurkė, kuri buvo priskirta chlorheksidino grupei, nepasiekė adekvataus supūliavimo lygio (remtasi mikrobiologinio pasėlio iš žaizdos, imto šeštą eksperimento dieną prieš pradėdant gydymą, rezultatu) ir buvo neįtrauktos į tolimesnį eksperimentą. Viena žiurkė, priskirta chlorheksidino grupei, nugaišo aštuntą eksperimento dieną. Buvo pastebėta, kad jai užpūliavo akys, ji tapo vangesnė už kitas, mažiau ėdė ir gėrė bei prarado daug kūno masės (nuo 355 g iki 188 g).

Galutinis imties dydis pirmo etapo eksperimentuose – 43 žiurkės:

- 12 žiurkių oktenidino dihidrochlorido grupėje;
- 10 žiurkių povidono-jodo grupėje;
- 10 žiurkių chlorheksidino digliukonato grupėje;
- 11 žiurkių kontrolinėje grupėje.

Antrojo etapo eksperimentuose, kur testuotas vien oktenidino dihidrochlorido veikimas, galutinis imties dydis – 10 žiurkių.

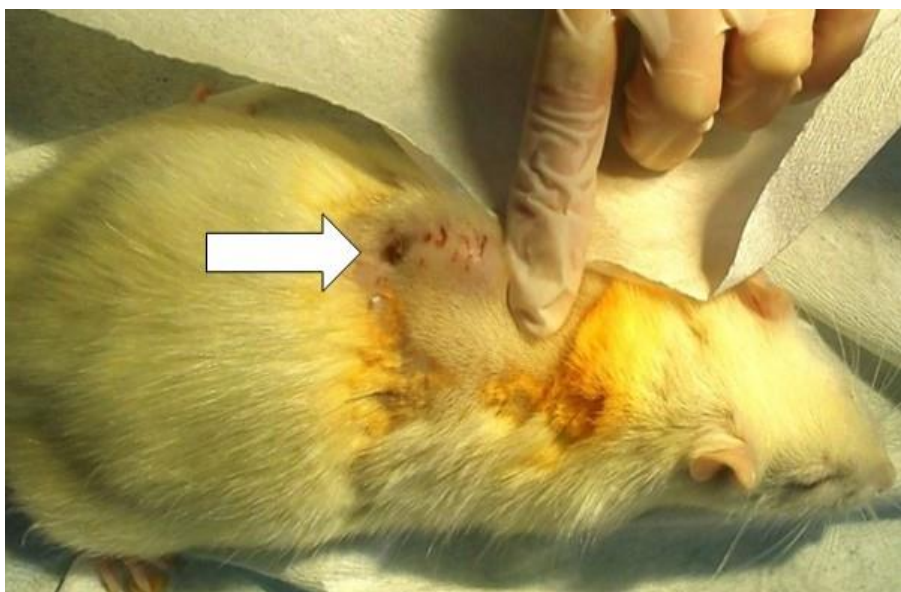
3.2.2 Makroskopiniai radiniai

Vidutinės kūno temperatūros svyravimai eksperimento eigoje žiurkėms išliko normos ribose ($35,8-37,5^{\circ}\text{C}$) ir reikšmingai nesiskyrė tarp tiriamųjų grupių.

Vidutinė kūno masė visoms žiurkėms pirmą eksperimento dieną buvo $317,6 \pm 48,1$ g ir svyravo tarp 239 iki 450 gramų. Atlikus dispersinę analizę, stebėtas grupių homogeniškumas pagal kūno masę ($p = 0,97$) (6 lentelė).

Gydymo eigoje stebėtas žiurkių kūno masės pokytis. Dešimtą eksperimento dieną (eksperimento pabaiga) visų graužikų kūno masė buvo reikšmingai sumažėjusi lyginant su pirma eksperimento diena (suporuotų imčių t-testas, $p < 0,001$). Žymiai sumažėjo antiseptikais gydytų žiurkių kūno masė. Daugiausia kūno masės prarado žiurkės, gydytos chlorheksidinu – vidutiniškai $36,1 \pm 72,9$ g (suporuotų imčių t-testas, $p = 0,04$). Kontrolinės grupės žiurkių kūno masė nepakito ($p = 0,57$) (6 lentelė).

Palyginus su kontroline grupe, žymus kūno masės sumažėjimas registruotas žiurkėms, gydytoms povidono-jodu ir chlorheksidinu (dviejų nepriklausomų imčių t-testas, $p = 0,02$ ir $p = 0,04$, atitinkamai), bet ne oktenidinu (dviejų nepriklausomų imčių t-testas, $p = 0,1$). Šeštą eksperimento dieną visos žiurkės buvo kruopščiai apžiūrėtos ir įvertintos. Visiems graužikams buvo atsiradęs mažesnis ar didesnis patinimas pjūvio vietoje, tačiau žaizdų paraudimo nebuvo (13 pav.). Siūlės buvo sandarios, oda sugijusi. Keletui žiurkių pastebėti susiformavę šašai pjūvio vietose. Pradėjus kasdienį žaizdų plovimą antiseptikais, visoms žiurkėms susiformavo šašai absceso srityje ir atsivėrė odos-poodžio fistulės, pro kurias skyrėsi pūlingos išskyros.



13 pav. Kraujagyslės protezo lopinėlio implantavimo vietoje susiformavęs infiltratas ir atsivėrusi pūlinga odos-poodžio fistulė šeštą eksperimento dieną (prieš pradėdant gydymą).

6 lentelė. Žiurkių kūno masės kitimas, susijęs su KPI gydymui naudotu antiseptiku

Antiseptinis tirpalas	Oktenidino dihidrochloridas	Povidono-jodas	Chlorheksidino digliukonatas	Kontrolinė grupė
Vidutinė kūno masė 1-ą eksperimento dieną, g	318,5 ± 40,1	323,1 ± 58,2	312,5 ± 48,6	316,2 ± 52,0
Vidutinė kūno masė 10-tą eksperimento dieną, g	299,3 ± 44,1	306,2 ± 60,6	276,4 ± 54,3	313,9 ± 50,0
Vidutinis kūno masės pokytis, g	-19,25 ± 59,6	-16,9 ± 83,9	-36,1 ± 72,9	-2,3 ± 72,1
Efektas dydis, Cohen'o d	-0,32	-0,20	-0,49	-0,03
Vidutinis kūno masės pokytis, proc.	-5,9	-5,6	-11,5	-0,1
p vertė	0,05	0,004	0,04	0,57

3.2.3 Mikrobiologiniai radiniai

Antiseptikų veiksmingumas, gydant *S. aureus* infekuotas žiurkių žaizdas su kraujagyslės protezo lopinėliais vertintas lyginant *S. aureus* KfV skaičiaus pokyčius žaizdų nuoplovose prieš pradėdant gydymą ir baigus gydymo kursą.

Per keturias gydymo antiseptikais dienas *S. aureus* KFV/ml žaizdų nuoplovose reikšmingai sumažėjo visose antiseptikais gydytų žiurkių grupėse, tačiau kontrolinėje grupėje – nereikšmingai padidėjo (7 lentelė, 14 pav.). Geriausių rezultatų pasiekta gydant oktenidino dihidrochloridu – bakterijų skaičius žaizdų nuoplovose gydymo kurso metu sumažėjo 99,98 proc.

7 lentelė. Žiurkių žaizdų nuoplovų mikrobiologinių pasėlių rezultatai

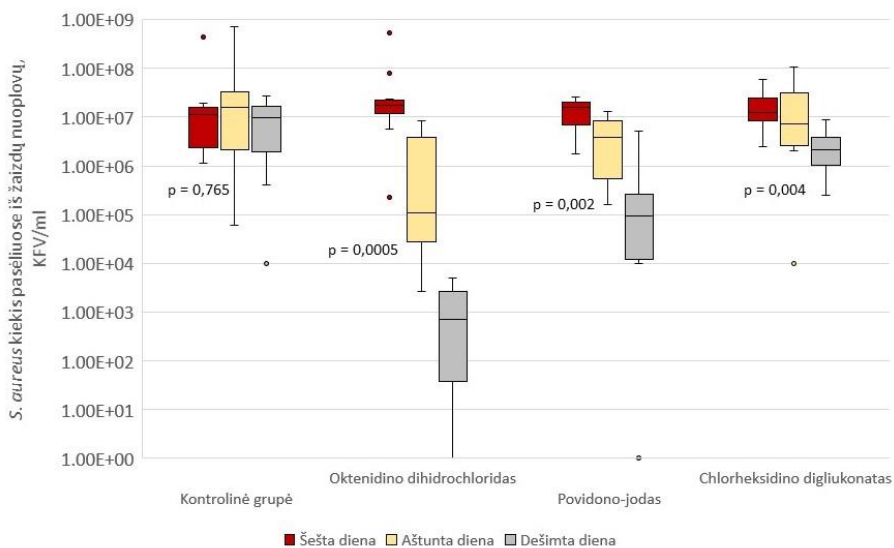
Antiseptikas	KFV/ml prieš gydymą, mediana	KFV/ml prieš gydymą, TKP*	KFV/ml baigus gydymą, mediana	KFV/ml baigus gydymą, TKP*	KFV/ml pokytis proc.	p vertė
Kontrolinė grupė	1,13 x 10 ⁷	1,63 x 10 ⁷	9,70 x 10 ⁶	1,61 x 10 ⁷	↑19,72	0,77
Oktenidino dihidrochloridas	1,77 x 10 ⁷	1,17 x 10 ⁷	1,14 x 10 ³	2,91 x 10 ³	↓99,98	<0,001
Povidono-jodas	1,59 x 10 ⁷	1,41 x 10 ⁷	9,39 x 10 ⁴	2,97 x 10 ⁵	↓90,73	0,002
Chlorheksidino digliukonatas	1,22 x 10 ⁷	2,19 x 10 ⁷	2,16 x 10 ⁶	3,17 x 10 ⁶	↓65,97	0,004

*TKP – tarpkvartilinis plotis

Lyginant su kontroline grupe, tik gydymas oktenidino dihidrochloridu statistiškai reikšmingai sumažino *S. aureus* KFV skaičių žaizdų nuoplovose ($p = 0,02$). Povidono-jodo veiksmingumas buvo arti statistinio reikšmingumo ribos ($p = 0,06$), o gydymo chlorheksidinu rezultatai nesiskyrė nuo kontrolinės grupės ($p = 0,13$).

Visiškas *S. aureus* išnaikinimas iš žaizdų nuoplovų buvo mikrobiologiškai patvirtintas dviem žiurkėms, gydytoms oktenidinu, ir vienai žiurkei, gydytai povidono-jodu.

Dideli *S. aureus* KFV kiekiai (svyruojantys nuo 1,08 x 10² iki 8,05 x 10⁷ KFV/ml) buvo aptikti po gydymo kurso pašalintuose kraujagyslių protezų lopinėliuose. Nerasta ryšio tarp *S. aureus* kiekio, rasto ant kraujagyslės protezų lopinėlių, ir tos pačios žiurkės *S. aureus* kiekio žaizdų nuoplovose.

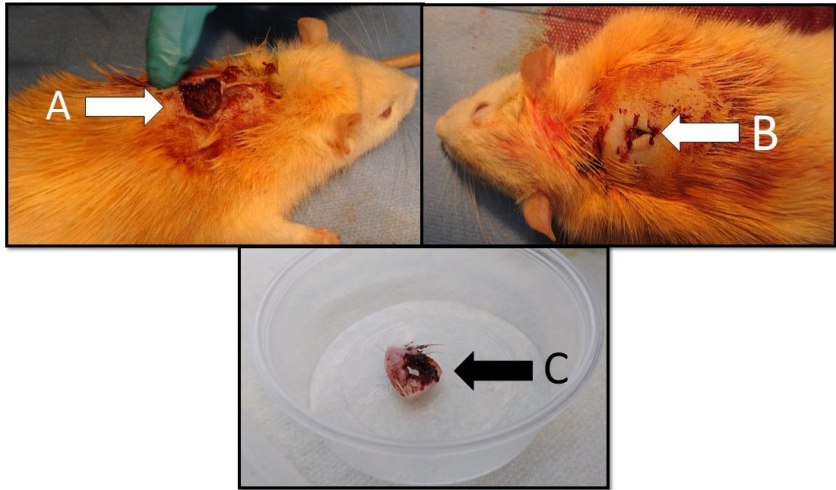


14 pav. *S. aureus* KFU/ml žaizdų nuoplovose kiekis gydymo kurso metu. *S. aureus* KFU/ml sumažėjo žiurkėms, gydytoms oktenidinu ($n = 12$, $p < 0,001$), povidono-jodu ($n = 10$, $p = 0,002$) ir chlorheksidinu ($n = 10$, $p = 0,004$). Kontrolinėje grupėje stebėtas nereikšmingas KFU/ml pokytis ($n = 11$, $p = 0,77$).

3.2.4 Išplėstiniai tyrimai su oktenidino dihidrochloridu

Papildoma analogiškų eksperimentų serija buvo atlikta su dar dešimties žiurkių grupe, gydymui panaudojant vien oktenidino dihidrochloridą. Visi gyvūnai išgyveno operaciją. Gydymo eigoje nebuvo pastebėta jokių reikšmingų kūno temperatūros pokyčių.

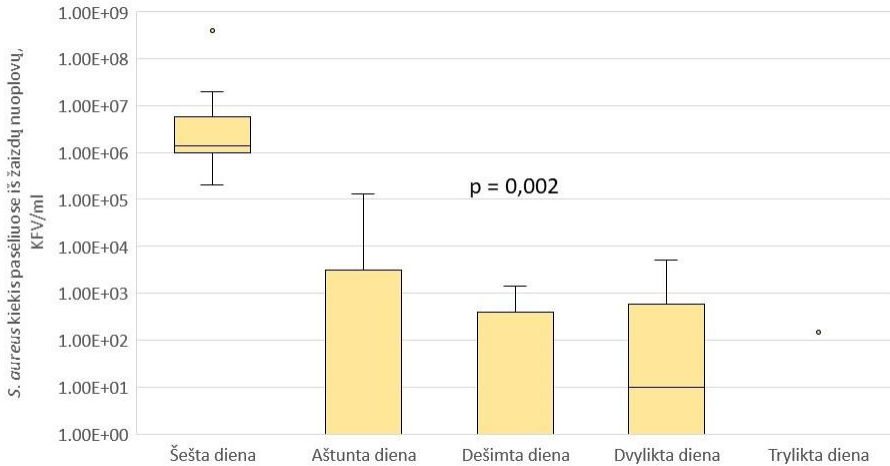
Šeštą eksperimento dieną visiems graužikams nugaros srityje aplink chirurginį pjūvį buvo susiformavęs infiltratas. Aplink jį nebuvo jokio paraudimo, oda buvo sugijusi, siulės sandarios. Didžiąjai daliai graužikų pjūvio vietoje buvo didesnis ar mažesnis šašas. Dviem žiurkėms buvo atsivėrusios pūlingos fistulės. Nuo dešimtos eksperimento dienos visi graužikai turėjo įvairaus dydžio šašus ir pūlingas fistules (15 pav.). Dvyliktą eksperimento dieną visiems gyvūnams per odos-poodžio fistules gausiai išsiskyrė pūlingo sekreto.



15 pav. Makroskopiniai žaizdų radiniai žiurkėms, gydytoms oktenidino dihidrochloridu (tryliktoji eksperimento diena): A – šašas, susiformavęs chirurginio pjūvio vietoje; B – chirurginio pjūvio vietoje susiformavusi odos-poodžio fistulė; C – rezekuota odos-poodžio fistulė histologiniam ir mikrobiologiniam ištyrimui.

Eksperimento metu registruotas reikšmingas žiurkių kūno masės sumažėjimas 9,27 proc. (suporuotų imčių t-testas, $p < 0,001$). Kūno masės vidurkis pirmą eksperimento dieną buvo $267,3 \pm 19,6$ g, o paskutinę (tryliktoją dieną) – $242,2 \pm 18,3$ g.

Pradedant septynių dienų gydymo kursą oktenidino dihidrochloridu žiurkėms nustatytas *S. aureus* kiekis žaizdų nuoplovose – $M = 1,50 \times 10^6$, TKP = $6,17 \times 10^6$ KfV/ml. Baigus septynių dienų gydymo kursą devynioms iš dešimties žiurkių *S. aureus* bakterijos buvo išnaikintos iš žaizdų nuoplovų. Vienai žiurkei po gydymo kurso rasta 15 KfV/ml (16 pav.). Gydymo rezultatai – aukšto statistinio patikimumo (Wilcoxon t-testas, $p = 0,002$).

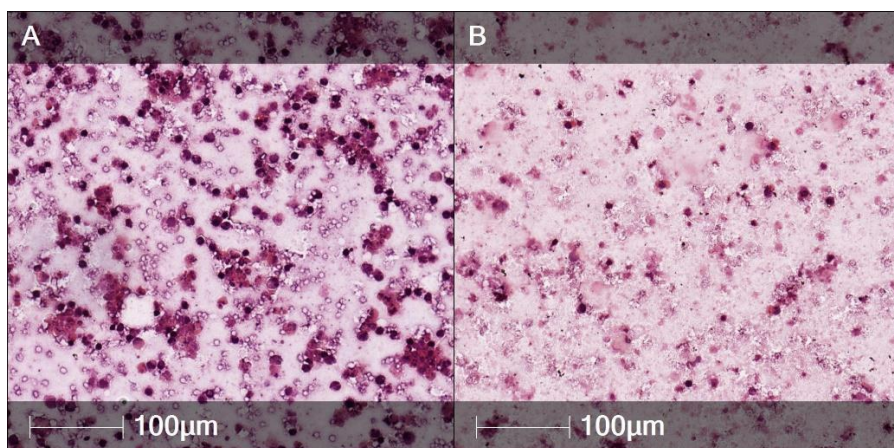


16 pav. Išplėstinio gydymo oktenidino dihidrochloridu rezultatai. Septynių dienų gydymo kursas reikšmingai sumažino *S. aureus* kiekį žaizdų nuoplovose (n = 10, p = 0,002).

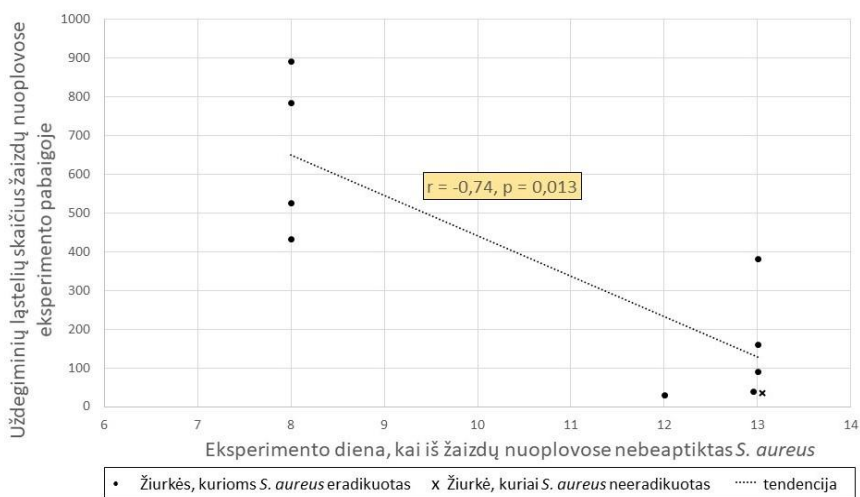
Pabaigus eksperimentą (tryliktą dieną), septynioms žiurkėms iš žaizdų pašalinti kraujagyslės protezo lopinėliai. Kitoms trimis žiurkėms kraujagyslės protezo lopinėliai išpūliavo ir iškrito per fistules dar nepasibaigus eksperimentui, todėl nebuvo galimybės juos mikrobiologiškai ištirti.

Vienos žiurkės kraujagyslės protezo lopinėlyje nebuvo rasta nei vienos *S. aureus* bakterijos. Kituose šešiuose protezo lopinėliuose KFV skaičius svyravo nuo 20 KFV/ml iki 2×10^7 KFV/ml (M = $8,00 \times 10^1$, TKP = $8,33 \times 10^6$ KFV/ml).

Skaitmeninė Gramo būdu dažytų neskiestų žaizdų nuoplovų citologinė analizė (17 pav.) atskleidė, kad didesnis uždegiminių ląstelių skaičius tryliktąją eksperimento dieną reikšmingai koreliavo su trumpesniu *S. aureus* išnaikinimo laiku (dienų skaičiumi, užtrukusiu pašalinti *S. aureus* iš žaizdų nuoplovų iki 0) (Spearman'o koreliacija, r = -0,74, p = 0,01, 18 pav.).



17 pav. Citologiniai neskiestų žaizdų nuoplovų tepinėliai, dažyti Gramo būdu. A – gausi uždegiminių ląstelių infiltracija, vyraujant PMN; B – vidutinio tankio uždegiminių ląstelių infiltracija, vyraujant PMN.



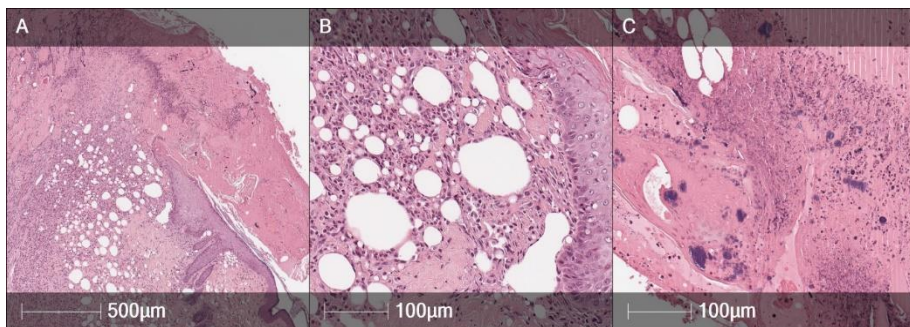
18 pav. Koreliacija tarp didelio uždegiminių ląstelių skaičiaus žaizdų nuoplovose eksperimento pabaigoje ir greitesnio *S. aureus* išnaikinimo laiko (Spearman'o koreliacija, $r = -0,74$, $p = 0,01$).

S. aureus diseminacijos kraujyje nerasta nei vienai žiurkei.

Bakterijų rasta devyniose iš dešimties odos-poodžio fistulių. *S. aureus* KfV skaičiaus mediana fistulėse buvo $1,20 \times 10^3$ (TKP = $2,85 \times 10^4$) KfV/ml/g.

Histologiškai nekrozės plotai odos-poodžio fistulių mėginiuose varijavo nuo 1,87 proc. iki 49,07 proc. (M = 17,33 proc., TKP = 17,14 proc.) be reikšmingo ryšio su žiurkės supūliavimo laipsniu ar atsaku į gydymą.

Histologiškai įvertinus fistulių bioptatus, dviejuose uždegimo nenustatyta (0 laipsnis), dviejuose rasta pavienė PMN infiltracija (I laipsnis), keturiuose – vidutinio tankio PMN infiltracija (II laipsnis), dviejuose – didelio tankio PMN infiltracija (III laipsnis). Uždegimo laipsnis nekoreliavo su nekrozės plotu fistulių audiniuose (Spearman'o koreliacija, $r = -0,07$, $p = 0,84$). Reprezentaciniai odos-poodžio fistulių histologiniai atvaizdai pavaizduoti 19 pav.

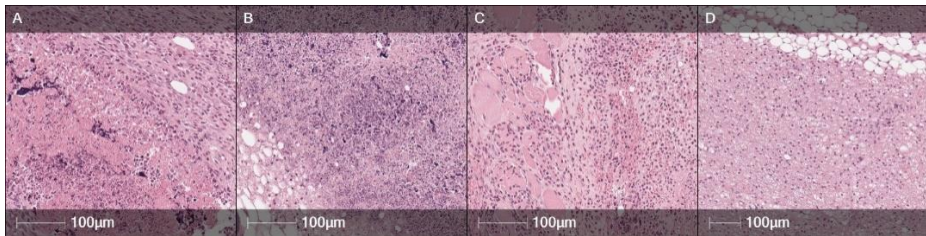


19 pav. Odos-poodžio fistulių histologiniai preparatai, dažyti hematoksilinu – eozinu. A – epidermis padengtas šašu; B – PMN infiltracija dermoje; C – bakterijų kolonijų sankaupos šaše.

Nekrozės plotas minkštųjų audinių mėginiuose varijavo nuo 0 iki 22,48 proc., (M = 1,50 proc., TKP = 11,59 proc.). Pagal uždegimo tipą ir laipsnį, keturioms žiurkėms nustatytas ksantogranuliomatozinis uždegimas, trims – vidutinė, vienai – reta, dviem – jokios PMN infiltracijos (8 lentelė, 20 pav.).

8 lentelė. Histologinis minkštųjų audinių įvertinimas žiurkėms, gydytoms oktenidino dihidrochloridu

Žiurkės numeris	Nekrozės plotas minkštųjų audinių bioplate, proc.	Uždegimo tipas minkštuosiuose audiniuose
1	1,90	Reta PMN infiltracija
2	0	Ksantogranuliomatozinis uždegimas
3	11,58	Ksantogranuliomatozinis uždegimas
4	0	Ksantogranuliomatozinis uždegimas
5	1,17	Nėra
6	20,77	Reta PMN infiltracija
7	0	Ksantogranuliomatozinis uždegimas
8	0	Nėra
9	22,48	Vidutinio tankio PMN infiltracija
10	10,04	Reta PMN infiltracija



20 pav. Minkštųjų audinių histologiniai preparatai, dažyti hematoksilinu – eozinu. A – minkštųjų audinių nekrozė (kairėje), PMN infiltracija, fibroblastų proliferacija (dešinėje); B – minkštųjų audinių nekrozė; C – PMN tarp skersaruožių raumenų skaidulų (kairėje), eritrocitai ir PMN infiltracija (dešinėje); D – makrofagų infiltracija (ksantogranuliomatozinis uždegimas) minkštuosiuose audiniuose.

4. REZULTATŲ APTARIMAS

Pastaruosius keletą dešimtmečių bakterijų bioplėvelės gana intensyviai tyrinėtos daugelio pasaulio mokslininkų. Jau plačiai pripažinta, kad jos yra viena iš pagrindinių neefektyvaus antimikrobinio gydymo ir infekcijos atsinaujinimo priežasčių. Bakterijų bioplėvelė – sudėtinga struktūra, susidedanti iš bakterijų ir jų gaminamo polisacharidinio matrikso, kurie yra susijungę tarpusavyje tvirtomis polimerinėmis jungtimis. Klinikinėse situacijose bioplėvelės randamos prisitvirtinusios prie įvairių organizmo paviršių, o ypač linkusios kolonizuoti jame esančius implantus, pvz., kraujagyslių protezus [20, 32, 110].

Bakterijos pradeda burtis ir formuoti bioplėveles tose vietose, kur yra pakankamai deguonies ir maisto medžiagų, todėl jos dažnai aptinkamos chirurginėse, o dar dažniau – lėtinėse žaizdose. Bioplėvelės susiformavimas ant kraujagyslės protezo yra viena iš sunkiausiai išsprendžiamų problemų gydant KPI, nes bakterijos bioplėvelės sudėtyje yra daug atsparesnės aplinkos poveikiui.

Tyrinėjant bioplėveles nustatytos kelios joms būdingos išlikimo strategijos: pirma, sulėtėja dalies į bioplėvelių sudėtį įeinančių bakterijų medžiagų apykaita ir dauginimosi greitis, todėl jas silpniau veikia antibiotikai, kurių taikynys – greitai besidauginančios bakterijos [90, 91]. Antra, bioplėvelės apvalkalo struktūros sulaiko šeimininko antikūnų prasiskverbimą, todėl imuninei sistemai susidoroti su infekcija tampa ypač sudėtinga [180]. Literatūroje randama duomenų, kad *S. aureus* bakterijos bioplėvelės struktūroje gali būti iki 1000 kartų atsparesnės antibiotikams nei tos pačios bakterijos planktoninė forma [191, 192].

Kadangi dauguma ligonių, kuriems supūliuoja kraujagyslės protezai, turi daug gretutinių ligų, kartais yra saugiau susilaikyti nuo kraujagyslės protezo šalinimo operacijos [164]. Klinikinėje praktikoje bandoma keletas skirtingų konservatyvaus KPI gydymo metodų (NSŽT, žaizdų plovimas antibiotikais, antiseptikais ar 0,9 proc. natrio chlorido tirpalu, antibiotikais impregnuotų karoliukų dėjimas į žaizdą) ir literatūroje pateikiami mažų imčių pacientų rezultatai. Vienas iš konservatyvaus KPI gydymo būdų yra žaizdos plovimas antiseptiniais tirpalais.

Adaptavus literatūroje aprašytus metodus [10, 20, 22, 28, 117, 191], sukurti inovatyvūs *in vitro* ir *in vivo* tyrimų modeliai, tyrinėjantys įprastai klinikinėje praktikoje naudojamų antiseptikų poveikį *S. aureus* bioplėvelėms.

4.1 *In vitro* eksperimentų rezultatų aptarimas

In vitro eksperimentams pasirinkti plačiai klinikinėje praktikoje naudojamų antiseptikų tirpalai. Sukūrus skirtingas eksperimentines sąlygas, tirtas antiseptikų veiksmingumas ardant *S. aureus* bioplėvelių struktūrą bei veikiant bioplėvelių sudėtyje esančių bakterijų gyvybingumą. *S. aureus* eksperimentams pasirinktas dėl to, kad yra dažniausias artimuoju pooperaciniu laikotarpiu išsivystančių KPI sukėlėjas [5, 17, 44, 94].

Tyrimui atsirenkant bioplėveles formuojančias *S. aureus* padermes buvo naudinga kiekybinė spektrofotometrinė kristalvioleto absorbcijos analizė. Atrinkus tris gausiausiai bioplėveles formavusias *S. aureus* padermes vykdyti tolimesni tyrimai.

Stiprus bioplėvelių struktūrą ardantis poveikis pastebėtas 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalu paveikus visų trijų tiriamų *S. aureus* padermių bioplėveles, susiformavusias ant dengiamųjų stikliukų mitybinėje terpėje. Oktenidino ir povidono-jodo poveikis bioplėvelių struktūrai buvo minimalus ir reikšmingai nesiskyrė nuo kontrolinės grupės.

Tam, kad eksperimentinėmis sąlygomis susiformuotų bioplėvelių struktūros, randamos žaizdose, ir būtų įvertintas antiseptikų efektyvumas veikiant į bioplėvelių sudėtį įeinančias bakterijas, modifikuotas ir adaptuotas Lubbock'o lėtinės žaizdos patogeninių bioplėvelių modelis.

Užaugintos terpėje, turinčioje eritrocitų, kraujo plazmos ir maisto medžiagų, bioplėvelės veiktos antiseptiniais tirpalais. Tokiomis aplinkos sąlygomis oktenidino dihydrochloridas išnaikino visas visų trijų *S. aureus* padermių bakterijas. Povidono-jodas išnaikino visas 215N padermės bakterijas, bet išliko keletas A7189 ir ATCC 25923 *S. aureus* padermių bakterijų. Tuo tarpu chlorheksidino poveikis šiomis aplinkos sąlygomis buvo žymiai prastesnis. Šis radinys sutampa su literatūroje pateikiamais duomenimis, kad antimikrobinį chlorheksidino aktyvumą sutrikdo aplinkoje esantys baltymai [193]. Skirtingi autoriai aprašo chlorheksidino privalumus: plataus spektro baktericidinį aktyvumą, retai sukeliama audinių dirginimą, pigumą, tačiau nuolat pabrėžiamas pagrindinis jo trūkumas – jautrumas aplinkos pH [193, 194].

Ekspimento radinius papildė literatūroje aprašyti kitų autorių tyrimų rezultatai. Tyrimas, kurį atliko Amalaradjou ir bendr. [195], fokusavosi į oktenidino hidrochlorido antimikrobinį aktyvumą veikiant didelio atsparumo MASA ir vankomicinui atsparaus *S. aureus* padermes. Tyrimų rezultatai atskleidė stiprų šio antiseptiko antimikrobinį efektą ir jo aktyvumas nebuvo paveiktas terpėje esančių baltymų, pvz., kraujo serumo.

Modifikuoto Lubbock'o modelio sąlygomis taip pat nustatytas ir labai stiprus antimikrobinis povidono-jodo veikimas. Po jo aplikacijos terpėje rasta mažai arba visai nerasta bakterijų, įėjusių į skirtingų *S. aureus* padermių bioplėvelių sudėtį. Hoekstra ir bendr. [196] tyrimas atskleidė panašius rezultatus, išryškindamas neskiesto povidono-jodo stiprų antimikrobinį aktyvumą veikiant *S. aureus* bioplėveles. Pagrindinis literatūros šaltiniuose aprašomas povidono-jodo trūkumas yra citotoksinis poveikis audiniams. Liu ir bendr. [197] pastebėjo ryškų povidono-jodo citotoksinį poveikį osteoblastams, fibroblastams ir mioblastams *in vitro*. Jų duomenimis, antiseptiko citotoksiškumas audiniams gali sutrikdyti tolimesnį žaizdos gijimą ir būti svarbia implantato atmetimo priežastimi dėl pakitusios fibroblastų migracijos.

KPI gydymą ir pacientų sveikimą dažnai apsunkina rimtos pacientų gretutinės ligos bei iš dalies paties kraujagyslės protezo struktūra. Šiam tyrimui pasirinktas vienas dažniausiai klinikinėje praktikoje naudojamų kraujagyslės protezų – neimpregnuotas austas dakronas. Ištirta, kad bakterijų adhezija prie dakrono protezų yra 10-100 kartų didesnė nei prie PTFE protezų [53]. Nors nėra studijų, kurios patvirtintų, kad ryškiai skiriasi infekcijos dažniai tarp kraujagyslės protezų tipų [198], svarstoma, kad dakrono protezai dėl savo struktūros sukuria didesnę adhezijos plotą trombocitams ir fibrinui negu PTFE protezai. Trombocitų, fibrino ir leukocitų sankaupos ant protezo sukuria nelygų paviršių, palankų bakterijoms prisitvirtinti ir infekciniam procesui prasidėti [94, 199]. Turgut ir bendr. [24] patvirtino, kad *S. epidermidis*, *S. aureus* ir *E. coli* labiau linkusios tvirtintis prie dakrono nei PTFE protezų. Swain ir bendr. [35] papildė, kad PTFE lengviau pasiduoda infekcijos išnaikinimui.

Šio tyrimo metu Lubbock'o modelis buvo sėkmingai modifikuotas ir panaudotas KPI *in vitro* modeliui sukurti. Visi naudoti antiseptikai pademonstravo panašų veiksmingumą, slopinant bakterijų dauginimąsi ant kraujagyslės protezo, tačiau jų poveikis buvo žymiai silpnesnis nei eksperimentuose su bioplėvelėmis be kraujagyslės protezų. Eksperimento rezultatai patvirtina hipotezę, kad kraujagyslės protezo buvimas žaizdoje ar *in vitro* sąlygomis padidina paviršiaus plotą bakterijų adhezijai ir pablogina antiseptikų prieinamumą. Lyginant su kontroline grupe, stebimas ryškus visų antiseptikų antimikrobinis veikimas, sustabdęs bakterijų dauginimąsi, tačiau antiseptikų veiksmingumas tarpusavyje nesiskyrė. Vienkartinė antiseptikų aplikacija nebuvo pakankama visiškai pašalinti *S. aureus* bioplėveles nuo kraujagyslės protezų.

Literatūros šaltiniuose nerasta aprašyto eksperimentinio modelio, kuris *in vitro* sąlygomis simuliuotų KPI. Šio tyrimo metu pavyko sukurti naują,

inovatyvų KPI modelį *in vitro*, modifikuojant ir adaptuojant Lubbock'o lėtinės žaizdos patogeninių bioplėvelių modelį. Žaizdai artimoje terpėje *S. aureus* bioplėvelės užaugintos ant kraujagyslės protezo lopinėlių, o jų atvaizdai užfiksuoti SEM. Bioplėvelių struktūros, prisitvirtinusios prie austo kraujagyslės protezo gijų, panašios į bioplėveles, randamas ir ant kitokio tipo implantų [200].

4.2 *In vivo* eksperimentų rezultatų aptarimas

Literatūros šaltiniuose apstu nesėkmingų eksperimentų aprašymų, bandant žiurkėms ar kitiems graužikams sukelti bei palaikyti žaizdos infekciją, nenaudojant svetimkūnio ar netaikant imunosupresijos. Dėl šios priežasties medicininio implanto panaudojimas gana dažnas, siekiant eksperimentinėmis sąlygomis sukelti *S. aureus* užkrėstos žaizdos infekcinį procesą [201-204].

Žmonėms žaizdų infekcinė dozė laikoma $\sim 10^5$ KFV/g bakterijų [205]. Pastebėta, kad dėl imuninės sistemos ypatumų graužikams infekcinė dozė turi būti didesnė [21]. Teplitz ir bendr. [206] aprašo, kad žiurkių užkrėtimas 10^5 KFV/g *P. aeruginosa*, siekiant sukelti sepsį, baigėsi žaizdos paviršiaus kolonizacija bakterijomis ir uždegimo neišprovokavo. Infekcinį procesą pavyko sukelti panaudojus 10^{8-9} KFV/g *P. aeruginosa*. Taip pat aprašoma pastebėjimų, kad didžioji dalis mažo virulentiškumo *S. aureus* štamu infekuotų odos žaizdų triušiams sugyja savaime per 14 dienų po inokuliacijos [207].

Siekiant sukurti sėkmingą ir atkartojamą eksperimentinį gyvūninį modelį su chirurginės žaizdos infekcija, vienas kertinių tyrimo uždavinių – pasirinkti tinkamą infekcinę dozę. Per maža infekcinė dozė gali būti nepakankama išprovokuoti aktyvų infekcinį procesą, o tiesiog kolonizuoti žaizdą mikrobais. Žaizdos kolonizacija nustatoma, kai randamas infekcijos sukėlėjas, tačiau audinių pažeidimo nėra, tuo tarpu aktyviam infekciniam procesui būdingas audinių pažeidimas [208]. Pastebėta, kad žaizdos kolonizacija mikroorganizmais gali suaktyvinti šeimininko imuninį atsaką ir paspartinti savaiminį žaizdos gijimą. Tačiau per didelės infekcinės dozės dažnai baigiasi gyvūnų žūtimi [21, 176, 208-210].

Mūsų eksperimente naudotoms Wistar klono žiurkėms ūminė chirurginės žaizdos infekcija sukelta implantavus dakrono protezo lopinėlių. Verta paminėti, kad paruošiamųjų tyrimų metu bandymai žiurkėms sukelti žaizdos infekciją, panaudojant bioplėvelę formuojančios *S. aureus* 215N padermės 1, 3 ir 5 McFarland'o drumstumą atitinkančias suspensijas, baigėsi nesėkmingai. Taip kilo idėja kraujagyslės protezo lopinėlių pasirinkti kaip svetimkūnį, palaikantį

žaizdos infekciją. Paruošiamųjų bandymų metu panaudojus protezo lopinėlių ir tų pačių koncentracijų *S. aureus* suspensijas tolimesniems eksperimentams pasirinkta 5 McFarland'ų drumstumą atitinkanti infekcinė dozė. Eliza ir bendr. [211] panašaus tyrimo metu, implantuodami 2 x 2 cm keturių skirtingų kraujagyslės protezų tipų lopinėlius žiurkėse, naudojo 1 McFarland'o drumstumą atitinkančią *S. aureus* dozę.

Gyvūnų amžius šiam eksperimentui pasirinktas neatsitiktinai. Kai kuriose mokslinėse publikacijose lygintas skirtingo amžiaus žiurkių jautrumas infekcijai. Cross ir bendr. [212] aprašo, kad palyginus septynių mėnesių amžiaus žiurkės su trijų-keturių mėnesių amžiaus gyvūnais pastebėtas lėtesnis žaizdų gijimas vyresnėms. Tuo tarpu Alemaan ir bendr. [213] aprašo, kad septynių savaičių amžiaus žiurkių leukocitų kiekis nesiskiria nuo šešių mėnesių amžiaus individų. Norint išvengti galimų skirtumų, visi mūsų eksperimente naudoti gyvūnai buvo ne jaunesni nei trijų ir ne vyresni nei šešių mėnesių amžiaus.

Šiame eksperimente išoriškai žiurkių žaizdos atrodė panašiai kaip ir kituose literatūroje aprašytuose eksperimentuose su gyvūnais, kur gydoma chirurginės žaizdos infekcija ar KPI. Kadangi žiurkių žaizdos buvo užsiūtos, uždegiminiai infiltratai ir abscesai susiformavo poodyje. Tokie makroskopiniai žaizdos radiniai yra būdingi stafilokokinei infekcijai. Pūlingų žaizdų ar absceso susiformavimas aplink patogeno patekimo vietą atsiranda dėl neutrofilų infiltracijos [214].

Panašų į mūsų eksperimentą atliko Eliza ir bendr. [211]. Tyrimas, vykdytas keturias savaites, atskleidė, kad KPI žiurkėms, sukelta meticilinui jautrių *S. aureus* padermių, turi tendenciją sugyti pati per 14 dienų. Nors savo tyrime Eliza ir bendr. [211] kraujagyslės protezo lopinėlius monofilamento siūlais prisiuvo prie raumens fascijos, didžioji dalis protezo lopinėlių iš žaizdų pašalino savaime iki ketvirtos eksperimento savaitės. Ištyrus kraujo pasėlius rasta, kad *S. aureus*, priešingai nei *E. coli*, neišsisėjo į kraują.

Publikacijoje apie lėtinių infekuotų žaizdų gydymą Zhao ir bendr. [180] aprašo, kad net ir išnaikinus bakterijas iš žaizdos audinių, daug gyvybingų mikrobus išlieka šašuose. Aprašytas radinys sutampa su mūsų atlikto eksperimento histologinio audinių ištyrimo rezultatais.

Mūsų tyrimo metu išanalizavus kontrolinės grupės gydymo rezultatus paaiškėjo, kad žiurkės nepradėjo sveikti pačios, nes dideli *S. aureus* kiekiai žaizdų nuoplovose išliko iki pat tyrimo pabaigos. Todėl galima daryti prielaidą, jog gydymo eigoje bakterijų skaičius reikšmingai sumažėjo dėl gydymo antiseptikais, o ne dėl mechaninio plovimo ar žiurkių imuninės sistemos atsako.

Literatūroje plačiai diskutuojama, kad teigiami mikrobiologiniai pasėliai ne visada atspindi žaizdos infekciją. Be klinikinių uždegimo ir infekcijos požymių, teigiamas pasėlis gali reikšti tiesiog žaizdos kolonizaciją mikrobais [21]. Norint įsitikinti, jog pavyko sukelti žaizdos infekciją, o ne kolonizaciją, papildomai atliktas žiurkių žaizdų nuoplovų citologinis ištyrimas bei žaizdų fistulių ir protezo aplinkos audinių histologinis įvertinimas. Įvairaus laipsnio polimorfonuklearinė infiltracija citologiniuose tepinėliuose ir minkštuosiuose audiniuose histologiškai patvirtino aktyvią protezo aplinkos audinių infekciją. Remiantis žaizdų nuoplovų citologiniu tyrimu, žiurkėms su agresyvesniu imuniniu atsaku iš žaizdų *S. aureus* buvo išnaikintas greičiau nei vangesnį imuninį atsaką turėjusioms žiurkėms.

Nors žiurkių gydymas oktenidino dihidrochloridu šiame eksperimente buvo labai sėkmingas ir išnaikino 99–100 proc. *S. aureus* bakterijų protezo aplinkos audiniuose, bakterijų pašalinimas iš paties kraujagyslės protezo buvo pasiektas tik vienai žiurkei. Taikant tą pačią metodiką ankstesnių darbų metu yra pavykę išnaikinti bakterijas iš paties protezo dar vienai žiurkei, taip pat gydytai oktenidino dihidrochloridu [215]. Siekiant įsitikinti, kad visos bakterijos išnaikintos iš protezo aplinkos audinių, būtų pravartu atlikti papildomą eksperimentų seriją ir ištirti ne vien žaizdų nuoplovas, bet ir pačius audinių mėginius mikrobiologiškai.

Histologiškai ištirtuose minkštųjų audinių mėginiuose rasta polimorfonuklearinė infiltracija, beveik pusei žiurkių nustatytas ksantogranuliomatozinis uždegimas. Radinius papildė literatūroje publikuoti duomenys, kad stafilokoko sukeltų infekcijų atvejais gilesnių audinių infekcijai būdinga infiltracija neutrofilais, o lėtinių žaizdų atvejais – besiformuojančios granulomos [216].

Apžvelgiant eksperimentą, iškyla klausimai, ar padidinus gyvūnų imtį arba pailginus gydymo trukmę padaugėtų kraujagyslės protezo lopinėlių sterilizavimo atvejų. Dėl žiurkėms būdingų rūšinių savybių (polinkio sveikti savaime), ilginti eksperimento trukmę nebuvo prasminga – jau po trylikos eksperimento dienų trys iš dešimt kraujagyslės protezo lopinėlių buvo pasišalinę per atsivėrusias fistules odoje.

Apibendrinant, sukurta sėkminga eksperimentinė metodika žiurkių KPI sukelti, užkratu pasirenkant bioplėvelę formuojančią *S. aureus* padermę. Tai yra iki šiol neaprašytas KPI gyvūnų modelis, kai gydymui pritaikyti daugkartiniai žaizdų plovimai antiseptiniais tirpalais. Septynių dienų gydymo kursas oktenidino dihidrochloridu išnaikino bakterijas iš žaizdų nuoplovų 90 proc. žiurkių ir iš vieno kraujagyslės protezo.

Nors gyvūnų žaizdų infekcijos modeliai išlieka svarbūs antimikrobinių vaistų tyrimuose, nes taikomi uždegimo sąlygomis gali atskleisti visai kitokius

rezultatus nei ant ląstelių kultūrų *in vitro* sąlygomis [66], svarbu pabrėžti, kad jie negali tiksliai reprezentuoti klinikinių atvejų. Daryti išvadas remiantis vien šiuo tyrimu apie antiseptikų efektyvumą gydant KPI pacientams būtų netikslu. Tam, kad plovimas antiseptiniais tirpalais būtų patvirtintas kaip efektyvus lokalaus KPI gydymo metodas pacientams, reikalingos klinikinės studijos.

IŠVADOS

1. *In vitro* sąlygomis reikšmingu *S. aureus* bioplėvelių struktūrą ardančiu poveikiu pasižymėjo 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato tirpalas.
2. *In vitro* sąlygomis imituojant pūlingą žaizdą su *S. aureus* bioplėvele stipriausias antimikrobinis efektas nustatytas veikiant 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido tirpalu. Labai stipriu antimikrobinium aktyvumu pasižymėjo 10 proc. povidono-jodas, tuo tarpu 0,02 proc. chlorheksidino digliukonato efektyvumas buvo menkas.
3. Eksperimentinis infekuoto austo kraujagyslės protezo modelis *in vitro* sukurtas modifikavus ir adaptavus literatūroje aprašytą Lubbock'o lėtinės žaizdos patogeninių bioplėvelių modelį, panaudojant austo dakrono lopinėlius ir bioplėveles formuojančias *S. aureus* padermes. Bioplėvelių susiformavimas ant kraujagyslės protezo lopinėlių patvirtintas skenuojančiu elektroniniu mikroskopu. KPI modelyje *in vitro* visi naudoti antiseptikai pasižymėjo panašiu antimikrobinium efektyvumu.
4. Panaudojant bioplėvelę formuojančią 215N *S. aureus* padermę sukeltas chirurginių žaizdų su austo kraujagyslės protezo lopinėliais supūliavimas Wistar klonu žiurkėms. Kasdieniais plovimais gydant pūlingas žiurkių žaizdas su dakrono lopinėliais efektyviausiu pripažintas 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido tirpalas.
5. Plaunant žaizdas 0,1 proc. oktenidino dihidrochloridu, septynių dienų gydymo kursas buvo pakankamas sterilizuoti devynių iš dešimt žiurkių protezo aplinkos audinius ir vieną kraujagyslės protezą. Citologiniai žaizdų nuoplovų tepinėliai ir audinių preparatų histologinė analizė patvirtino aktyvų uždegiminį procesą protezo aplinkos audiniuose.

PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

1. Eksperimentatoriams: tiriant vietiskai veikiančių medžiagų (antiseptikų, antibiotikų) efektyvumą gydant infekcijas rekomenduojame pasinaudoti mūsų sukurtais eksperimentiniais *in vitro* ir *in vivo* modeliais.
2. Gydytojams: *S. aureus* infekuotas žaizdas, kuriose gausu baltyminių produktų (leukocitų, detrito), rekomenduojama plauti su 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido arba 10 proc. povidono-jodo tirpalais.
3. Kraujagyslių chirurgams: gydant *S. aureus* sukeltą žaizdos infekciją su implantuotu kraujagyslės protezu rekomenduojame žaizdą plauti su 0,1 proc. oktenidino dihidrochlorido tirpalu, o žaizdą sanavus (remtis mikrobiologinių pasėlių rezultatais iš žaizdų nuoplovų) – infekuotą protezą šalinti ir pakeisti nauju.

DARBO TESTINUMAS

In vitro tyrimų metu išryškėjo labai ryškus *S. aureus* bioplėvelės struktūrą ardantis chlorheksidino poveikis ir labai stiprus oktenidino bei povidono-jodo antimikrobinis aktyvumas. Būtų pravartu *in vitro* sąlygomis veikiant *S. aureus* bioplėvelę ant kraujagyslės protezo išbandyti skirtingų antiseptikų kombinacijas. Tikimasi, kad eksperimento metu išryškėtų antiseptikų sinerginis poveikis ir *S. aureus* bioplėvelės naikinimas nuo protezo paviršiaus būtų efektyvesnis.

Kadangi vienkartinė antiseptikų aplikacija tik sustabdė bakterijų dauginimąsi ant kraujagyslės protezo, bet jų neišnaikino, būtų pravartu atlikti papildomą *in vitro* eksperimentų seriją, taikant pakartotines antiseptikų aplikacijas ant bioplėvele padengtų kraujagyslės protezų.

In vivo eksperimentuose per sąlyginai trumpą laiką (septynias dienas) pavyko pasiekti labai gerų rezultatų oktenidino dihidrochloridu naikinant *S. aureus* iš kraujagyslės protezo aplinkos. Nepaisant devynių iš dešimt sterilių žiurkių žaizdų pasėlių, pavyko sterilizuoti tik vieną kraujagyslės protezą. Padidinus eksperimentinę gyvūnų imtį būtų pravartu tyrimą pakartoti dėl dviejų priežasčių. Pirma, po gydymo mikrobiologiškai ištyrus daugiau kraujagyslės protezo lopinėlių paaiškėtų, ar protezo sterilizavimo atvejis mūsų eksperimente buvo atsitiktinis, ar gydymo efektyvumo procentas didėja. Antra, sulaukus neigiamo žaizdos pasėlio rezultato, reikėtų atlikti mikrobiologinį protezo aplinkos audinių ištyrimą. Įsitikinus, kad bioptatuose nelikę bakterijų, būtų galima implantuoti naują kraujagyslės protezo lopinėlių ar kito tipo kraujagyslės pakaitalą *in situ* ir stebėti, ar jis nesiinfekuos. Patvirtinus, kad plovimai oktenidino dihidrochloridu gali patikimai išnaikinti mikrobus iš protezo aplinkos audinių ir į buvusio infekuoto protezo vietą galima saugiai implantuoti naują kraujagyslės pakaitalą, siūlytume pradėti KPI gydymo žaizdos plovimais su oktenidinu klinikinę studiją.

Siekiant įvertinti citotoksinį oktenidino poveikį protezo aplinkos audiniams būtų pravartu suformuoti kontrolinę žiurkių grupę ir ją gydyti steriliu 0,9 proc. natrio chlorido tirpalu. Po gydymo kurso atlikus dviejų grupių protezo aplinkos audinių histologinę analizę būtų galima įvertinti citotoksinį oktenidino poveikį audiniams ir nutarti dėl tolimesnio preparato įdiegimo į KPI gydymą.

NAUDOTOS LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Revest M, Camou F, Senneville E, Caillon J, Laurent F, Calvet B et al. Medical treatment of prosthetic vascular graft infections: Review of the literature and proposals of a Working Group. *Int J Antimicrob Agents*. 2015;46(3):254-65.
2. FitzGerald SF, Kelly C, Humphreys H. Diagnosis and treatment of prosthetic aortic graft infections: confusion and inconsistency in the absence of evidence or consensus. *J Antimicrob Chemother*. 2005;56(6):996-9.
3. Seeger JM. Management of patients with prosthetic vascular graft infection. *Am Surg*. 2000;66(2):166-77.
4. Darouiche RO. Treatment of infections associated with surgical implants. *N Engl J Med*. 2004;350(14):1422-9.
5. Hasse B, Husmann L, Zinkernagel A, Weber R, Lachnat M, Mayer D. Vascular Graft Infections. *Swiss Med Wkly*. 2013;143:w13754.
6. Legout L, Sarraz-Bournet B, D'Elia PV, Devos P, Pasquet A, Caillaux M et al. Characteristics and prognosis in patients with prosthetic vascular graft infection: a prospective observational cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(4):352-8.
7. Leroy O, Meybeck A, Sarraz-Bournet B, D'Elia P, Legout L. Vascular graft infections. *Curr Opin Infect Dis*. 2012;25(2):154-8.
8. Vogel TR, Symons R, Flum DR. The incidence and factors associated with graft infection after aortic aneurysm repair. *J Vasc Surg*. 2008;47(2):264-
9. Gilbert V, Kelly T, Grossi R. Source control and graft preservation using negative pressure wound therapy with antibiotic instillation: A case report. *Cureus*. 2016;8(10):e855.
10. Mese B, Bozoglan O, Elveren S, Eroglu E, Gul M, Celik A et al. Efficacy of linezolid, teicoplanin, and vancomycin in prevention of an experimental polytetrafluoroethylene graft infection model caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Med Sci Monit*. 2015;21:909-14.
11. Erb S, Sidler JA, Elzi L, Gurke L, Battegay M, Widmer AF et al. Surgical and antimicrobial treatment of prosthetic vascular graft infections at different surgical sites: A retrospective study of treatment outcomes. *PLoS One*. 2014;9(11):e112947.
12. Dosluoglu HH, Schimpf DK, Schultz R, Cherr GS. Preservation of infected and exposed vascular grafts using vacuum assisted closure without muscle flap coverage. *J Vasc Surg*. 2005;42(5):989-92.
13. Edwards WH Jr, Martin RS, Jenkins JM, Edwards WH Sr, Mulherin JL Jr. Primary graft infections. *J Vasc Surg*. 1987;6(3):235-9.

14. Liekweg WG Jr, Greenfield LJ. Vascular prosthetic infections: collected experience and results of treatment. *Surgery*. 1977;81(3):335-42.
15. Cullinan M, Clarke M, Dallman T, Peart S, Wilson D, Weiland D. *Salmonella Typhimurium* gastroenteritis leading to chronic prosthetic vascular graft infection. *JMM Case Rep*. 2017;4(8):e005104.
16. Homer-Vanniasinkam S. Surgical site and vascular infections: treatment and prophylaxis. *Int J Infect Dis*. 2007;11 Suppl 1:S17-22.
17. Valentine RJ. Diagnosis and management of aortic graft infection. *Semin Vasc Surg*. 2001;14(4):292-301.
18. Kaebnick HW, Bandyk DF, Bergamini TW, Towne JB. The microbiology of explanted vascular prostheses. *Surgery*. 1987;102(4):756-62.
19. Gao H, Lund L, Prag J, Sandermann J, Lindholt JS. Laparoscopic diagnosis and treatment of aortic vascular prosthetic graft infections in a porcine model. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2008;35(1):41-5.
20. Rewatkar AR, Wadher BJ. *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* – Biofilm formation methods. *IOSR J Pharm Biol Sci*. 2013;8(5):36-40.
21. Asada M, Nakagami G, Minematsu T, Nagase T, Akase T, Huang L et al. Novel models for bacterial colonization and infection of full-thickness wounds in rats. *Wound Repair Regen*. 2012;20(4):601-10.
22. Sun Y, Dowd SE, Smith E, Rhoads DD, Wolcott RD. *In vitro* multispecies Lubbock chronic wound biofilm model. *Wound Repair Regen*. 2008;16(6):805-13.
23. Arciola CR, Campoccia D, Montanaro L. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(7):397-409.
24. Turgut H, Sacar S, Kaleli I, Sacar M, Goksin I, Toprak S et al. Systemic and local antibiotic prophylaxis in the prevention of *Staphylococcus epidermidis* graft infection. *BMC Infect Dis*. 2005;5:91.
25. Ishikawa S, Katayama Y, Mishima H, Ohnishi K. Successful treatment of an infected new vascular graft. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2013;16(1):79-80.
26. Lawrence PF. Conservative treatment of aortic graft infection. *Semin Vasc Surg*. 2011;24(4):199-204.
27. Thermann F, Wollert U. Continuous irrigation as a therapeutic option for graft infections of the groin. *World J Surg*. 2014;38(10):2589-96.
28. Darwish SF, Asfour HAE. Investigation of biofilm forming ability in *Staphylococci* causing bovine mastitis using phenotypic and genotypic assays. *Sci World J*. 2013;10:378492.

29. Melchior MB, Vaarkamp H, Fink-Gremmels J. Biofilms: A role in recurrent mastitis infections? *Vet J.* 2006;171(3):398-407.
30. Raza A, Muhammad G, Sharif S, Atta A. Biofilm producing *Staphylococcus aureus* and bovine mastitis: A review. *Mol Microbiol Res.* 2013;3(1):1-8.
31. Russell AD. Antibiotic and biocide resistance in bacteria: Introduction. *J Appl Microbiol.* 2002;92:S1-S3.
32. Daeschlein G. Antimicrobial and antiseptic strategies in wound management. *Int Wound J.* 2013;10 Suppl 1:9-14.
33. Ajdler-Schaeffler E, Scherrer AU, Keller PM, Anagnostopoulos A, Hofmann M, Rancic Z et al. Increased pathogen identification in vascular graft infections by the combined use of tissue cultures and 16s rRNA gene polymerase chain reaction. *Front Med.* 2018;5:169.
34. Wilson WR, Bower TC, Creager MA, Amin-Hanjani S, O’Gara PT, Lockhart PB et al. Vascular graft infections, mycotic Aneurysms, and endovascular infections: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2016;134(20):e412-60.
35. Swain TW, Calligaro KD, Dougherty MD. Management of infected aortic prosthetic grafts. *Vasc Endovascular Surg.* 2004;38(1):75-82.
36. Sullivan P. Michael DeBakey – cardiac surgery pioneer who saved thousands in his 70-year career. *San Francisco Chronicle.* 2008, July 13. Available at: <https://www.sfgate.com/news/article/Michael-DeBakey-cardiac-surgery-pioneer-who-3205311.php>
37. Schleimer K, Jalaie H, Afify M, Woitok A, Barbati ME, Hoeft K et al. Sheep models for evaluation of novel patch and prosthesis material in vascular surgery: tips and tricks to avoid possible pitfalls. *Acta Vet Scand.* 2018;60(42):1-12.
38. Noon G DM. Vascular grafts. Sawyer ON COM, ed. New York: Appleton-Century-Crofts; 1978:177-184.
39. Campbell CD, Brooks DH, Webster MW, Bahnson HT. The use of expanded microporous polytetrafluoroethylene for limb salvage: a preliminary report. *Surgery.* 1976;79(5):485-91.
40. Gharamti A, Kanafani ZA. Vascular graft infections: An update. *Infect Dis Clin North Am.* 2018;32(4):789-809.
41. Saleem BR, Meerwaldt R, Tielliu IF, Verhoeven EL, van den Dungen JJ, Zeebregts CJ. Conservative treatment of vascular prosthetic graft infection is associated with high mortality. *Am J Surg.* 2010;200(1):47-52.
42. Herrera FA, Kohanzadeh S, Nasser Y, Kansal N, Owens EL, Bodor R. Management of vascular graft infections with soft tissue flap coverage:

- Improving limb salvage rates – A veterans affairs experience. *Am Surg.* 2009;75(10):877-81.
43. Young MH, Upchurch GR, Malani PN. Vascular graft infections. *Infect Dis Clin North Am.* 2012;26(1):41-56.
44. Sousa JV, Antunes L, Mendes C, Marinho A, Goncalves A, Goncalves O et al. Prosthetic vascular graft infections: A center experience. *Angiol e Cir Vasc.* 2014;10(2):52-7.
45. Legout L, D'Elia PV, Sarraz-Bournet B, Haulon S, Meybeck A, Senneville E et al. Diagnosis and management of prosthetic vascular graft infections. *Med Mal Infect.* 2012;42(3):102-9.
46. Lorentzen JE, Nielsen OM, Arendrup H, Kimose HH, Bille S, Andersen J et al. Vascular graft infection: an analysis of sixty-two graft infections in 2411 consecutively implanted synthetic vascular grafts. *Surgery.* 1985;98(1):81-6.
47. Calligaro KD, Veith FJ, Schwartz ML, Dougherty MJ, DeLaurentis DA. Differences in early versus late extracavitary arterial graft infections. *J Vasc Surg.* 1995;22(6):680-5.
48. Antonios VS, Noel AA, Steckelberg JM, Wilson WR, Mandrekar J, Harmsen WS et al. Prosthetic vascular graft infection: a risk factor analysis using a case-control study. *J Infect.* 2006;53(1):49-55.
49. Turtiainen J, Saimanen E, Partio T, Karkkainen J, Kiviniemi V, Makinen K et al. Surgical wound infections after vascular surgery: prospective multicenter observational study. *Scand J Surg.* 2010;99(3):167-72.
50. Bandyk, Dennis F. MRB. Infection in prosthetic vascular grafts. Jack L. Cronenwett, Peter Gloviczki, K. Wayne Johnston, William C. Krupski, Kenneth Ouriel ANS, ed. Rutherford: Vascular Surgery. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005; Ch. 59.
51. Cherry KJ, Roland CF, Pairolero PC, Hallet JW, Meland NB, Naessens JM et al. Infected femorodistal bypass: is graft removal mandatory? *J Vasc Surg.* 1992;15(2):295-305.
52. Piano G. Infections in lower extremity vascular grafts. *Surg Clin North Am.* 1995;75(4):799-809.
53. Hicks RCJ, Greenhalgh RM. The pathogenesis of vascular graft infection. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1997;14 Suppl 1:5-9.
54. Szilagyi DE, Smith RF, Elliott JP, Vrandecic MP. Infection in arterial reconstruction with synthetic grafts. *Ann Surg.* 1972;176(3):321-33.
55. Keshelava G, Kovziridze D, Mkervalishvili A. Aortofemoral reconstruction for an infected graft using thrombosed femoral veins. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2018;55(2):288-9.

56. Samson RH, Veith FJ, Janko GS, Gupta SK, Scher LA. A modified classification and approach to the management of infections involving peripheral arterial prosthetic grafts. *J Vasc Surg.* 1988;8(2):147-53.
57. Van Meurs SJ, Gawlitta D, Heemstra KA, Poolman RW, Vogely HC, Kruyt MC. Selection of an optimal antiseptic solution for intraoperative irrigation: an *in vitro* study. *J Bone Joint Surg.* 2014;96(4):285-91.
58. Bucher BT, Warner BW, Dillon PA. Antibiotic prophylaxis and the prevention of surgical site infection. *Curr Opin Pediatr.* 2011;23(3):334-8.
59. Ward WG, Corey RM. To wash or not to wash: that is the question: Commentary on an article by S.J. van Meurs, MD, et al.: "Selection of an optimal antiseptic solution for intraoperative irrigation. An *in vitro* study." *J Bone Joint Surg.* 2014;96(4):e34.
60. Brown NM, Cipriano CA, Moric M, Sporer SM, Della Valle CJ. Dilute betadine lavage before closure for the prevention of acute postoperative deep periprosthetic joint infection. *J Arthroplasty.* 2012;27(1):27-30.
61. Cheng MT, Chang MC, Wang ST, Yu WK, Liu CL, Chen TH. Efficacy of dilute betadine solution irrigation in the prevention of postoperative infection of spinal surgery. *Spine.* 2005;30(15):1689-93.
62. Thomas GW, Rael LT, Bar-Or R, Shimonkevitz R, Mains CW, Slone DS et al. Mechanisms of delayed wound healing by commonly used antiseptics. *J Trauma.* 2009;66(1):82-90.
63. Hogegele AM, Neu J. Wound closure after irrigation with Octenisept® without possibility for drainage. *Unfallchirurg.* 2011;114(1):70-2.
64. Hülsemann W, Habenicht R. Severe side effects after Octenisept-irrigation of penetrating wounds in children. *Handchir Mikrochir Plast Chir.* 2009;41(5):277-82.
65. Müller G, Kramer A. Biocompatibility index of antiseptic agents by parallel assessment of antimicrobial activity and cellular cytotoxicity. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61(6):1281-7.
66. Hirsch T, Korber A, Jacobsen F, Dissemond J, Steinau HU, Gatermann SG et al. Evaluation of toxic side effects of clinically used skin antiseptics *in vitro*. *J Surg Res.* 2009;164(2):344-50.
67. Belo L, Serrano I, Cunha E, Carneiro C, Tavares L, Carreira LM et al. Skin asepsis protocols as a preventive measure of surgical site infections in dogs: chlorhexidine-alcohol versus povidone-iodine. *BMC Vet Res.* 2018;14(95):1-6.
68. Raja SG, Rochon M, Mullins C, Morais C, Kourliouros A, Wishart E et al. Impact of choice of skin preparation solution in cardiac surgery on rate of surgical site infection: a propensity score matched analysis. *J Infect Prev.*

2018;19(1):16-21.

69. Cruse PJ, Foord R. The epidemiology of wound infection. A 10-year prospective study of 62,939 wounds. *Surg Clin North Am.* 1980;(60):27-40.

70. Pitt HA, Postier RG, MacGowan AW, Frank LW, Surmak AJ, Sitzman JV et al. Prophylactic antibiotics in vascular surgery. Topical, systemic, or both? *Ann Surg.* 1980;192(3):356-64.

71. Kaiser AB, Clayson KR, Mulherin JL, Roach AC, Allen TR, Edwards WH et al. Antibiotic prophylaxis in vascular surgery. *Ann Surg.* 1978;188(3):283-9.

72. Hasselgren PO, Ivarsson L, Risberg B, Seeman T. Effects of prophylactic antibiotics in vascular surgery. A prospective, randomized, double blind study. *Ann Surg.* 1984;200(1):86-92.

73. Worning AM, Frimodt-Møller N, Ostri P, Nilsson T, Højholdt K, Frimodt-Møller C. Antibiotic prophylaxis in vascular reconstructive surgery: a double-blind placebo-controlled study. *J Antimicrob Chemother.* 1986;17(1):105-13.

74. Muller E, Takeda S, Goldmann DA, Pier GB. Blood proteins do not promote adherence of coagulase-negative *staphylococci* to biomaterials. *Infect Immun.* 1991;59(9):3323-6.

75. Kaiser AB, Haas DW. Antimicrobial prophylaxis of infections associated with foreign bodies. Infections associated with indwelling medical devices. Third Edition. ASM Press, Washington, DC. 2014;Ch19:395-406.

76. Classen DC, Evans RS, Pestotnik SL, Horn SD, Menlove RL, Burke JP. The Timing of prophylactic administration of antibiotics and the risk of surgical-wound Infection. *N Engl J Med.* 1992;326(5):281-6.

77. Russu E, Muresan A, Grigorescu B. Vascular graft infections management. *Manag Health.* 2011;15(3):16-9.

78. Stone PA, Back MR, Armstrong PA, Brumberg RS, Flaherty SK, Johnson BL et al. Evolving microbiology and treatment of extracavitary prosthetic graft infections. *Vasc Endovascular Surg.* 2009;42(6):537-44.

79. Sakaguchi H, Marui A, Hirose K, Nomura T, Arai Y, Bir SC et al. Less-invasive and highly effective method for preventing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* graft infection by local sustained release of vancomycin. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008;135(1):25-31.

80. Cowie SE, Ma I, Lee SK, Smith RM, Hsiang YN. Nosocomial MRSA infection in vascular surgery patients: impact on patient outcome. *Vasc Endovascular Surg.* 2005;39(4):327-34.

81. Bossi M, Tozzi M, Franchin M, Ferraro S, Rivolta N, Ferrario M et al. Cryopreserved human allografts for the reconstruction of aortic and peripheral

- prosthetic graft infection. *Ann Vasc Dis.* 2017;10(4):391-7.
82. Palma M, Nozohoor S, Schennings T, Heimdahl A, Flock JI. Lack of the extracellular 19-kilodalton fibrinogen-binding protein from *Staphylococcus aureus* decreases virulence in experimental wound infection. *Infect Immun.* 1996;64(12):5284-9.
83. Zetrenne E, McIntosh BC, McRae MH, Gusberg R, Evans GR, Narayan D. Prosthetic vascular graft infection: a multi-center review of surgical management. *Yale J Biol Med.* 2007;80(3):113-21.
84. Sharp WJ, Hoballah JJ, Mohan CR, Kresowik TF, Martinasevic M, Chalmers RTA et al. The management of the infected aortic prosthesis: a current decade of experience. *J Vasc Surg.* 1994;19(5):844-50.
85. Motte S, Bellens B, Rickaert F, Serruys E, Thys JP, Dereume JP. Vascular graft infection caused by *Aspergillus* species: case report and review of the literature. *J Vasc Surg.* 1993;17(3):607-12.
86. Doscher W, Krishnasastri KV, Deckoff SL. Fungal graft infections: case report and review of the literature. *J Vasc Surg.* 1987;6(4):398-402.
87. Dale BAS, McCormick JSC. *Mycoplasma hominis* wound infection following aortobifemoral bypass. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1991;5(2):213-4.
88. Gordon A, Conlon C, Collin J, Peto T, Gray D, Hands L et al. An eight year experience of conservative management for aortic graft sepsis. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1994;8(5):611-6.
89. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet.* 2001;358(9276):135-8.
90. Chan BK, Turner PE, Kim S, Mojibian HR, Elefteriades JA, Narayan D. Phage treatment of an aortic graft infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Evol Med Public Health.* 2018;2018(1):60-6.
91. Lewis K. Persister cells and the riddle of biofilm survival. *Biochem.* 2005;70(2):267-74.
92. Lyons OT, Baguneid M, Barwick TD, Bell RE, Foster N, Homer-Vanniasinkam S et al. Diagnosis of aortic graft infection: a case definition by the management of aortic graft infection collaboration (MAGIC). *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2016;52(6):758-63.
93. Bandyk DF, Berni GA, Thiele BL, Towne JB. Aortofemoral graft infection due to *Staphylococcus epidermidis*. *Arch Surg.* 1984;119(1):102-8.
94. Nagpal A, Sohail MR. Prosthetic vascular graft infections: a contemporary approach to diagnosis and management. *Curr Infect Dis Rep.* 2011;13(4):317-23.
95. Bandyk DF, Esses GE. Prosthetic graft infection. *Surg Clin North Am.*

1994;74(3):571-90.

96. Taher F, Assadian O, Hirsch K, Falkensammer J, Senekowitsch C, Assadian A. Aortofemoral vascular graft infections and their prevention. *Gefasschirurgie*. 2014;19(7):675-84.

97. Scherrer AU, Bloemberg G, Zbinden R, Zinkernagel AS, Fuchs C, Frauenfelder S et al. Prosthetic vascular graft infections: bacterial cultures from negative-pressure-wound-therapy foams do not improve diagnostics. *J Clin Microbiol*. 2016;54(8):2190-3.

98. Anagnostakos K, Mosser P. Bacteria identification on NPWT foams: clinical relevance or contamination? *J Wound Care*. 2012;21(7):333-4, 336-9.

99. Orton DF, LeVeen RF, Saigh JA, Culp WC, Fidler JL, Lynch TJ et al. Aortic prosthetic graft infections: radiologic manifestations and implications for management. *Radiographics*. 2000;20(4):977-93.

100. Liberatore M, Fiore V, Iurilli AP, Santini C, Baiocchi P, Galie M et al. The role of preoperative Tc-99m HMPAO-labeled leukocyte total-body scans in aortic prosthetic reconstruction. *Clin Nucl Med*. 2001;26(12):1024-7.

101. Modrall JG, Clagett GP. The role of imaging techniques in evaluating possible graft infections. *Semin Vasc Surg*. 1999;12(4):339-47.

102. Lawrence PF, Dries DJ, Alazraki N, Albo D. Indium 111-labeled leukocyte scanning for detection of prosthetic vascular graft infection. *J Vasc Surg*. 1985;2(1):165-73.

103. Calligaro KD, Veith FJ, Yuan JG, Gargiulo NJ, Dougherty MJ. Intra-abdominal aortic graft infection: complete or partial graft preservation in patients at very high risk. *J Vasc Surg*. 2003;38(6):1199-205.

104. Morris GE, Friend PJ, Vassallo DJ, Farrington M, Leapman S, Quick CRG. Antibiotic irrigation and conservative surgery for major aortic graft infection. *J Vasc Surg*. 1994;20(1):88-95.

105. Mayer D, Hasse B, Koelliker J, Enzler M, Veith FJ, Rancic Z et al. Long-term results of vascular graft and artery preserving treatment with negative pressure wound therapy in Szilagyi grade III infections justify a paradigm shift. *Ann Surg*. 2011;254(5):754-9.

106. Bunt TJ. Vascular graft infections: an update. *Cardiovasc Surg*. 2001;9(3):225-233.

107. Ewart JM, Burke ML, Bunt TJ. Spontaneous abdominal aortic infections. *Essentials of diagnosis and management*. *Am Surg*. 1983;49(1):37-50.

108. Yeager RA, Taylor LM, Moneta GL, Edwards JM, Nicoloff AD, McConnell DB et al. Improved results with conventional management of infrarenal aortic infection. *J Vasc Surg*. 1999;30(1):76-83.

109. Lesèche G, Castier Y, Petit MD, Bertrand P, Kitziis M, Mussot S et al. Long-term results of cryopreserved arterial allograft reconstruction in infected prosthetic grafts and mycotic aneurysms of the abdominal aorta. *J Vasc Surg.* 2001;34(4):616-22.
110. Herscu G, Wilson SE. Prosthetic infection: lessons from treatment of the infected vascular graft. *Surg Clin North Am.* 2009;89(2):391-401.
111. Batt M, Magne JL, Alric P, Muzj A, Ruotolo C, Ljungstorm KG et al. *In situ* revascularization with silver-coated polyester grafts to treat aortic infection: early and midterm results. *J Vasc Surg.* 2003;38:983-9.
112. Berger P, Moll FL. Aortic graft infections: is there still a role for axillobifemoral reconstruction? *Semin Vasc Surg.* 2011;24(4):205-10.
113. O'Hara PJ, Hertzner NR, Beven EG, Krajewski LP. Surgical management of infected abdominal aortic grafts: review of a 25-year experience. *J Vasc Surg.* 1986;3(5):725-31.
114. Javerliat I, Goëau-Brissonnière O, Bruneval P, Coggia M. Experimental study of a new vascular graft prebonded with antibiotic: healing, toxicity, and antibiotic Retention. *Ann Vasc Surg.* 2007;21(5):603-10.
115. Hayes P, Nasim A, London NJM, Collaboration M, Barrie WW, Bell PRF et al. *In situ* replacement of infected aortic grafts with rifampicin-bonded prostheses: The Leicester experience (1992 to 1998). *J Vasc Surg.* 1999;30(1):92-8.
116. Giacometti A, Cirioni O, Ghiselli R, Goffi L, Mocchegiani F, Riva A et al. Polycationic peptides as prophylactic agents against methicillin-susceptible or methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* vascular graft infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(12):3306-9.
117. Yasim A, Gul M, Atahan E, Ciragil P, Aral M, Ergun Y. Efficacy of vancomycin, teicoplanin and fusidic acid as prophylactic agents in prevention of vascular graft infection: an experimental study in rat. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2006;31(3):274-9.
118. Bisdas T, Wilhelmi M, Haverich A, Teebken OE. Cryopreserved arterial homografts vs silver-coated Dacron grafts for abdominal aortic infections with intraoperative evidence of microorganisms. *J Vasc Surg.* 2011;53(5):1274-81.
119. Brown KE, Heyer K, Rodriguez H, Eskandari MK, Pearce WH, Morasch MD. Arterial reconstruction with cryopreserved human allografts in the setting of infection: a single-center experience with midterm follow-up. *J Vasc Surg.* 2009;49(3):660-6.

120. Heinola I, Sörelä K, Wyss TR, Eldrup N, Settembre N, Setacci C et al. Open repair of mycotic abdominal aortic aneurysms with biological grafts: an international multicenter study. *J Am Heart Assoc.* 2018;7(12):e008104.
121. Owen K, Wilshaw SP, Homer-Vanniasinkam S, Bojar RA, Berry H, Ingham E. Assessment of the antimicrobial activity of acellular vascular grafts. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2012;43(5):573-81.
122. Wiltberger G, Matia I, Schmelzle M, Krenzien F, Hau HM, Freitas B et al. Mid- and long-term results after replacement of infected peripheral vascular prosthetic grafts with biosynthetic collagen prosthesis. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 2014;55(5):693-8.
123. Zenunaj G, Spataro C, Traina L, Gasbarro V. Biosynthetic graft failure to replace infected infrainguinal bypass as developing infection due to *Morganella morganii* leading to disrapture of the anastomosis. Case report. *Int J Surg Case Rep.* 2017;41:411-3.
124. De Donato G, Setacci F, Galzerano G, Ruzzi U, Borrelli MP, Mazzitelli G et al. Prosthesis infection: prevention and treatment. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 2014;55(6):779-92.
125. Touma J, Cochenec F, Parisot J, Fialaire Legendre A, Becquemin JP, Desgranges P. *In situ* reconstruction in native and prosthetic aortic infections using cryopreserved arterial allografts. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2014;48(3):292-9.
126. Bíró G, Szeberin Z, Nemes A, Acsády G. Cryopreserved homograft and autologous deep vein replacement for infrarenal aorto and iliaco-femoral graft infection: early and late results. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 2011;52(2):169-76.
127. Daenens K, Fourneau I, Nevelsteen A. Ten-year experience in autogenous reconstruction with the femoral vein in the treatment of aortofemoral prosthetic infection. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2003;25(3):240-5.
128. Heinola I, Kantonen I, Jaroma M, Alback A, Vikatmaa P, Aho P et al. Editor's choice - Treatment of aortic prosthesis infections by graft removal and *in situ* replacement with autologous femoral veins and fascial strengthening. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2016;51(2):232-9.
129. Chung J, Clagett GP. Neoaortoiliac system (NAIS) procedure for the treatment of the infected aortic graft. *Semin Vasc Surg.* 2011;24(4):220-6.
130. Vogt PR, Brunner-LaRocca HP, Lachat M, Ruef C, Turina MI. Technical details with the use of cryopreserved arterial allografts for aortic infection: influence on early and midterm mortality. *J Vasc Surg.* 2002;35:80-6.

131. Gabriel M, Pukacki F, Dzieciuchowicz L, Oszkini G, Chęciński P. Cryopreserved arterial allografts in the treatment of prosthetic graft infections. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004;27(6):590-6.
132. Castier Y, Francis F, Cerceau P, Besnard M, Albertin J, Fouilhe L et al. Cryopreserved arterial allograft reconstruction for peripheral graft infection. *J Vasc Surg.* 2005;41(1):30-7.
133. Aavik A, Lieberg J, Kals J, Pulges A, Kals M, Lepner U. Ten years experience of treating aorto-femoral bypass graft infection with venous allografts. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2008;36(4):432-7.
134. Randon C, Jacobs B, De Ryck F, Beele H, Vermassen F. Fifteen years of infrapopliteal arterial reconstructions with cryopreserved venous allografts for limb salvage. *J Vasc Surg.* 2010;51(4):869-77.
135. Camiade C, Goldschmidt P, Koskas F, Ricco JB, Jarraya M, Gerota J et al. Optimization of the resistance of arterial allografts to infection: comparative study with synthetic prostheses. *Ann Vasc Surg.* 2001;15(2):186-96.
136. Knosalla C, Goeau-Brissonniere O, Leflon V, Bruneval P, Eugene M, Pechere JC et al. Treatment of vascular graft infection by *in situ* replacement with cryopreserved aortic allografts: an experimental study. *J Vasc Surg.* 1998;27(4):689-98.
137. Koskas F, Goeau-Brissonniere O, Nicolas MH, Bacourt F, Kieffer E. Arteries from human beings are less infectible by *Staphylococcus aureus* than polytetrafluoroethylene in an aortic dog model. *J Vasc Surg.* 1996;23(3):472-6.
138. Czerny M, von Allmen R, Opfermann P, Sodeck G, Dick F, Stellmes A et al. Self-made pericardial tube graft: a new surgical concept for treatment of graft infections after thoracic and abdominal aortic procedures. *Ann Thorac Surg.* 2011;92(5):1657-62.
139. Weiss S, Tobler EL, von Tengg-Kobligk H, Makalovski V, Becker D, Carrel TP et al. Self made xeno-pericardial aortic tubes to treat native and aortic graft infections. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2017;54(5):646-52.
140. Kubota H, Endo H, Noma M, Ishii H, Tsuchiya H, Yoshimoto A et al. Xenopericardial roll graft replacement for infectious pseudoaneurysms and graft infections of the aorta. *J Cardiothorac Surg.* 2015;10(133):PMC4624649.
141. O'Connor S, Andrew P, Batt M, Becquemin JP. A systematic review and meta-analysis of treatments for aortic graft infection. *J Vasc Surg.* 2006;44(1):38-45.

142. Nakajima N, Masuda M, Ichinose M, Ando M. A new method for the treatment of graft infection in the thoracic aorta: *in situ* preservation. *Ann Thorac Surg.* 1999;67(6):1994-6.
143. Chiesa R, Astore D, Frigerio S, Garriboli L, Piccolo G, Castellano R et al. Vascular prosthetic graft infection: epidemiology, bacteriology, pathogenesis and treatment. *Acta Chir Belg.* 2002;102(4):238-47.
144. Turk R, Singh A, Rousseau J, Weese JS. *In vitro* evaluation of DispersinB on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* biofilm. *Vet Microbiol.* 2013;166(3-4):576-9.
145. Baltch AL, Ritz WJ, Bopp LH, Michelsen P, Smith RP. Activities of daptomycin and comparative antimicrobials, singly and in combination, against extracellular and intracellular *Staphylococcus aureus* and its stable small-colony variant in human monocyte-derived macrophages and in broth. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(5):1829-33.
146. Arnaiz de Las Revillas F, Fernandez-Sampedro M, Arnaiz-García AM, Gutierrez-Cuadra M, Arminanzas C et al. Daptomycin treatment in Gram-positive vascular graft infections. *Int J Infect Dis.* 2018;68:69-73.
147. Smith K, Perez A, Ramage G, Gemmell CG, Lang S. Comparison of biofilm-associated cell survival following *in vitro* exposure of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms to the antibiotics clindamycin, daptomycin, linezolid, tigecycline and vancomycin. *Int J Antimicrob Agents.* 2009;33(4):374-8.
148. Parra-Ruiz J, Vidailiac C, Rose WE, Rybak MJ. Activities of high-dose daptomycin, vancomycin, and moxifloxacin alone or in combination with clarithromycin or rifampin in a novel *in vitro* model of *Staphylococcus aureus* biofilm. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(10):4329-34.
149. Barberan J, Farinas MC. Daptomycin in complicated skin and soft tissue infections. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012; 30 Suppl 1:33-7.
150. Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, Jones RN. Analysis of 5-year trends in daptomycin activity tested against *Staphylococcus aureus* and *enterococci* from European and US hospitals (2009-2013). *J Glob Antimicrob Resist.* 2015;3(3):161-5.
151. Garrigós C, Murillo O, Euba G, Verdaguer R, Tubau F, Cabellos C et al. Efficacy of usual and high doses of daptomycin in combination with rifampin versus alternative therapies in experimental foreign-body infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(12):5251-6.

152. Tally FP, Zeckel M, Wasilewski MM, Claudio C, Berman CL, Drusano GL et al. Daptomycin: a novel agent for Gram-positive infections. *Expert Opin Investig Drugs*. 2005;8(8):1223-38.
153. Hardman S, Cope A, Swann A, Bell PRF, Naylor AR, Hayes PD. An *in vitro* model to compare the antimicrobial activity of silver-coated versus rifampicin-soaked vascular grafts. *Ann Vasc Surg*. 2004;18(3):308-13.
154. Vicaretti M, Hawthorne WJ, Ao PY, Fletcher JP. An increased concentration of rifampicin bonded to gelatin-sealed dacron reduces the incidence of subsequent graft infections following a *staphylococcal* challenge. *Vascular*. 1998;6(3):268-73.
155. Earnshaw JJ. The current role of rifampicin-impregnated grafts: pragmatism versus science. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2000;20(5):409-12.
156. Zimmerli W, Widmer AF, Blatter M, Frei R, Ochsner PE. Role of rifampin for treatment of orthopedic implant-related *staphylococcal* infections: a randomized controlled trial. *JAMA*. 1998;279(19):1537-41.
157. Berdal JE, Skråmm I, Mowinckel P, Gulbrandsen P, Bjørnholt JV. Use of rifampicin and ciprofloxacin combination therapy after surgical debridement in the treatment of early manifestation prosthetic joint infections. *Clin Microbiol Infect*. 2005;11(10):843-5.
158. Baddour LM. Long-term suppressive antimicrobial therapy for intravascular device-related infections. *Am J Med Sci*. 2001;322(4):209-12.
159. Roy D, Grove DI. Efficacy of long-term antibiotic suppressive therapy in proven or suspected infected abdominal aortic grafts. *J Infect*. 2000;40(2):184-7.
160. Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR, Cruz C, Lancaster MV, Robinson-Dunn B et al. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *N Engl J Med*. 1999;340(7):493-501.
161. Mertz PM, Oliveira-Gandia MF, Davis SC. The evaluation of a cadexomer iodine wound dressing on methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in acute wounds. *Dermatologic Surg*. 1999;25(2):89-93.
162. WHO. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery and development of new antibiotics. 2017; doi:10.1016/S1473-3099(09)70222-1.
163. Siracuse JJ, Nandivada P, Giles KA, Hamdan AD, Wyers MC, Chaikof EL et al. Prosthetic graft infections involving the femoral artery. *J Vasc Surg*. 2013;57(3):700-5.
164. Igari K, Kudo T, Toyofuku T, Jibiki M, Sugano N, Inoue Y. Treatment strategies for aortic and peripheral prosthetic graft infection. *Surg Today*. 2014;44(3):466-71.

165. Calligaro KD, Veith FJ, Schwartz ML, Goldsmith J, Savarese RP, Dougherty MJ et al. Selective preservation of infected prosthetic arterial grafts: analysis of a 20-year experience with 120 extracavitary-infected grafts. *Ann Surg.* 1994;220(4):461-9.
166. Quick CRG, Vassallo DJ, Colin JF, Heddle RM. Conservative treatment of major aortic graft infection. *Eur J Vasc Surg.* 1990;4(1):63-7.
167. Knight CD, Farnell MB, Hollier LH. Treatment of aortic graft infection with povidone-iodine irrigation. *Mayo Clin Proc.* 1983;58(7):472-5.
168. Labrie SJ, Samson JE, Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(5):317-27.
169. Vale PF, Little TJ. CRISPR-mediated phage resistance and the ghost of coevolution past. *Proc Biol Sci.* 2010;277(1691):2097-103.
170. Harper DR, Parracho HMRT, Walker J, Sharp R, Hughes G, Werthen M et al. Bacteriophages and biofilms. *Antibiotics (Basel).* 2014;3(3):270-84.
171. Chan BK, Abedon ST. Bacteriophages and their enzymes in biofilm control. *Curr Pharm Des.* 2015;21(1):85-99.
172. Abedon ST. Ecology of anti-biofilm agents I: Antibiotics versus bacteriophages. *Pharmaceuticals (Basel).* 2015;8(3):525-58.
173. Maze MJ, Laws P, Buckenham T, Pithie A, Gallagher K, Metcalf S et al. Outcomes of infected abdominal aortic grafts managed with antimicrobial therapy and graft retention in an unselected cohort. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2013;45(4):373-80.
174. Fujimura N, Obara H, Suda K, Takeuchi H, Matsuda S, Kurosawa T et al. A novel rat model of incisional surgical site infection model developed using absorbable multifilament thread inoculated with *Escherichia coli*. *J Infect Chemother.* 2015;21(4):312-5.
175. Tachi M, Hirabayashi S, Yonehara Y, Suzuki Y, Bowler P. Development of an experimental model of infected skin ulcer. *Int Wound J.* 2004;1(1):49-55.
176. Raju DR, Jindrak K, Weiner M, Enquist IF. A study of the critical bacterial inoculum to cause a stimulus to wound healing. *Surg Gynecol Obstet.* 1977;144(3):347-50.
177. Fallon MT, Shafer W, Jacob E. Use of cefazolin microspheres to treat localized methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in rats. *J Surg Res.* 1999;86(1):97-102.
178. McRipley RJ, Whitney RR. Characterization and quantitation of experimental surgical wound infections used to evaluate topical antibacterial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 1976;10(1):38-44.

179. Van Wijngaerden E, Peetermans WE, Vandersmissen J, Van Lierde S, Bobbaers H, Van Eldere J. Foreign body infection: a new rat model for prophylaxis and treatment. *J Antimicrob Chemother.* 1999;44(5):669-74.
180. Zhao G, Hochwalt PC, Usui ML, Underwood RA, Singh PK, James GA et al. Delayed wound healing in diabetic (db/db) mice with *Pseudomonas aeruginosa* biofilm challenge: a model for the study of chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 2010;18(5):467-77.
181. Atahan E, Katrancioğlu N, Berkan O, Manduz S, Dogan K, Oztop Y et al. Vascular graft infection by *Staphylococcus aureus*: efficacy of linezolid, teicoplanin and vancomycin systemic prophylaxis protocols in a rat model. *Cardiovasc J Afr.* 2009;20(2):122-5.
182. Gao H, Sandermann J, Prag J, Lund L, Lindholt JS. Prevention of primary vascular graft infection with silver-coated polyester graft in a porcine model. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2010;39(4):472-7.
183. Fleming A. The action of chemical and physiological antiseptics in a septic wound. *Brit J Surg.* 1919;7(25):99-129.
184. Langer S, Sedigh M, Goertz O, Steinau HU, Steinstraesser L, Homann HH. The impact of topical antiseptics on skin microcirculation. *Eur J Med Res.* 2004;9(9):449-54.
185. Antušėvas A. Kraujagyslių protezų infekcija. *Problema išlieka. Medicina.* 1999;35:1206-11.
186. Galdikas J, Triponis V, Triponienė D. Sintetinių kraujagyslių protezų infekcija. *Sveikatos Apsauga.* 1986;(9):29-31.
187. Triponis V, Dagilaitis R. Vėlyvos kraujagyslių protezų infekcijos tyrimai. *Medicinos teorija ir praktika.* 2002;4(32):276-80.
188. Antušėvas A, Noreika RK. Sintetinių kraujagyslių protezų modifikavimas žmogaus kolagenu. *Medicina.* 2000;(36):560-5.
189. Antušėvas A, Pavilionis A. Kolageno-gentamicino kompleksu impregnuotų sintetinių kraujagyslių protezų antimikrobinio efektyvumo įvertinimas. *Visuomenės sveikata.* 1999; Suppl 1:53-69.
190. Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase negative *staphylococci*. *J Clin Pathol.* 1989;42(8):872-4.
191. Metzler A. Developing a crystal violet assay to quantify biofilm production capabilities of *Staphylococcus aureus* (thesis). 2016. Available from: <https://kb.osu.edu/handle/1811/76620>.
192. Clutterbuck AL, Woods EJ, Knottenbelt DC, Clegg PD, Cochrane CA, Percival SL. Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Vet Microbiol.* 2007;121(1-2):1-17.

193. Russell AD, Day MJ. Antibacterial activity of chlorhexidine. *J Hosp Infect.* 1993;25(4):229-38.
194. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12(1):147-79.
195. Amalaradjou MAR, Venkitanarayanan K. Antibiofilm effect of octenidine hydrochloride on *Staphylococcus aureus*, MRSA and VRSA. *Pathogens.* 2014;3(2):404-16.
196. Hoekstra MJ, Westgate SJ, Mueller S. Povidone-iodine ointment demonstrates in vitro efficacy against biofilm formation. *Int Wound J.* 2017;14(1)172-9.
197. Liu JX, Werner JA, Buza JA, Kirsch T, Zuckerman JD, Virk MS. Povidone-iodine solutions inhibit cell migration and survival of osteoblasts, fibroblasts, and myoblasts. *Spine (Phila Pa 1976).* 2017;42(23):1757-62.
198. Schmitt DD, Bandyk DF, Pequet AJ, Towne JB. Bacterial adherence to vascular prostheses. A determinant of graft infectivity. *J Vasc Surg.* 1986;3(5):732-40.
199. Baddour LM, Bettmann MA, Bolger AF, Epstein AE, Ferrieri P, Gerber MA et al. Nonvalvular cardiovascular device-related infections. *Circulation.* 2003;108(16):2015-31.
200. McKean S, Ross JJ, Dressler DD, Brotman DJ GJ. Intravascular catheter-related infections: management and prevention. *Principles and Practice of Hospital Medicine.* McGraw-Hill Education. 2011. Ch. 188.
201. Snowden JN, Beaver M, Smeltzer MS, Kielian T. Biofilm-infected intracerebroventricular shunts elicit inflammation within the central nervous system. *Infect Immun.* 2012;80(9):3206-14.
202. Arrecubieta C, Asai T, Bayern M, Loughman A, Fitzgerald JR, Shelton CE et al. The role of *Staphylococcus aureus* adhesins in the pathogenesis of ventricular assist device-related infections. *J Infect Dis.* 2006;193(8):1109-19.
203. Arrecubieta C, Matsunaga I, Asai T, Naka Y, Deng MC, Lowy FD. Vaccination with clumping factor A and fibronectin binding protein A to prevent *Staphylococcus aureus* infection of an aortic patch in mice. *J Infect Dis.* 2008;198(4):571-5.
204. Bernthal NM, Stavrakis AI, Billi F, Cho JS, Kremen TJ, Simon SI et al. A mouse model of post-arthroplasty *Staphylococcus aureus* joint infection to evaluate in vivo the efficacy of antimicrobial implant coatings. *PLoS One.* 2010;5(9):e12580.
205. Robson MC, Hegggers JP. Delayed wound closures based on bacterial counts. *J Surg Oncol.* 1970;2(4):379-83.

206. Teplitz C, Davis D, Mason AD, Moncrief JA. *Pseudomonas* burn wound sepsis. I. Pathogenesis of experimental *Pseudomonas* burn wound sepsis. J Surg Res. 1964;4:200-16.
207. Meulemans L, Hermans K, Duchateau L, Haesebrouck F. High and low virulence *Staphylococcus aureus* strains in a rabbit skin infection model. Vet Microbiol. 2007;125(3-4):333-40.
208. Dow G, Browne A, Sibbald RG. Infection in chronic wounds: controversies in diagnosis and treatment. Ostomy Wound Manage. 1999;45(8):23-7.
209. Tenorio A, Jindrak K, Weiner M, Bella E EI. Accelerated healing in infected wounds. Surg Gynecol Obstet. 1976;142:537-43.
210. Wysocki AB. Evaluating and managing open skin wounds: colonization versus infection. AACN Clin Issues. 2002;13(3):382-97.
211. Eliza R, Vasile MA, Andrei CB, Simion CO, Constantin C. Tissue integration of synthetic grafts and the impact of soft-tissue infection – an experimental model. Acta Med Marisiensis. 2016;61(4):291-7.
212. Cross SE, Naylor L, Coleman RA, Teo TC. An experimental model to investigate the dynamics of wound contraction. Br J Plast Surg. 1995;48:189-97.
213. Alemáan CL, Más RM, Rodeiro I, Noa M, Hernandez C, Menendez R et al. Reference database of the main physiological parameters in Sprague-Dawley rats from 6 to 32 months. Lab Anim. 1998;32(4):457-66.
214. Cheng AG, Kim HK, Burts ML, Krausz T, Schneewind O, Missiakas DM. Genetic requirements for *Staphylococcus aureus* abscess formation and persistence in host tissues. FASEB J. 2009;23(10):3393-404.
215. Kutanovaite O, Kuzminskaite V, Podkopajev A, Staneviciute E, Triponis VJ, Sirvydis VJ et al. Comparison of effectiveness of antiseptics in *Staphylococcus aureus* infected surgical wounds with vascular prosthesis in rats. Medicinos teorija ir praktika. 2013;19(3):225-30.
216. Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK. Skin diseases of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis. Blackwell Science Ltd. 2008. doi:10.1002/9780470752487

PUBLIKACIJŲ IR PRANEŠIMŲ SĄRAŠAS

Publikacijos

1. Staneviciute E, Na'amnih W, Kavaliauskas P, Prakapaite R, Ridziauskas M, Kevlicius L, Kirkliauskiene A, Zabulis V, Urboniene J, Triponis V. New *in vitro* model evaluating antiseptics' efficacy in biofilm-associated *Staphylococcus aureus* prosthetic vascular graft infection. J Med Microbiol. 2019;68(3):432-439.
2. Stanevičiūtė E, Builytė IU, Ridziauskas M, Besusparis J, Kirkliauskienė A, Zabulis V, Davainis L, Valiūnaitė G, Triponis V, Sirvydis V. Efficacy of antiseptic solutions in treatment of *Staphylococcus aureus* infected surgical wounds with patches of vascular graft: an experimental study in rats. Medicina (Kaunas). 2019;55(4):106.
3. Kirkliauskienė A, Vitkauskaitė M, Žvinytė K, Leilionaitė V, Mušauskaitė G, Butikis M, Stanevičiūtė E, Baronas A. Vilniaus miesto suaugusiųjų populiacijoje paplitusių *Staphylococcus aureus* padermių jautrumo antimikrobiniais vaistais analizė. Visuomenės sveikata. 2019;1(84):44-50.

Pranešimai

1. Stendinis pranešimas konferencijoje MAC 2016 Miunchene (2016 m. gruodžio 1-3 d.) "Animal Experiment: Conservative Treatment of Prosthetic Vascular Graft Infection Caused by *Staphylococcus aureus*".
2. Stendinis pranešimas konferencijoje "Evolutionary medicine: health and diseases in changing environment" Vilniuje (2018 m. birželio 5-8 d.) – "In vitro evaluation of antiseptics against *Staphylococcus aureus* biofilms formed in different surroundings".
3. Stendinis pranešimas konferencijoje ESVS 2018 Valencijoje (rugsėjo 25-28 d.) – "In vitro evaluation of several antiseptic solutions against *Staphylococcus aureus* biofilms: Antiseptics are able to fight *Staphylococcus aureus* biofilms on vascular grafts".
4. Žodinis pranešimas Lietuvos žaizdų gydymo asociacijos konferencijoje „Holistinis požiūris į opų ir žaizdų gydymą“ (2019 m. balandžio 26 d.) „Antiseptikų poveikio *Staphylococcus aureus* suformuotai bioplėvelei palyginimas“.

PADEKOS

Eksperimentinių darbų sėkmė – didelės komandos nuopelnas. Noriu padėkoti visiems, kas prisidėjo idėjomis, profesionalia, organizacine bei technine pagalba. Ypatingą padėką norėčiau išreikšti:

prof. habil. dr. Vytautui Jonui Sirvydžiui ir prof. habil. dr. Vytautui Jonui Triponiui, kurie pasidalino neįkainojama eksperimentinių darbų patirtimi, padrašino atnaujinti tokio pobūdžio tyrimus VU MF ir sudarė sąlygas nedidelės apimties studentiškam eksperimentui išsivystyti į disertacinį darbą. Nuoširdus ačiū už profesionalią pagalbą, konstruktyvią kritiką, neskaičiuojamą laiką, skirtą vertingoms diskusijoms, bei palaikymą, supratingumą ir geranoriškumą kiekviename žingsnyje;

Mindaugui Danilevičiui – už pirminės eksperimento idėjos sukūrimą ir prisidėjimą organizuojant darbus;

pirmajai eksperimentatorių komandai: **Andrejui Podkopajevui, Vilmai Kuzminskaitei ir Otilijai Kutanovaitei** – už neblėstantį entuziazmą organizuojant bei atliekant pirmuosius eksperimentus ir tikrą komandinę dvasią;

antrajai eksperimentatorių komandai: **Ingai Urtei Builytei, Linui Davainiui, Alvitai Ginčaitei ir Gabrielei Valiūnaitei** – už pasiryžimą tęsti pradėtus *in vivo* eksperimentus, prisidėjimą padidinant tyrimo apimtį bei I vietos laimėjimą VU MF Studentų mokslinės draugijos Plenarinėje konferencijoje;

trečiajai eksperimentatorių komandai: **Martynui Ridziauskui ir Lukui Kevličiui** – už kruopštumą, atsakingumą, sumanumą ir nesenkančią kantrybę dirbant laboratorijoje bei I vietos laimėjimą, pristatant *in vitro* eksperimentus VU MF Studentų mokslinės veiklos tinklo Infekcinių ligų ir mikrobiologijos grupių sekcijoje;

Povilui Kavaliauskui ir Rūtai Prakapaitei – už inovatyvias idėjas, kuriant *in vitro* darbų metodiką bei kvalifikuotą techninę pagalbą, atliekant mikrobiologinę darbo dalį;

VU MF Biomedicinos mokslų instituto Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedros Mikrobiologijos skyriui: **asist. dr.**

Agnei Kirkliauskienei – už įžvalgą suformuojant puikias eksperimentatorių komandas bei profesionalią, greitą ir konstruktyvią pagalbą kiekviename darbų etape, **doc. dr. Tomui Kačergiui** – už vertingus patarimus bei specifinių darbo priemonių organizavimą, **specialistėms Halinai Gluchovienei ir Olgai Purakevič** – už geranoriškumą ir kvalifikuotą techninę pagalbą;

recenzentams **prof. dr. Lilijai Kalėdienei, dr. Virginijai Bukelskienei ir dr. Viliui Janušauskui** – už vertingas pastabas bei rekomendacijas.

INFORMACIJA APIE AUTORE

Elvyra Stanevičiūtė

GIMIMO DATA: 1987 m. liepos 3 d.

TAUTYBĖ: lietuvis

EL. PAŠTAS: elvyra.staneviciute@gmail.com

Išsilavinimas

- 2015 – 2019 m.m. Vilniaus universitetas, Kraujagyslių chirurgijos doktoratūros studijos
- 2012 – 2017 m.m. Vilniaus universitetas, Kraujagyslių chirurgijos rezidentūros studijos
- 2006 – 2012 m.m. Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas, Medicinos magistro studijos
- 2005 – 2006 m.m. Vilniaus licėjus, Tarptautinio bakalaureato klasė (dvikalbis lietuvių – anglų diplomas)
- 2004 – 2005 m.m. Mercersburg akademija, Pensilvanija, JAV (ASSIST mainių programos vardinė stipendija mokytis privačioje JAV gimnazijoje)
- 1998 – 2004 m.m. Klaipėdos „Žemynos“ vidurinė mokykla (dabar – gimnazija)

Licencijos

- 2017-07-05 Įgyta kraujagyslių chirurgo licencija MPL-22282
- 2012-07-19 Įgyta medicinos gydytojo licencija MPL-17962

Darbinė veikla

- Nuo 2018 m. „Kardiolitos klinikos“, kraujagyslių chirurgė
- Nuo 2017 m. Vilniaus miesto klinikinės ligoninės Kraujagyslių chirurgijos skyrius, kraujagyslių chirurgė
- Nuo 2017 m. VšĮ Centro poliklinika, kraujagyslių chirurgė

- 2015 – 2017 m. Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų
Kraujagyslių chirurgijos skyrius, medicinos gydytoja
- 2012 – 2014 m. VMKL II angiochirurgijos skyrius, gydytoja
asistentė

Stažuotės užsienio institucijose

1. 2015 m. rugsėjo mėn. – New York Presbyterian Hospital, Niujorkas, JAV.
2. 2015 m. rugsėjis-spalis – University of California San Francisco Medical Center, San Franciskas, JAV.
3. 2018 m. gegužė – ESVS kraujagyslių echoskopijos kursai, Bellvitge universitetinė ligoninė, Barselona, Ispanija.

Narystės

- Nuo 2012 m. – Lietuvos kraujagyslių chirurgijos draugijos narė
Nuo 2012 m. – Europos kraujagyslių chirurgijos draugijos (ESVS) narė

Mokslinė veikla

Autorė savo mokslinius darbus kartu su bendraautoriais yra paskelbusi devyniuose Lietuvos bei užsienio mokslinės spaudos leidiniuose ir vienuolikoje pranešimų vietinėse ir tarptautinėse kraujagyslių chirurgų konferencijose bei suvažiavimuose.

UŽRAŠAMS

UŽRAŠAMS

UŽRAŠAMS

UŽRAŠAMS

Vilniaus universiteto leidykla
Saulėtekio al. 9, LT-10222 Vilnius
El. p. info@leidykla.vu.lt,
www.leidykla.vu.lt
Tiražas 15 egz.