

# The presence of bilirubin in the perigraft fluid collections as an indicator of graft-enteric fistula

## Przydatność oceny stężenia bilirubiny w płynie otaczającym protezę jako objawu przetoki protezowo-jelitowej

Marcin Gabriel<sup>1</sup>, Łukasz Dzieciuchowicz<sup>1</sup>, Andrzej A. Jawień<sup>1</sup>, Grzegorz Oszkinis<sup>1</sup>, Katarzyna Pawlaczyk<sup>2</sup>, Fryderyk Pukacki<sup>1</sup>, Zbigniew Krasiński<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of General and Vascular Surgery, University of Medical Science, Poznań (Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyń Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu)

<sup>2</sup>Department of Hypertensiology, Angiology and Internal Medicine, University of Medical Science, Poznań (Klinika Hypertensiologii, Angiologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu)

### Abstract

**Background.** Graft-enteric fistulas are among the most dangerous complications in vascular surgery. The successful treatment of this complication depends on early and unequivocal diagnosis. The presence of perigraft fluid is one of the signs of vascular graft infection. Its specificity, however, is low. The purpose of this study was to determine the value of biochemical and microbiological analysis of low-density perigraft fluid in early diagnosis of prosthetic graft infection and graft-enteric fistula.

**Material and methods.** Twenty-four fluid samples from perigraft fluid collections were analyzed. The samples were obtained from 17 patients with suspected vascular prosthetic graft infection, including 5 patients with intraoperatively diagnosed graft-enteric fistulas and from 7 patients who underwent Dacron mesh repair of abdominal hernias.

**Results.** High concentrations of total and direct bilirubin, low concentrations of urea and an absence of inflammatory infiltration surrounding the fluid collection in the patients with graft-enteric fistulas were found. The total to direct bilirubin ratio was low, which indicated the dominance of direct bilirubin. In patients without graft-enteric fistulas and in patients after abdominal hernia mesh repair the concentration of total and direct bilirubin was lower, the concentration of urea was higher and inflammatory infiltration around fluid collection was observed. The differences, however, did not reach statistical significance.

**Conclusions.** High concentrations of total and direct bilirubin in perigraft fluid are not an unequivocal sign of the coexistence of graft-enteric fistulas. The low concentration of urea could be more useful in differential diagnosis of perigraft fluid collections.

**Keywords:** vascular graft, prosthetic graft infection, diagnosis, bilirubin

### Streszczenie

**Wstęp.** Wyniki leczenia przetok protezowo-dwunastniczych zależą między innymi od wczesnego rozpoznania powikłania. Jedną z oznak zakażenia protezy jest obecność płynu w jej otoczeniu. Jednak swoistość tego objawu jest mała. Celem badania była ocena przydatności analizy biochemicznej i mikrobiologicznej płynu w otoczeniu protezy w diagnostyce jej zakażenia oraz powstania przetoki protezowo-jelitowej.

### Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Dr hab. med. Marcin Gabriel  
Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyń UM  
ul. Długa 1/2, 61–848 Poznań  
tel: +48 (61) 854 81 41, fax: +48 (61) 854 90 82  
e-mail: [mgabriel@pro.onet.pl](mailto:mgabriel@pro.onet.pl)

**Material i metody.** Zbadano 24 próbki płynu gromadzącego się w otoczeniu protez. Materiał uzyskano od 17 chorych z podejrzeniem zakażenia protezy naczyniowej, spośród których u 5 wcześniej zdiagnozowano śródoperacyjnie przetokę protezowo-jelitową, oraz od 7 pacjentów, u których zaopatrzone przepuklinę brzuszna z wykorzystaniem siatki dakronowej.

**Wyniki.** U pacjentów z istniejącą przetoką protezowo-jelitową odnotowano wyższe stężenia bilirubiny całkowitej i bilirubiny bezpośredniej, niskie stężenie mocznika oraz brak nacieku zapalnego w otoczeniu nagromadzonego płynu. Stosunek bilirubiny całkowitej do bezpośredniej był niski, co wskazywało na przewagę bilirubiny bezpośredniej. U pacjentów bez istniejącej przetoki protezowo-jelitowej oraz z wszytą siatką dakronową stężenia bilirubiny całkowitej i bezpośredniej były niższe, stężenie mocznika było wyższe oraz zaobserwowano obecność nacieku zapalnego w otoczeniu nagromadzonego płynu. Różnice te nie osiągnęły jednak istotności statystycznej.

**Wnioski.** Wysokie stężenia całkowitej oraz bezpośredniej bilirubiny w płynie nagromadzonym w otoczeniu protezy nie są jednoznaczną oznaką współistnienia przetoki protezowo-jelitowej. Niskie stężenie mocznika może okazać się bardziej przydatne w diagnostyce różnicowej płynu gromadzącego się w otoczeniu protez.

**Słowa kluczowe:** proteza naczyniowa, zakażenie protezy naczyniowej, rozpoznanie, bilirubina

## Introduction

Vascular prosthetic graft infections, though infrequent, pose a serious diagnostic and therapeutic problem. Regardless of the recent progress in treatment of this complication, high mortality, especially in patients with aorto-enteric fistula, is still observed [1, 2]. According to accumulated experience, prompt and unequivocal diagnosis is essential in the successful treatment of this serious complication [3]. Unfortunately, the limited specificity of clinical symptoms as well as routine diagnostic methods often make the early diagnosis of intestinal fistulas impossible, which in turn delays proper management and decreases the chances for successful treatment [4].

The presence of fluid collections in the vicinity of a vascular graft is one of the most frequent findings that could point to graft infection [5]. The differential diagnosis of purulent collection on a CT scan does not usually pose any problems, but the evaluation of low-density fluid collections is much more difficult. The sole assessment of the size of the lesion and of its relation to the graft is often not sufficient, and a biopsy is usually required [6]. In many cases, however, even thorough analysis of aspirated fluid does not lead to proper diagnosis, especially with regard to seromas that can be present during the post-operative period.

We found the presence of high concentrations of both direct and indirect bilirubin in the fluid from the perigraft collections in patients with aorto-enteric fistulas. The presence of high concentrations of both forms of bilirubin appears to be helpful in differential diagnosis of perigraft fluid and in confirming the presence of intestinal fistulas.

The purpose of this study was to determine the value of biochemical analysis of the perigraft fluid in early

## Wstęp

Pomimo rzadkiego występowania zakażenie protez naczyniowych stanowi poważny problem diagnostyczny i leczniczy. Choć w ostatnich latach osiągnięto znaczący postęp w leczeniu tego powikłania, to wciąż obserwuje się wysoką śmiertelność, zwłaszcza wśród pacjentów ze współistniejącą przetoką protezowo-jelitową [1, 2]. Zgodnie z dotychczasowymi obserwacjami jednym z kluczowych warunków uzyskania pozytywnego wyniku leczenia przetok jest dokonanie szybkiego i jednoznacznego rozpoznania [3]. Niestety ograniczona swoistość objawów oraz wyników badań dodatkowych uniemożliwiają wczesne rozpoznanie przetoki protezowo-jelitowej, co w konsekwencji opóźnia wdrożenie właściwego leczenia i zmniejsza szanse na wyleczenie [4].

Obecność strefy płynowej w otoczeniu protezy naczyniowej jest jedną z najczęstszych oznak mogących świadczyć o jej zakażeniu [5]. Diagnostyka różnicowa nagromadzonej treści ropnej nie stwarza zazwyczaj trudności. Zdecydowanie trudniejszym zadaniem jest diagnostyka różnicowa zbiorników płynu o małej gęstości. Ocena bazująca wyłącznie na wielkości i umiejscowieniu zmiany zwykle jest niewystarczająca i wymaga zazwyczaj wykonania biopsji [6]. Niestety w wielu przypadkach nawet dokładna analiza uzyskanego płynu nie wystarczy, aby dokonać ostatecznego rozpoznania. Dotyczy to między innymi pacjentów z seromą otaczającą rutynowo protezę we wczesnym okresie pooperacyjnym.

We wcześniejszych badaniach autorzy niniejszej pracy wykryli obecność wysokich stężeń bilirubiny bezpośredniej i pośredniej w płynie nagromadzonym w otoczeniu protezy u pacjentów z przetoką protezowo-jelitową. Wysokie stężenia obu form bilirubiny pomogły

diagnosis of prosthetic graft infections, especially those with intestinal fistulas.

### Material and methods

Twenty-four patients with perigraft fluid collections in the vicinity of vascular prosthetic grafts ( $n = 17$ ) or Dacron mesh used for abdominal hernia repair ( $n = 7$ ) were included in the study.

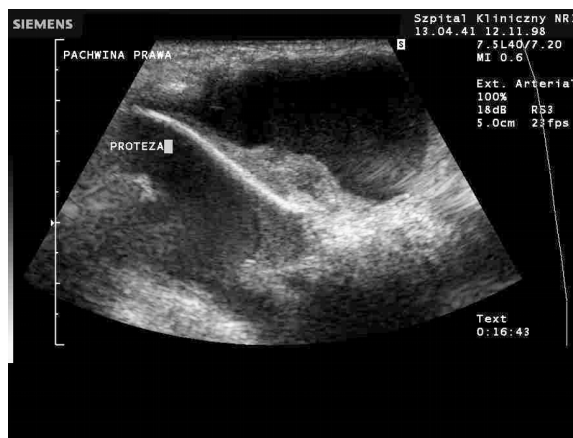
#### Patients after implantation of vascular prosthetic grafts

Seventeen patients with an ultrasonographically detected hypoechoogenic layer surrounding the main body of the vascular prosthetic graft and low-density fluid collections in the vicinity of grafts in groins were included in the study. There were ten patients with aorto-bifemoral grafts, four ilio-femoral grafts and three femoro-popliteal grafts. The time that had passed since the implantation of the graft ranged from 7 to 44 months. The volume of the fluid collections ranged from 4 to 26 ml. In eight patients, an additional hypoechoogenic layer surrounding the fluid collection was found. The layer was 5 to 8 mm thick and consistent with inflammatory infiltration (Figure 1). In the remaining nine patients, the fluid collections were surrounded by unchanged tissue, without ultrasonographic features of inflammatory infiltration (Figure 2). Duplex Doppler excluded the presence of pseudoaneurysm in all patients. CT scan



**Figure 1.** Ultrasonographic image of fluid collection in the vicinity of distal anastomosis of prosthetic graft in the groin of a patient without graft-enteric fistula. The fluid collection is poorly separated from adjacent tissue by weakly visible hypoechoogenic layer consistent with inflammatory infiltration

**Rycina 1.** Ultrasonograficzny obraz nagromadzonego płynu w okolicy dalszego zespolenia protezy w pachwinie u pacjenta bez przetoki protezowo-jelitowej. Zbiornik płynowy jest słabo ograniczony od otaczających tkanek przez mało widoczną hipoechogeniczną strefę odpowiadającą naciekowi zapalnemu



**Figure 2.** Ultrasonographic image of fluid collection in the vicinity of distal anastomosis of prosthetic graft in the groin of a patient with graft-enteric fistula. Although partial disruption of the anastomosis is visible, the fluid collection is not a pseudoaneurysm. The fluid collection is clearly separated from adjacent normoechogenic tissue

**Rycina 2.** Ultrasonograficzny obraz nagromadzonego płynu w otoczeniu dalszego zespolenia protezy w pachwinie u pacjenta ze współistniejącą przetoką protezowo-jelitową. Mimo widocznego przerwania ciągłości zespolenia zbiornik płynowy nie jest tętniakiem rzekomym. Płyn jest wyraźnie odgraniczony od otaczających, normoechogenicznych tkanek

w diagnostyce różnicowej płynu okołoprotezowego oraz w potwierdzeniu obecności przetoki jelitowej.

Celem niniejszego badania była ocena przydatności analizy biochemicznej płynu nagromadzonego w otoczeniu graftów we wczesnej diagnostyce zakażenia protezy, a zwłaszcza w przypadkach z współistniejącą przetoką protezowo-jelitową.

### Material i metody

Do badania włączono 24 pacjentów z nagromadzeniem płynu w okolicy protezy naczyniowej ( $n = 17$ ) lub w okolicy siatki dakronowej ( $n = 7$ ) służącej do zaopatrzenia przepuklin brzusznych.

#### Pacjenci po zabiegach naczyniowych

Do badania włączono 17 pacjentów, u których w badaniu ultrasonograficznym wykryto obecność hipoechogenicznej strefy otaczającej główną część protezy naczyniowej oraz nagromadzenie płynu o niskiej gęstości w pobliżu protezy w pachwinach. Podczas zabiegu pierwotnego u 10 pacjentów implantowano protezy aortalno-dwuudowe, u 4 osób — protezy biodrowo-udowe, a u 3 chorych protezy udowo-podkolanowe. Czas, który upłynął od implantacji protez, wynosił 7–44 miesięcy. Objętość płynu nagromadzonego w otoczeniu protezy wynosiła 4–26 ml. U 8 pacjentów wykryto dodatkową strefę o zmniejszonej echogeniczności, otaczającą

was performed in 15 patients and the results were consistent with duplex Doppler.

In 14 of these 17 patients, infection of vascular prosthetic grafts was diagnosed based on the following findings: purulent fistula in the groin ( $n = 4$ ) or abdominal wall ( $n = 2$ ), sepsis ( $n = 2$ ), inflammatory groin infiltration, upper gastrointestinal bleeding ( $n = 1$ ), gas vesicles in the fluid surrounding the graft on CT scan ( $n = 2$ ) or signs of direct contact between the fluid collection and the lumen of the intestine on ultrasound scans ( $n = 1$ ). All these 14 patients were operated. The infected graft was removed and vascular reconstruction was performed with in situ implantation of either arterial allografts ( $n = 9$ ) or venous autografts ( $n = 5$ ) [10]. In five patients (subgroup IA), the presence of intestinal fistula was found intraoperatively. In one of these patients, a double fistula was present. In patients from subgroup IB, there was no direct contact between fluid collection surrounding the graft and the intestinal lumen. These patients were then followed up for 13–36 months and remained free of clinical signs of intestinal fistulas in that period.

In the remaining three patients (subgroup IC), because of the lack of clinical signs of infection and negative cultures of the aspirate, infection of the vascular prosthetic graft was not diagnosed. These three patients were treated with ultrasound guided percutaneous evacuation of fluid collection. The volume of aspirated fluid ranged from 12 to 28 ml. The evacuated contents were then sent for biochemical and bacteriologic analysis. In two of them, the fluid collection did not recur. One patient required four repeated aspirations of fluid collections. These patients were then followed up for 16–47 months and remained free of clinical signs of infection in that period.

### Patients after mesh hernia repair

Seven patients, after mesh hernia repair with low-density fluid collections in the vicinity of the implant, were also included in the study. In five patients with negative cultures (subgroup 2A), the fluid collections resolved either after one ( $n = 4$ ) or four aspirations ( $n = 1$ ). In two patients with positive cultures (subgroup 2B), the wounds were healed by granulation.

For the purposes of the study, the patients were divided into three groups:

- group I (subgroup IA) — 5 patients with infected prosthetic grafts and intestinal fistulas;
- group II (subgroups IB and 2B) — 11 patients with infected prosthetic implants without fistulas;
- group III (subgroups IC and 2A) — 8 patients with prosthetic implants without clinical and microbiological signs of infection.

czającą zbiornik płynowy. Strefy te, o grubości 5–8 mm, odpowiadały naciekowi zapalnemu (ryc. 1). U pozostałych 9 pacjentów nagromadzony płyn otaczała niezmienniona tkanka, bez cech nacieku zapalnego w badaniu USG (ryc. 2). W badaniu dupleksowym u wszystkich pacjentów wykluczono obecność tętniaków rzekomych. U chorych wykonano dodatkowo badanie tomograficzne. Wyniki obu badań obrazowych — USG i tomografii komputerowej (CT) — były zgodne.

U 14 spośród 17 pacjentów włączonych do badania rozpoznano zakażenie protezy naczyniowej, opierając się na obecności: ropnej przetoki w pachwinie ( $n = 4$ ) lub w powłokach brzusznych ( $n = 2$ ), posocznicy ( $n = 2$ ), nacieku zapalnego w pachwinie, krwawienia z górnego odcinka przewodu pokarmowego ( $n = 1$ ), pęcherzyków gazu w płynie otaczającym protezę, uwidoczonych na tomogramach ( $n = 2$ ) lub oznak bezpośredniego kontaktu pomiędzy nagromadzonym płynem a światłem przewodu pokarmowego na obrazach USG i fistulografii ( $n = 1$ ). U wszystkich wspomnianych 14 pacjentów usunięto całkowicie zakażone protezy, rekonstruując ciągłość żyłki naczyniowej za pomocą alogenicznych przeszczepów tętnicznych ( $n = 9$ ) lub autogenicznych przeszczepów żylnych ( $n = 5$ ) [10]. Przetoki protezowo-jelitowe wykryto śródoperacyjnie u 5 pacjentów (podgrupa IA). U jednego z nich stwierdzono jednoczesną obecność dwóch przetok jelitowych. U pozostałych pacjentów (podgrupa IB) nie stwierdzono bezpośredniego kontaktu pomiędzy światłem przewodu pokarmowego a nagromadzonym płynem otaczającym protezy. Przez okres 13–36 miesięcy pacjentów objęto dalszą obserwacją i stwierdzono, że w tym czasie nie wystąpiły u nich kliniczne oznaki przetoki jelitowej.

Pozostałych 3 pacjentów (podgrupa IC) poddano tylko obserwacji klinicznej. Nie zaobserwowano u nich występowania klinicznych i laboratoryjnych objawów zakażenia protezy. Zbiorniki płynowe nakłuto pod kontrolą USG, ewakuując 12–28 ml surowiczego płynu o małej gęstości, który poddano analizie biochemicznej i bakteriologicznej. U 2 pacjentów nie obserwowano ponownego gromadzenia się płynu, natomiast u 3. chorego konieczne było dokonanie 3 kolejnych aspiracji w celu ostatecznej likwidacji zbiornika. Pacjentów obserwowano następnie przez okres 16–47 miesięcy, nie stwierdzając wystąpienia objawów zakażenia.

### Pacjenci po operacjach przepuklin brzusznych

Do badania włączono 7 chorych po zaopatrzeniu przepuklin brzusznych przy użyciu siatek dakronowych. U wszystkich pacjentów we wczesnym okresie pooperacyjnym stwierdzono obecność zbiorników płynu o małej gęstości w otoczeniu implantów. Płyn zaaspiro-

In all patients, fluid collections were punctured under ultrasonographic guidance using an aseptic technique. The volume of fluid obtained ranged from 6 to 45 ml. Aspirated fluid underwent microbiological and biochemical analysis. The concentration of urea, amylase and total and direct bilirubin were determined.

Non-parametric analysis of variance (Kruskal-Wallis test) was used to compare medians between the groups. The differences were considered significant when  $p < 0.05$ .

## Results

The results of biochemical tests, cultures and ultrasound scan (presence or absence of inflammatory infiltration surrounding the fluid collection) are presented in Table I.

Positive results of microbiological tests were obtained in five cases only. In patients with prosthetic graft infection (subgroup IA), *S. epidermidis* were cultured in two cases and *S. aureus* in one case, and in patients with Dacron mesh (subgroup 2A), *S. epidermidis* was cultured in one case and *P. aeruginosa* in another case. All remaining cultures were negative for both aerobic and anaerobic bacteria as well as for fungal infection.

The highest concentration of both total and direct bilirubin was found in patients with graft-enteric fistula (group I). With regard to total bilirubin, it was twice as high as in patients without graft-enteric fistula (in patients from group II and III), and the difference was statistically significant ( $p < 0.05$ ). The values in groups II and III did not differ significantly.

The lowest concentration of urea in the aspirate in patients from group I was found; the difference, however, did not reach statistical significance. The concentration of urea in groups II and III were comparable. There were not any significant differences between the concentrations of amylase in all three groups.

wano w warunkach jałowych. U 5 pacjentów z negatywnymi wynikami posiewów (podgrupa 2A) zbiorniki przestały się wypełniać po jednorazowym ( $n = 4$ ) lub 4-krotnym ( $n = 1$ ) nakłuciu. U 2 pacjentów z pozytywnym wynikiem posiewu (podgrupa 2B) rany wygoiły się przez ziarninowanie.

W celu ułatwienia przeprowadzenia analizy chorych podzielono na 3 grupy:

- grupa I (podgrupa IA) — 5 pacjentów z zakażoną protezą naczyniową i współistniejącą przetoką protezowo-jelitową;
- grupa II (podgrupa IB i 2B) — 11 pacjentów z zakażonym materiałem protezowym bez istniejącej przetoki;
- grupa III (podgrupa IC i 2A) — 8 pacjentów z wszczepionym materiałem protezowym bez klinicznych i mikrobiologicznych oznak zakażenia.

U wszystkich badanych płyn pobierano pod kontrolą USG w warunkach sterylnych. Objętość uzyskanego płynu wynosiła 6–45 ml. Poddano go analizie mikrobiologicznej i biochemicznej, określając stężenia mocznika, amylazy, bilirubiny całkowitej i bezpośredniej.

W analizie statystycznej wykorzystano nieparametryczny test Kruskal-Wallisa. Różnice uznano za znamienne statystycznie przy  $p < 0,05$ .

## Wyniki

W tabeli I przedstawiono uzyskane wyniki testów biochemicznych, bakteriologicznych i badania duplexowego (obecność nacieku zapalnego otaczającego nagromadzony płyn lub jego brak). W badaniu mikrobiologicznym wynik pozytywny odnotowano jedynie w 5 przypadkach. U pacjentów z zakażoną protezą naczyniową (podgrupa IA) w 2 przypadkach wyhodowano *Staphylococcus epidermidis*, a w jednym — *Staphylococcus aureus*. Natomiast w grupie pacjentów z wszytą siatką dakronową (podgrupa 2A) w 1 przypadku wyho-

**Table I.** Results of biochemical and microbiological analysis of aspirate from perigraft fluid collections. Values are presented as median and range

**Tabela I.** Biochemiczna, bakteriologiczna i duplexowa ocena okołoprotezowych zbiorników płynowych. Przedstawiono wartość średnią i zakres medyny

Group Grupa	Total bilirubin Bilirubina całkowita [ $\mu\text{mol/l}$ ]	Direct bilirubin Bilirubina bezpośrednia [ $\mu\text{mol/l}$ ]	Urea Mocznik [mmol/l]	Amylase Amylaza [U/l]	Micro-biology Badanie bakteriologiczne	Inflammatory infiltration Nacieki zapalny
I	69.3 45.7–87.4	17.6 11.9–19.11	0.7 0.4–1.5	1–3	0	1
II	45.4 21.9–91.6	8.7 2.3–19.3	5.3 1.1–7.6	1–5	3	7
III	26.8 19.6–29.7	5.3 3.6–7.13	4.7 2.3–5.4	3–5	1	1

## Discussion

The possibility of the development of fluid collections in the vicinity of freshly implanted prosthetic vascular grafts has been discussed for many years. Seroma, defined as chronic collections of clear fluid, which tend to form fibrin pseudo membranes around the grafts, is found in 0.3 to 4.3% of patients after implantation of prosthetic grafts [7, 8]. The incidence of these lesions depends on the type and the localization of the graft. It is higher in cases of woven grafts, extra anatomic bypasses and grafts localized subcutaneously [7, 9]. Although seroma is thought to be the result of an abnormal reaction of the organism on the foreign body, its occurrence within 3–6 months following implantation of the prosthetic graft, in the majority of cases, does not require any therapeutic intervention [10, 11]. Prolonged presence of the lesion, gradual increase in size, occurrence in the late postoperative period, especially when accompanied by clinical and radiological signs, point towards infection [12, 13]. Unfortunately, only the presence of high-density or fluid collections containing gas bubbles confirm the diagnosis of infection, regardless of the clinical symptoms and signs [14].

The differential diagnosis of low-density fluid collections is much more difficult, especially when they occur in the early post-operative period and when there are no unequivocal clinical signs. The tests that have been used to analyze the contents of fluid collections also have limited value. The microbiological analysis of aspirate from the vicinity of the graft very often yields negative results, especially in the presence of coexisting graft-enteric fistulas or infection caused by coagulase-negative *Streptococci*. In the first case, bacteria are destroyed by digestive enzymes present in the duodenal fluid. In the second case, bacteria create a biofilm surrounding the graft [15]. To increase the sensitivity of microbiological analysis, actions such as brushing the surface of the graft or special culture techniques have been employed [16]. Both of them have increased the probability of proper diagnosis; however, they either increase significantly the risk of infecting the graft or require a fragment of the graft to be obtained, which is only possible during surgery.

Performing biochemical analysis of aspirate of perigraft fluid collections in patients with active graft-enteric fistula, we found high concentrations of total and direct bilirubin. The intraoperative findings suggested that fluid collections in the surrounding of the arms of the graft or their distal anastomosis consisted of the duodenal contents that leaked along the graft. In the beginning we thought that a high concentration of total and direct bilirubin could point to bile leakage coexisting with graft-

dowano *Staphylococcus epidermidis*, a w drugim *Pseudomonas aeruginosa*. Pozostałe hodowle nie wykazały zakażenia bakteriami tlenowymi, beztlenowymi oraz grzybami.

Największe stężenia, zarówno bilirubiny całkowitej, jak i bezpośredniej, stwierdzono u pacjentów z istniejącą przetoką protezowo-jelitową (grupa I). U tych chorych stężenie bilirubiny całkowitej było aż 2-krotnie wyższe od stężenia w płynie pobranym od pacjentów bez przetoki protezowo-jelitowej (pacjenci z grupy II i III) i różnica ta była znamienna statystycznie ( $p < 0,05$ ). Wartości w grupie II i III nie różniły się znacząco między sobą.

Najniższe stężenie mocznika uzyskano w aspiratach pobranych od pacjentów z grupy I. Różnica ta jednak nie osiągnęła istotności statystycznej. Stężenia mocznika w grupie II i III były porównywalne. Nie odnotowano żadnej istotnej różnicy pomiędzy stężeniami amylazy pomiędzy trzema grupami.

## Omówienie wyników

Od wielu lat obserwuje się gromadzenie płynu w otoczeniu świeżo implantowanej protezy naczyniowej. Seromę — zdefiniowaną jako przewlekłe nagromadzenie płynu surowiczego, mające tendencję do tworzenia fibrynowych błon rzekomych — można wykryć u 0,3–4,3% pacjentów po implantacji protez [7, 8]. Zarówno rodzaj protezy, jak i jej lokalizacja wpływają na częstość występowania wspomnianej zmiany. Jest ona większa w przypadku protez tkanych oraz graftów wszczepionych w pozycji pozaanatomicznej, zwłaszcza w tkance podskórnej [7, 9]. Uważa się, że seroma jest wyrazem nieprawidłowej reakcji organizmu na ciało obce, zachodzącej po 3–6 miesiącach od implantacji protezy. W większości przypadków zmiana ta nie wymaga żadnego leczenia [10, 11]. Do okoliczności, które mogą sugerować wystąpienie zakażenia, zwłaszcza gdy towarzyszą im kliniczne i radiologiczne objawy, można zaliczyć: przedłużający się okres występowania zbiornika płynowego, stopniowe zwiększanie jego rozmiarów oraz jego ponowne pojawienie się w późnym okresie pooperacyjnym [12, 13]. Niestety tylko obecność płynu o dużej gęstości oraz występowanie pęcherzyków gazowych wskazuje jednoznacznie na obecność zakażenia [14].

Diagnostyka różnicowa gromadzącego się płynu o małej gęstości jest znacznie trudniejsza, zwłaszcza gdy następuje to we wczesnym okresie pooperacyjnym i brakuje jednoznacznych objawów klinicznych. Badania wykorzystywane do oceny płynu charakteryzują się ograniczoną przydatnością. Analiza mikrobiologiczna treści pobranej z otoczenia protezy często daje wyniki nega-

enteric fistulas. To verify this hypothesis we analyzed the biochemical contents of perigraft fluid collections in patients with and without prosthetic graft infections.

Analyzing the pathways of bilirubin metabolism and elimination, one could expect that the presence of high concentrations of total and direct bilirubin would be associated with graft-enteric fistula and bile leakage. Among 16 patients with prosthetic graft infections and high concentrations of bilirubin, graft-enteric fistulas were found intraoperatively in five cases only. Furthermore, high concentrations of total and direct bilirubin were also present in the contents of fluid collections found in the surroundings of non-infected vascular prosthetic grafts and Dacron mesh used for abdominal hernia repairs. Except for significantly higher concentrations of total bilirubin in patients with graft-enteric fistulas when compared to patients without graft-enteric fistulas, the remaining differences in concentrations of total and direct bilirubin between patients from groups I, II and III were insignificant and did not allow for discrimination between the groups. Concluding, high concentrations of total and direct bilirubin are not a specific sign of graft-enteric fistulas.

At this point, the question arises concerning the source of high concentrations of conjugated bilirubin in perigraft fluid collections in patients without bile leakage. The problem of the biochemical contents of perigraft fluid collections has not been extensively studied so far. Williams et al. [17] found that concentrations of biochemical substances in seroma resembled those observed in blood serum. Unfortunately, we were not able to find any data on the concentrations of bilirubin in seromas. In adults, 80% of daily bilirubin production, taking place in the liver, spleen and bone marrow, comes from degradation of haemoglobin from erythrocytes. Hepatic catabolism of haemoproteins and free haeme of ineffective marrow erythropoiesis constitute the remaining 20%. The direct bilirubin, present in examined fluid collections, which did not have any communication with the gastrointestinal tract, may have come from two sources. It could be an exudate, produced by the donor tissue stimulated by the presence of a foreign body. All implanted foreign bodies, including prosthetic vascular grafts, induce immunological reactions and their intensity depends, among other things, on the type of implanted material [18]. Some authors believe that perigraft fluid is a plasma transudate through the graft wall, which acts as a semi-permeable membrane [19]. Rise in blood pressure, intraoperative contact of the graft with alcohol or iodine compounds and infection are factors that promote development of transudate [17]. In both cases the contents of perigraft fluid would be similar to

tywne, zwłaszcza w przypadku współistnienia przetoki jelitowej lub zakażenia powodowanego przez bakterie koagulazo-ujemne. W pierwszym przypadku enzymy trawienne zmniejszają istotnie liczbę bakterii, natomiast w drugim bakterie otoczone są przez ochronną warstwę glikokaliksu [15]. W celu zwiększenia czułości badań mikrobiologicznych konieczne było zmodyfikowanie stosowanych technik badawczych, na przykład pobieranie wymazów za pomocą szczoteczek lub nadtrawianie powierzchni protezy [16]. Obie metody zwiększają prawdopodobieństwo prawidłowego rozpoznania, jednakże zwiększają one również ryzyko zakażenia protezy lub wymagają uzyskania jej fragmentu, czego można dokonać tylko podczas zabiegu operacyjnego.

We wstępnej analizie biochemicznej zaaspirowanego płynu gromadzącego się wokół protezy u pacjentów z czynną przetoką protezowo-jelitową wykazano wysokie stężenia bilirubiny całkowitej i bezpośredniej. Śródoperacyjnie stwierdzono, że u tych chorych płyn gromadzący się wokół dalszych fragmentów protez był treścią dwunastniczą spływającą wzdłuż protezy. Początkowo autorzy niniejszej pracy podejrzewali, że wysokie stężenia bilirubiny całkowitej oraz bezpośredniej w okołoprotezowych zbiornikach płynowych mogą stanowić swoisty marker współistnienia przetok protezowo-jelitowych. Aby potwierdzić tę hipotezę, zbadali oni biochemiczny skład płynu gromadzącego się wokół protez, zarówno zakażonych, jak i niezakażonych.

Analiza szlaków metabolicznych bilirubiny prawdopodobnie wskazuje, że obecność wysokiego stężenia bilirubiny całkowitej oraz bezpośredniej ma związek z obecnością żółci w zbiornikach płynowych towarzyszących przetokom protezowo-jelitowymi. Jednakże zaledwie w 5 przypadkach spośród 16 pacjentów z zakażoną protezą oraz wysokim stężeniem bilirubiny wykryto śródoperacyjnie przetokę protezowo-jelitową. Ponadto wysokie stężenia bilirubiny całkowitej oraz bezpośredniej odnotowano także w płynie uzyskanym od pacjentów z protezami naczyniowymi bez objawów zakażenia i od pacjentów z wszczepioną siatką dakronową. Istotna różnica stężenia bilirubiny całkowitej wystąpiła jedynie pomiędzy grupą pacjentów z obecną przetoką protezowo-jelitową a grupą pacjentów bez istniejącej przetoki. W pozostałych przypadkach stężenia bilirubiny całkowitej oraz bezpośredniej pomiędzy pacjentami z poszczególnych grup nie wykazały istotnej różnicy i nie dawały podstaw do różnicowania etiologicznego. Wynika z tego, że stężenia bilirubiny całkowitej i bezpośredniej nie są swoistą oznaką obecności przetoki protezowo-jelitowej.

Należy więc zastanowić się nad przyczynami wysokiego stężenia bilirubiny związanej w płynie nagroma-

plasma with different direct to indirect bilirubin ratio [20]. The elevated concentration of indirect bilirubin in perigraft fluid collections could result from degradation of haemoglobin from erythrocytes present in the haematoma surrounding the graft. Blood cells are the most prevalent elements of the external layer surrounding the prosthetic graft within two weeks of implantation [9]. The rate of degradation of blood cells and the development of vascularised connective tissue depends, among other things, on the type of the graft. In the case of velour grafts, complete stabilization of its external layers and the development of a three-layer structure, resembling the structure of the vascular wall, takes one year. In the case of grafts with greater porosity, the process is slower and is completed after three years [21]. Even after the process of healing of the graft is completed, all layers release haemostatic factors taking part in maintaining haemostasis [22].

The degradation of haemoglobin is catalyzed by haeme oxygenase and then by biliverdin reductase present in cells of inflammatory infiltrate [23, 24]. The cell immunological response with T lymphocytes and macrophages is present both in the case of normal healing of the graft and in the case of infection of the graft [25, 26].

The presence or absence of inflammatory infiltrate in the vicinity of perigraft fluid collection also has a low specificity, which can be partly explained by the lack of objective methods of assessment. In the case of bile collection, the absence of inflammatory infiltration may result from the absence of bacteria in the fluid and from the development of the layer of necrotic tissue. This layer creates a pseudo capsule that prevents further tissue damage.

In this study, because of insufficient numbers, statistically significant differences were not found; however, clinically important trends were observed. In patients with graft-enteric fistulas, low concentrations of urea, high concentrations of total and direct bilirubin and lack of inflammatory infiltrate around the fluid collection. In addition, the ratio of total to direct bilirubin was low, suggesting the dominance of direct bilirubin. In patients without graft enteric fistulas, the concentration of urea was high; concentrations of both forms of bilirubin were low with dominance of the indirect form. These trends can be explained by the fact that there is no urea in bile whereas it is present in the blood serum and can be present in both transudate and exudate. There were no significant differences between the groups with regard to amylase concentration.

Further studies on larger groups of patients are required to verify these trends and their value in differential diagnosis of perigraft fluid collections.

dzonym w otoczeniu protezy u pacjentów bez przecieku żółci. Nie zbadano jeszcze dostatecznie kwestii składu biochemicznego płynu gromadzącego się wokół protezy. Williams i wsp. [17] odkryli, iż skład biochemiczny seromy przypomina skład osocza. Niestety nie udało się znaleźć autorom niniejszej pracy żadnych danych dotyczących stężenia bilirubiny w okotoprotezowych zbiornikach płynowych.

U dorosłych około 80% bilirubiny powstaje w wątrobie, śledzionie i w szpiku kostnym, po wcześniejszej degradacji hemoglobiny pochodzącej z erytrocytów. Wątrobowy katabolizm hemoprotein i wolnego hemu z zachodzącej w szpiku nieefektywnej erythropoezy stanowi źródło pozostałych 20%. Bilirubina bezpośrednia obecna w badanym płynie, który nie komunikował się ze światłem przewodu pokarmowego, może pochodzić z dwóch źródeł. Być może jest to wysięk produkowany przez otaczające tkanki, podrażnione wszczepionym ciałem obcym. Każde implantowane ciało obce, w tym także protezy naczyniowe, indukują reakcję immunologiczną, a jej intensywność zależy między innymi od rodzaju wszczepionego materiału [18]. Niektórzy autorzy uważają, że płyn gromadzący się w otoczeniu protezy jest przesiękiem surowiczym przez ścianę protezy, która działa jak błona półprzepuszczalna [19]. Czynniki sprzyjającymi tworzeniu się przesięku są: wzrost ciśnienia tętniczego, śródoperacyjny kontakt protezy z alkoholem lub płynami zawierającymi związki jodu oraz zakażenie protezy [17]. W obydwu przypadkach skład płynu gromadzącego się w otoczeniu protezy byłby podobny do składu osocza, z różnym stosunkiem bilirubiny bezpośredniej do bilirubiny pośredniej [20]. Podwyższone stężenie bilirubiny pośredniej w płynie nagromadzonym w otoczeniu protezy może być wynikiem rozpadu hemoglobiny z erytrocytów obecnych w krwiaku zlokalizowanym przy protezie. W ciągu 2 tygodni od wszczepienia protezy krwinki czerwone są najbardziej rozpowszechnionymi elementami zewnętrznej warstwy otaczającej protezę [9]. Tempo rozpadu krwinek i rozwoju unaczynionej tkanki łącznej zależy między innymi od rodzaju protezy naczyniowej. W przypadku protez welurowych pełna stabilizacja ich zewnętrznej warstwy i rozwój trójwarstwowej struktury, przypominającej strukturę ściany naczyniowej, trwa około roku. W przypadku protez o większej porowatości cały proces trwa dłużej i zostaje ukończony po około 3 latach [21]. Wszystkie warstwy uwalniają czynniki hemostatyczne biorące udział w utrzymywaniu hemostazy, nawet po zakończeniu procesu wgajania protezy [22].

Rozpad hemoglobiny katalizowany jest przez oksygenazę hemową, a następnie przez reduktazę biliwerdynową, obecną w komórkach nacieku zapalnego



## Conclusions

Even high concentrations of total and direct bilirubin in perigraft fluid are not sufficient to diagnose fistulas between the graft and duodenum. The low concentration of urea in perigraft fluid could be more helpful.

## References

1. Gabriel M, Pukacki F, Chęciński P et al (2004) Current options in prosthetic vascular graft infection: comparative analysis of 63 consecutive cases. *Langenbek's Arch Surg*, 389: 272–277.
2. Kuestner LM, Reilly LM, Jicha DL et al (1995) Secondary aortoenteric fistula: Contemporary outcome with use of extraanatomic bypass and infected graft excision. *J Vasc Surg*, 21: 184–196.
3. Gabriel M, Pukacki F, Dzieciuchowicz Ł et al (2004) Cryopreserved arterial allografts in the treatment of prosthetic graft infections. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 27: 590–596.
4. Geroulakos G, Lumley JSP, Wright JG (1997) Factors influencing the long-term results of abdominal aortic aneurysm repair. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 13: 3–8.
5. Orton DF, LeVeen RF, Saigh JA et al (2000) Aortic prosthetic graft infections: Radiologic manifestations and implications for management. *RadioGraphics*, 20: 977–993.
6. Padberg FT, Smith SM, Eng RHK (1996) Accuracy of disincorporation for identification of vascular graft infection. *Arch Surg*, 130: 183–187.
7. Ahn SS, Machleder HI, Gupta R, Moore WS (1987) Perigraft seroma: clinical, histologic, and serologic correlates. *Am J Surg*, 154: 173–178.
8. Quarfordt PG, Reilly LM, Mark AS (1985) Computerized tomographic assessment of graft incorporation after aortic reconstruction. *Am J Surg*, 150: 227–231
9. Milewski A, Staniszevska-Kus J, Rutowski R et al (2002) Tissue reaction following the implantation of a DALLON H vascular prosthesis in the thoracic aorta defect. *Experimental tests*. *Polim Med*, 32: 23–40.
10. Zippel R, Wilhelm L, Marusch F et al (2001) Antigenicity of Polyester (Dacron) vascular prostheses in an animal model. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 21: 202–207.
11. Blumenberg RM, Gelfand ML, Dale A (1985) Perigraft seromas complicating arterial grafts. *Surgery*, 97: 194–203.
12. Calligaro KD, Veith FJ (1991) Diagnosis and management of infected prosthetic aortic grafts. *Surgery*, 110: 805–813.
13. Gabriel M (2005) Duplex-doppler sonography. In: Pukacki F, Chęciński P (eds) *Vascular Prosthesis Infection*. FPPCh, Warszawa 2005: 18–22.
14. Seeger JM, Back MR, Albright JL et al (1999) Influence of patient characteristics and treatment options on outcome of patients with prosthetic aortic graft infection. *Ann Vasc Surg*, 13: 413–420.
15. Levy MF, Schmitt DD, Edmiston CE et al (1990) Sequential analysis of Staphylococcal colonization of body surfaces of patients undergoing vascular surgery. *J Clin Microbiol*, 28: 664–669.
16. Kambayashi J, Kawasaki T, Uemura Y et al (1995) Diagnosis of abdominal aortic graft infection by a percutaneous intraluminal brushing of the graft. *Eur J Endovasc Surg*, 9: 114–115.

[23, 24]. Immunologiczna odpowiedź komórkowa przy udziale limfocytów T oraz makrofagów następuje zarówno w przypadku prawidłowego procesu wżajania protezy, jak również w przypadku współistniejącego zakażenia [25, 26].

Uwzględnione w analizie przeprowadzonej przez autorów niniejszej pracy kryterium obecności lub braku występowania nacieku zapalnego w otoczeniu zbiorników płynowych charakteryzuje się także ograniczoną specyficznością w różnicowaniu etiologii zmian okołoprotezowych. Stanowi to między innymi następstwo braku obiektywnych metod oceny obecności nacieku. W przypadku zbiorników zawierających żółć rzadsze występowanie nacieku zapalnego może być wynikiem ograniczonej liczby bakterii w płynie. Dodatkowo powstająca cienka warstwa martwicy, tworząca rodzaj pseudotorebki, ogranicza penetrację bakterii i enzymów trawiennych do otaczających tkanek.

Ze względu na zbyt małą liczebność badanej grupy autorzy pracy nie stwierdzili statystycznie istotnych różnic pod względem wielkości poszczególnych parametrów. Zaobserwowali oni natomiast występowanie pewnych tendencji. U pacjentów z przetoką protezowo-jelitową odnotowali niskie stężenie mocznika, wysokie stężenie bilirubiny całkowitej i bezpośredniej oraz brak nacieku zapalnego wokół płynu nagromadzonego przy protezie. Niski stosunek bilirubiny całkowitej do bezpośredniej sugeruje przeważający udział bilirubiny bezpośredniej. Natomiast u pacjentów bez przetoki protezowo-jelitowej stężenie mocznika było wysokie, stężenie obu postaci bilirubiny było niskie z przewagą bilirubiny pośredniej. Tendencje te można tłumaczyć za pomocą faktu, że w żółci nie ma mocznika, natomiast jest on obecny w osoczu krwi i może być obecny zarówno w przesięku, jak i w wysięku. Autorzy niniejszej pracy nie zaobserwowali natomiast żadnych istotnych różnic pomiędzy grupami w stężeniach amylazy.

W celu statystycznego potwierdzenia obserwowanych tendencji należy koniecznie przeprowadzić kolejne badania obejmujące większą grupę chorych. Autorzy niniejszego artykułu mają nadzieję, że kolejne badania potwierdzą przydatność analizy biochemicznej płynu okołoprotezowego w różnicowaniu etiologii procesów towarzyszących wżajaniu protezy naczyniowej.

## Wnioski

Nawet wysokie stężenia bilirubiny całkowitej i bezpośredniej w płynie gromadzącym się wokół protezy nie są wystarczające do rozpoznania przetoki protezowo-jelitowej. Większą wartość diagnostyczną prawdopodobnie ma niskie stężenie mocznika w badanym płynie.

17. Williams GM (1998) The management of massive ultrafiltration distending the aneurysm sac after abdominal aortic aneurysm repair with a polytetrafluoroethylene aorto-biiliac graft. *J Vasc Surg*, 28: 551–555.
18. Marois Y, Guidoin R, Roy R et al (1996) Selecting valid in vitro biocompatibility tests that predict the in vivo healing response of synthetic vascular prostheses. *Biomaterials*, 17: 1835–1842.
19. Bolton W, Cannon JA (1981) Seroma formation associated with PTFE Vascular grafts used as arteriovenous fistule. *Dial Transplant*, 10: 60–66.
20. Blumenberg RM, Gelfand ML, Dale WA (1985) Perigraft seromas complicating arterial grafts. *Surgery*, 97: 194–204.
21. Glowinski S, Worowski K, Kondracki S et al (1992) Changes in the activity of the clotting system and fibrinolysis components in the layers of double velour DALLON grafts at different periods after implantation into the aorta. *Polim Med*, 22: 31–42.
22. Li J, Menconi MJ, Wheeler HB et al (1992) Precoating expanded PTFE grafts alters production of endothelial cell-derived thrombomodulators. *J Vasc Surg*, 15: 1010–1017.
23. Percy-Robb JW (1999) Liver and bile duct. In: Angielski S, Jakubowski Z, Dominiczak MH (eds). *Physiological chemistry*. Perseusz, Sopot: 177–186.
24. Skóra J, Patrzalek D, Janczar D et al (2002) Leukocytic enzymes during the synthetic vascular prosthesis healing process. *Pol J Surg*, 74: 126–135.
25. Lodi M, Cavallini G, Susa A, Lanfredi M (1988) Biomaterials and immune system: cellular reactivity towards PTFE and Dacron vascular substitutes pointed out by the leukocyte adherence inhibition (LAI) test. *Int Angiol*, 7: 344–348.
26. Zippel R, Wilhelm L, Marusch F et al (2001) Antigenicity of polyester (Dacron) vascular prostheses in an animal model. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 21: 202–207.