



UNIVERZITET U NOVOM SADU

MEDICINSKI FAKULTET

Klinička medicina

**UTICAJ ANTISEPTIKA I ANTIBIOTIKA NA
FORMIRANJE BAKTERIJSKOG BIOFILMA NA
RAZLIČITO TEKSTURISANIM SILIKONSKIM
IMPLANTATIMA ZA DOJKU**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentori:

Doc. dr Jelena Nikolić

Prof. dr Vera Gusman

Kandidat:

dr Marija Marinković

Novi Sad, 2019. godine.

UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Marija Marinković
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Doc. dr Jelena Nikolić Prof. dr Vera Gusman
Naslov rada: NR	Uticaj antiseptika i antibiotika na formiranje bakterijskog biofilma na različito teksturisanim silikonskim implantatima za dojku
Jezik publikacije: JP	srpski
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2019.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3

Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja 8 / stranica 120/ slika 5 / grafikona 50 /tabela 9 /referenci 171 / priloga 0)
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Plastična i rekonstruktivna hirurgija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	implantati za dojku; silikoni; silikonski elastomeri; površinska svojstva; kapsularna kontraktura implantata; anaplastični krupnoćelijski limfom; postoperativne komplikacije; biofilm; terapijska irigacija; antiinfektivni lekovi; antibakterijski lekovi
UDK	618.19-089.843-06:616.98
Čuva se: ČU	u biblioteci Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, Hajduk Veljkova 3
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	Najčešća komplikacija nakon ugradnje silikonskih implantata za dojku je kontraktura fibrozne kapsule (KK), koja se normalno stvara oko implantata u sklopu reakcije oko stranog tela. Najozbiljnija komplikacija nakon ugradnje silikonskih implantata za dojku je anaplastični krupnoćelijski limfom koji se javlja isključivo kod pacijentkinja koje imaju ugrađene implantate (<i>eng. Breast-implant associated anaplastic large cell lymphoma - BIA ALCL</i>). Uzrok nastanka ovih komplikacija ostaje nepoznat. Ustanovljeno je da se KK manje javlja kod implantata koji imaju makroteksturisane površine i kod onih koji su presvučeni poliuretanskom penom. S druge strane, BIA-ALCL se češće dijagnostikuje kod pacijentkinja kojima su ugrađeni upravo makroteksturisani implantati. Subklinička infekcija koja predstavlja odgovor organizma na postojanje biofilma na ugrađenim implantatima, predstavlja jedan od najznačajnijih etioloških faktora za nastanak KK i BIA-ALCL. Biofilm je konglomerat mikroorganizama uronjenih u matriks koji ih štiti od dejstva antibiotika i antiseptika. Kako je nemoguće delovati medikamentozno na eradikaciju biofilma, brojni autori daju razne preporuke u cilju izbegavanja kontaminacije implantata tokom operativnog zahvata, a time i formiranja biofilma. Pored brojnih mera, savetuje se i ispiranje džepa u koji će se plasirati proteza kao i same proteze, nekim od antiseptičkih ili antibiotskih rastvora. Do sada ne postoje prihvaćene jasne preporuke o načinu

ispiranja različitih implantata, objavljena su samo lična iskustva raznih autora. Ciljevi ovog istraživanja su bili da se ustanovi mogućnost formiranja biofilma četiri različite bakterije (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Ralstonia pickettii*) na tri različito teksturisana silikonska implantata za dojku (sa porama veličine 70-150 μm , 50–900 μm i 13 μm) u *in vitro* uslovima; da se ispita da li ispiranje antisepticima (oktenidin-dihloridom i povidon jodom), ili antibiotikom (cefuroksimom) ili istovremeno mešavinom povidon joda i antibiotika pre bakterijske kontaminacije sa četiri različite bakterije ima uticaja na formiranje biofilma na tri različito teksturisana implantata za dojke u *in vitro* uslovima; i da se ispita efekat antiseptika u odnosu na efekat antibiotika na formiranje bakterijskog biofilma na tri različito teksturisana silikonska implantata za dojku. Istraživanje je koncipirano kao prospektivna studija u vidu eksperimenta koji je izveden u Laboratoriji za mikrobiologiju, Instituta za javno zdravlje Vojvodine u Novom Sadu. Za izvođenje eksperimenta korišćeni su uzorci tri vrste silikonskih implantata za dojku sa različito teksturisanim površinom, odnosno porama različite veličine: 70-150 μm , 50–900 μm , i 13 μm . Od svakog od navedenih implantata su pravljene uzorci, sečenjem kapsula implantata na komadiće veličine 1x1 cm. Ukupno je bilo 1440 uzoraka. Na osnovu teksture uzorci su podeljeni u tri grupe: Grupa 1 (pore veličine 70-150 μm), Grupa 2 (pore veličine 50–900 μm) i Grupa 3 (pore veličine 13 μm). Svaka od ovih grupa je dalje podeljena u jednu kontrolnu grupu i po četiri ispitivane grupe. Nakon sterilizacije uzoraka svaka kontrolna grupa je kontaminirana sa po 100 μl bakterijskog bujona *Staphylococcus epidermidis* (n=30), *Staphylococcus aureus* (n=30), *Pseudomonas aeruginosa* (n=30) i *Ralstonia pickettii* (n=30). Ispitivane grupe se bile podeljene prema načinima ispiranja na one u kojima su uzorci prvo ispirani: oktenidin – dihidrohloridom ili povidon jodom ili cefuroksimom ili kombinacijom povidon joda i dva antibiotika, pa potom kontaminirani sa po 100 μl bakterijskog bujona *Staphylococcus epidermidis* (n=30), *Staphylococcus aureus* (n=30), *Pseudomonas aeruginosa* (n=30) i *Ralstonia pickettii* (n=30). Po završenoj kontaminaciji, uzorci su se inkubirali na temperaturi od 37°C u

trajanju od 96h, čime su stvoreni uslovi za formiranje biofilma. Nakon inkubacije, svaki pojedinačni uzorak je uronjen u sterilan tripton soja bujon, izlagan soničnoj energiji u trajanju od 1minuta i zatim vorteksiran 1 minut, čime je omogućeno odvajanje nastalog biofilma od implantata. Za ispitivanje sposobnosti formiranja biofilma korišćena je modifikovana tehnika sa mikrotitar pločom po Stepanoviću. Rezultati su pokazali da sve četiri ispitivane bakterije *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* i *Ralstonia pickettii* statistički značajno više stvaraju biofilm na implantatima sa porama veličine 50–900 μm u odnosu na pore 70-150 μm i u odnosu na pore veličine 13 μm . Biofilm se statistički značajno više stvara na porama veličine 70-150 μm u odnosu na pore 13 μm . Jedini izuzetak je *Pseudomonas aeruginosa* kod kojeg ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma na teksturisanim implantatima sa porama veličine 70-150 μm u odnosu na one sa porama 13 μm . Takođe, sve četiri ispitivane bakterije statistički značajno manje stvaraju biofilm nakon ispiranja povidon jodom, oktenidin-dihidrohloridom ili rastvorom antibiotika u sve tri grupe implantata, u odnosu na površine koje nisu ispirane. Izuzetak je *S. epidermidis* u Grupi 3 kod kojeg nije utvrđeno statistički značajno manje formiranje biofilma nakon ispiranja oktenidin dihidrohloridom u odnosu na neispiranje. Cefuroksim je bio efikasniji u sprečavanju formiranja biofilma sve četiri ispitivane bakterije u odnosu na neispiranje u Grupi 1, kao i za *S. epidermidis* i *Ralstoniu Pickettii* u Grupi 2. Cefuroksim se nije pokazao statistički značajno efikasnim u sprečavanju formiranja biofilma *S. aureus* i *P. aeruginosa* u Grupi 2, kao ni kod jedne bakterije u Grupi 3. Dalje je dokazano da su antiseptici (oktenidin-dihirohlorid i povidon jod) kao i mešavina povidon joda i dva antibiotika (cefuroksim i gentamicin), statistički značajno efikasniji od ispiranja samo antibiotikom-cefuroksimom u smanjenju formiranja biofilma sve četiri ispitivane bakterije kod sva tri ispitivana, različito teksturisana silikonska implantata. Rezultati su pokazali da je ispiranje povidon jodom statistički značajno efikasnije u prevenciji stvaranja biofilma kod skoro svih ispitivanih bakterija od ispiranja oktenidin- dihidrohloridom u sve tri grupe implantata. Statistički značajna razlika nije utvrđena u prevenciji stvaranja biofilma

	<p><i>Staphylococcus aureus</i> kod sve tri grupe implantata prilikom ispiranja povidon jodom u odnosu na oktenidin- dihidrohlorid, kao i kod <i>Ralsotnia pickettii</i> u Grupi 2. Na osnovu rezultata ove studije, preporuka je da se koriste mikroteksturisasi implantati kao i da se oni, pre ugradnje isperu povidon jodom ili mešavinom povidon jod i dva antibiotika (cefuroksim i gentamicin), u cilju prevencije stvaranja biofilma, a time i postoperativnih komplikacija koje mogu nastati nakon ugradnje implantata.</p>
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	12.07.2018.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	<p>predsednik: Prof. dr Zlata Janjić član: Prof. dr Mladen Jovanović član: Prof. dr Aleksandar Komarčević član: Prof. dr Nenad Stepić član: Doc. dr Deana Medić</p>

University of Novi Sad
ACIMSI

Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Marija Marinković
Mentor: MN	Doc. dr Jelena Nikolić Prof. dr Vera Gusman
Title: TI	The influence of antiseptic and antibiotic irrigation on bacterial biofilm formation on silicon breast implants
Language of text: LT	serbian
Language of abstract: LA	eng. / srp.
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2019.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	21000 Novi Sad, Serbia, Hajduk Veljkova 3

Physical description: PD	(number of chapters 8/ pages 120/ pictures 5/ tables 9/graphs 50/ citations 171/ supplements 0)
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Plastic and reconstructive surgery
Subject, Key words SKW	Breast Implants; Silicones; Silicone Elastomers; Surface Properties; Implant Capsular Contracture; Lymphoma, Large-Cell, Anaplastic; Postoperative Complications; Biofilms; Therapeutic Irrigation; Anti-Infective Agents; Antibacterial Agents
UC	618.19-089.843-06:616.98
Holding data: HD	Library of Medical Faculty in Novi Sad, Hajduk Veljkova 3, 21000 Novi Sad
Note: N	
Abstract: AB	<p>The most common complication after breast implant surgery is contracture of capsule, which is normally formed around implants as part of foreign body reaction. The most sincere complication after this kind of surgery is breast implant associated anaplastic large cell lymphoma (BIA-ALCL). The cause of these complications is still unknown. It is evident that capsular contracture (CC) is seen less frequently in patients with macro-textured implants and in those with implants covered with polyurethane foam. On the other hand, BIA-ALCL is diagnosed more frequently in patients with those, macro-textured implants. Subclinical infection, defined as an response of organism on presence of biofilm on the implant, is considered to be one of the most important etiologic factors for CC and BIA-ALCL. Biofilm is a conglomerate of microorganisms immersed into matrix, which protects them from influence of antibiotics and antiseptics. As it is impossible to eradicate biofilms with medicaments, many authors suggest different steps in order to avoid contamination of the implant during the operation and therefore, prevent the formation of biofilm. Among many tips, it is recommended to irrigate the pocket for breast implant and the implant itself, with some antiseptic or antibiotic solution. Up till now, there is no agreed consensus on the type of irrigation for different implants. Only personal experiences of a few authors have been published. Aims of this research were: to establish the possibility of biofilm formation of four different bacteria (<i>Staphylococcus epidermidis</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Ralstonia pickettii</i>) on three differently textured</p>

breast implants (with pore diameter of 70-150 μm , 50–900 μm and 13 μm) *in vitro*; to examine whether the irrigation of implant with antiseptics (povidone iodine and octenidine dihydrochloride), antibiotics (cefuroxime) or mixture of povidone iodine and two antibiotics, before the contamination with bacteria, has an influence on the incidence on biofilm formation on three differently textured implants; and to examine the effect of antiseptics in contrast to the effect of antibiotics on biofilm formation on three differently textured breast implants. The study was conducted as a prospective research that took place at the Laboratory for microbiology, at the Institute of public health of Vojvodina in Novi Sad. For the experiment, three types of silicone breast implants were used with different pore sizes: 70-150 μm , 50–900 μm and 13 μm . Samples were made by cutting each of these types of implants into pieces sized 1x1cm. There were 1440 samples in total. According to texture, samples were divided into three groups: Group 1 (pore size 70-150 μm), Group 2 (pore size 50–900 μm) and Group 3 (pore size 13 μm). Furthermore, each of these groups was divided into one control and four test groups. After sterilisation of samples, every control group was contaminated with 100 μl of bacterial broth of *Staphylococcus epidermidis* (n=30), *Staphylococcus aureus* (n=30), *Pseudomonas aeruginosa* (n=30) and *Ralstonia pickettii* (n=30). Tested groups were divided according to type of irrigation into those where samples were firstly irrigated with either: octenidine dihydrochloride or povidone iodine or cefuroxime or mixture of povidone iodine with two antibiotics, and after the irrigation, contaminated with 100 μl bacterial broth of *Staphylococcus epidermidis* (n=30), *Staphylococcus aureus* (n=30), *Pseudomonas aeruginosa* (n=30) and *Ralstonia pickettii* (n=30). After contamination, samples were incubated on 37°C for 96h, which created excellent conditions for biofilm formation. After incubation, each sample was dipped into sterile trypton soy broth, and then exposed to sonic energy for 1 minute and vortexed for 1 minute, which made biofilm separate from the implant. For testing the capability of biofilm formation, modified technique with microtitar plates described by Stepanović was used. Results show that all four examined bacteria *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *Ralstonia pickettii* form more biofilm on implants with pore sizes 50–900 μm compared to implants with pore size 70-150 μm and those with 13 μm . Statistical significance was found in biofilm

	<p>formation on implants with pores 70-150 μm compared to implants with pores 13 μm. Furthermore, all four examined bacteria form statistically less biofilm after the irrigation with any of used solutions: povidone iodine, octenidine dihydrochloride, antibiotic solution of mixture of povidone iodine and two antibiotics, in all three groups of implants compared to surfaces that were not irrigated. The exception is <i>S. epidermidis</i> in Group 3, where no statistical significance was found on biofilm formation after the irrigation with octenidine dihydrochloride compared to non-irrigation. Cefuroxime was more efficient in biofilm prevention for all four tested bacteria compared to non-irrigation in Group 1 and for <i>S. epidermidis</i> and <i>Ralstonia pickettii</i> in Group 2. There was no statistical significance found in prevention of <i>S. aureus</i> i <i>P. aeruginosa</i> biofilms when irrigating with cefuroxime in Group 2, as well as for all tested bacteria in Group 3. Furthermore, it was verified that antiseptics (octenidin dihydrochloride and povidone iodine) and mixture of povidone iodine and two antibiotics (cefuroxime and gentamycin), were statistically more efficient in biofilm prevention of all four examined bacteria in all groups of implants, compared to irrigation with antibiotic-cefuroxime alone. Results show that irrigation with povidone iodine is statistically more efficient in biofilm prevention of almost all examined bacteria compared to irrigation with octenidine dihydrochloride in all groups of implants. There was not found any statistical significance in prevention of <i>Staphylococcus aureus</i> biofilm when irrigating with povidone iodine compared to octenidine dihydrochloride in all groups of implants, and also in biofilm prevention of <i>Ralsotnia pickettii</i> in Group 2. According to results of this research, it is recommended to use micro-textured implants and to irrigate them with povidone iodine or mixture of povidone iodine and two antibiotics (cefuroxime and gentamycin) prior the implementation, in order to prevent biofilm formation which is most probable cause of postoperative complications after implant surgery.</p>
Accepted on Senate on: AS	12 th July 2018.
Defended: DE	

Thesis Defend Board: DB	president: Prof. dr Zlata Janjić member: Prof. dr Mladen Jovanović member: Prof. dr Aleksandar Komarčević member: Prof. dr Nenad Stepić member: Doc. dr Deana Medić
----------------------------	---

Zahvalnica

Zahvaljujem se mentorima doc. dr Jeleni Nikolić i prof. dr Veri Gusman na ukazanom poverenju, nesebičnoj pomoći i podršci tokom izrade ove doktorske disertacije.

Posebnu zahvalnost dugujem prof. dr Zlati Janjić, mom hirurškom mentoru i prijatelju, na bezrezervnoj podršci, prenetom znanju i prilici za rano osamostaljivanje tokom mog hirurškog razvoja i rada.

Zahvaljujem se svim zaposlenim na Klinici za plastičnu hirurgiju KC Vojvodine, kao i svim zaposlenim u laboratoriji Centra za mikrobiologiju Instituta za javno zdravlje Vojvodine.

Zahvaljujem se mojim roditeljima, Smiljani i Draganu Marinković, na neiscrpnom strpljenju, tehničkoj i moralnoj podršci tokom izrade ove disertacije, kao i ohrabrenjima tokom celokupnog školovanja.

Hvala Pedji što sa mnom deli i lepe i teške trenutke i zajedno sa Nikolom i Jelenom čini život kompletnim.

Posvećeno mojim roditeljima

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Hirurgija ugradnje silikonskih implantata.....	3
1.2. Kontraktura kapsule (KK).....	4
1.3. Anaplastični krupnoćelijski limfom udružen sa implantatima za dojku <i>Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma (BIA-ALCL)</i>	10
1.4. Silikonski implantati.....	13
1.4.1. Silikon.....	13
1.4.2. Implantati ispunjeni silikonskim gelom.....	14
1.4.3. Različite teksture implantata za dojku.....	15
1.4.4. Implantati ispunjeni fiziološkim rastvorom.....	16
1.4.5. Odgovor organizma na silikon i različitu teksturu implantata.....	17
1.4.6. Dupla kapsula i kasni serom.....	19
1.4.7. Implantati.....	19
1.5. Biofilm i subklinička infekcija.....	20
1.5.1. Metode za očitavanje biofilma.....	22
1.5.2. Najčešći uzročnici bakterijskog biofilma na silikonskim implantatima za dojku.....	23
1.5.3. Uticaj biofilma i subkliničke infekcije na pojavu KK i BIA-ALCL..	25
1.5.4. Prevencija stvaranja biofilma.....	27
1.5.5. Sredstva koja se koriste za ispiranje džepa i proteza.....	28
1.5.5.1. Povidon jod.....	28
1.5.5.2. Oktenidin dihidrohlorid.....	29
1.5.5.3. Rastvori antibiotika.....	30
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	31

3. HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA.....	32
4. MATERIJAL I METODE.....	33
4.1. Statistička obrada podataka.....	38
5. REZULTATI.....	39
5.1. Produkcija biofilma svake bakterije po grupama implantata.....	39
5.1.1. GRUPA 1. – silikonski implantati sa porama veličine 70-50 μm.....	39
5.1.2. GRUPA 2. – silikonski implantati sa porama veličine 50-900 μm.....	44
5.1.3. GRUPA 3. – silikonski implantati sa porama veličine 13 μm.....	49
5.2. Uticaj teksture na formiranje biofilma za svaku bakteriju – kontrolne grupe	55
5.2.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	55
5.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	56
5.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	57
5.2.4. <i>Ralstonia pickettii</i>	58
5.3. Efekti ispiranja na formiranje biofilma svake bakterije – ispitivane grupe.....	60
5.3.1. GRUPA 1. - silikonski implantati sa porama veličine 70-150 μm.....	60
5.3.1.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	60
5.3.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	61
5.3.1.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62
5.3.1.4. <i>Ralstonia pickettii</i>	63
5.3.2. GRUPA 2 – silikonski implantati sa porama veličine 50-900 μm.....	64
5.3.2.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	64
5.3.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	65
5.3.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	66
5.3.2.4. <i>Ralstonia pickettii</i>	67
5.3.3. GRUPA 3– silikonski implantati sa porama veličine 13 μm.....	69

5.3.3.1.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	69
5.3.3.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	70
5.3.3.3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	71
5.3.3.4.	<i>Ralstonia pickettii</i>	72
5.4.	Komparacija efekata ispiranja povidon jodom i oktenidin dihidrohloridom....	73
5.4.1.	GRUPA 1 – silikonski implantati sa porama veličine 70-50 µm.....	73
5.4.2.	GRUPA 2– silikonski implantati sa porama veličine 50-900 µm.....	74
5.4.3.	GRUPA 3– silikonski implantati sa porama veličine 13 µm.....	74
5.5.	Komparacija efekata različitih ispiranja na formiranje biofilma svake bakterije.....	75
5.5.1.	Ispiranje Oktenidin-dihidrohloridom.....	75
5.5.1.1.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	75
5.5.1.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	76
5.5.1.3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	77
5.5.1.4.	<i>Ralstonia pickettii</i>	78
5.5.2.	Ispiranje Povidon jodom.....	79
5.5.2.1.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	79
5.5.2.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	80
5.5.2.3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	81
5.5.2.4.	<i>Ralstonia pickettii</i>	82
5.5.3.	Ispiranje antibiotikom-cefuroksimom.....	83
5.5.3.1.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	83
5.5.3.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	84
5.5.3.3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	85
5.5.3.4.	<i>Ralstonia pickettii</i>	86
5.5.4.	Ispiranje kombinacijom povidon joda i dva antibiotika.....	87
5.5.4.1.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	87

5.5.4.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	88
5.5.4.3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	89
5.5.4.4.	<i>Ralstonia pickettii</i>	90
5.6.	Najbolji način ispiranja po vrstama implantata.....	91
5.6.1.	GRUPA 1 - silikonski implantati sa porama veličine 70-150 μm	91
5.6.2.	GRUPA 2 - silikonski implantati sa porama veličine 50-900 μm	92
5.6.3.	GRUPA 3 - silikonski implantati sa porama veličine 13 μm	93
6.	DISKUSIJA.....	95
6.1.	LIMIT STUDIJE.....	106
7.	ZAKLJUČCI.....	107
8.	LITERATURA.....	109

1. UVOD

Želja za uvećanjem dojki radi postizanja što poželjnijeg izgleda ili izjednačavanja asimetrije nije nova. Kroz istoriju su opisani brojni pokušaji i načini uvećanja dojki, a savremeni standard podrazumeva ugradnju silikonskih proteza hirurškim putem.

Prvi literaturni podaci o uvećanju dojki su zabeleženi krajem XIX veka. Hirurg Vincens Czerny je 1895. opisao transplantaciju autolognog tkiva pacijentkinje, odnosno lipoma uklonjenog sa grudnog koša, u dojkama na kojoj je urađena parcijalna mastektomija (1,2). Robert Gersunz je 1889. eksperimentisao sa injekcijama parafina u tkivo dojke, što je rezultiralo katastrofalnim rezultatima (3). Početkom XX veka zabeleženi su brojni pokušaji da se dojke uvećaju ugradnjom najrazličitijih materijala kao što su staklene kugle, preparati gume, hrskavice životinja, lateks. Korišćeni su i poliuretani, politetrafluoroetilen (Teflon), polivinil-alcohol-formaldehid, ali su pacijentkinje često razvijale lokalnu reakciju tkiva, praćenu naglašenom čvrstoćom dojke, izmenjenim oblikom i različitim subjektivnim tegobama (4). Uvećanje dojki je pokušano i direktnim ubrizgavanjem čvrstih i polučvrstih materijala (kao što su epoksi resin, shellac, parafin, pčelinji vosak, petrolejski gel i tečni silicon) u parenhim dojke. Međutim, ni ove metode nisu dale zadovoljavajuće rezultate. Kao rezultat ugradnje ili ubrizgavanja ovih preparata dolazilo je do nekroze kože, infekcije, pojave granuloma, fistula, plućne embolije, problema sa funkcijom jetre, a kod jednog broja pacijentkinja je bila potrebna i mastektomija. Ponekad su komplikacije dovodile i do smrtnog ishoda (5,6). Ozbiljnost i veliki broj komplikacija nastalih ugradnjom veštačkih materijala, podstakle su potragu za što adekvatnijim načinom za uvećanje dojki. Godine 1954. Longacre je opisao lokalni dermalni režanj za augmentaciju dojke (7). Međutim, kasnija iskustva su pokazala da su uvećanja dojki sopstvenim tkivom bezbedna, ali je konačan rezultat često nepredvidiv i neprihvatljiv.

Početak nove ere u hirurgiji dojke su obeležila dva američka hirurga, Thomas Cronin i Frenk Gerou koji su 1961. godine razvili prvu protezu dojke ispunjenu silikonskim gelom, a 1962. uradili prvu implantaciju ovih proteza (8). Proteze su vremenom usavršavane u cilju postizanja što prirodnijeg izgleda i smanjenja komplikacija, tako da danas na tržištu postoje proteze različitih dimenzija, projekcija, oblika (okrugle ili anatomske), različitog punjenja

(fiziološki rastvor ili silikonski gel) i različito teksurisane površine (glatke, makro-, mikro- ili nanoteksturisane).

Ugradnja silikonskih implantata uopšte je u širokoj primeni u plastičnoj, rekonstruktivnoj i estetskoj hirurgiji, a najčešće su u upotrebi oni za dojke. Implantati se koriste u sklopu nekoliko hirurških procedura: kod rekonstrukcije dojki nakon mastektomije ili urođenih anomalija, kod korekcija asimetrije dojki različite etiologije, i kod augmentacione mamoplastike, odnosno mastopeksije sa implantatima u cilju povećanja dojki kao jedne od najčešćih procedura u estetskoj hirurgiji. Procene na svetskom nivou su da oko 4 miliona žena ima ugrađene silikonske implantate što u estetske, što u rekonstruktivne svrhe (9,10).

Iako hiruršku proceduru ugradnje silikonskih implantata prati visok nivo zadovoljstva pacijenata, ponekad se mogu javiti komplikacije koje zahtevaju konzervativno ili operativno lečenje. Produženo lečenje, kao i mogući lošiji estetski rezultat se odražavaju na zadovoljstvo i kvalitet života pacijenata, a značajno povećavaju i troškove.

Najčešća komplikacija nakon ugradnje silikonskih implantata za dojku je kontraktura fibrozne kapsule, koja se normalno stvara oko implantata u sklopu reakcije oko stranog tela. Handel et al. su u svojoj 25 godišnjoj studiji pokazali da je kontraktura kapsule (KK) ne samo najčešća komplikacija nego i najčešći uzrok reoperacije kod pacijenata koji su ugradili implantate u cilju uvećanja dojki (11). Najozbiljnija komplikacija nakon ugradnje silikonskih implantata za dojku je anaplastični krupnoćelijski limfom koji se javlja isključivo kod pacijentkinja koje imaju ugrađene implantate (*eng. Breast-implant associated anaplastic large cell lymphoma - BIA ALCL*) (10).

Uzrok nastanka ovih komplikacija ostaje nepoznat. Ustanovljeno je da se KK manje javlja kod implantata koji imaju makroteksturisane površine i kod onih koji su presvučeni poliuretanskom penom. S druge strane, BIA-ALCL se češće dijagnostikuje kod pacijentkinja kojima su ugrađeni upravo makroteksturisani implantati. Takođe, za jedan od najznačajnijih etioloških faktora smatra se subklinička infekcija koja predstavlja odgovor organizma na postojanje biofilma na ugrađenim implantatima. Biofilm je konglomerat mikroorganizama uronjenih u matriks koji ih štiti od dejstva antibiotika i antiseptika. Kako je nemoguće delovati medikamentozno na eradikaciju biofilma, brojni autori daju razne preporuke u cilju izbegavanja kontaminacije implantata tokom operativnog zahvata, a time i formiranja biofilma (12,13,14). Pored brojnih mera, savetuje se i ispiranje džepa u koji će se plasirati proteza kao i same proteze, nekim od antiseptičkih ili antibiotskih rastvora. Do sada ne

postoje prihvaćene jasne preporuke o načinu ispiranja različitih implantata, objavljena su samo lična iskustva raznih autora.

1.1. Hirurgija ugradnje silikonskih implantata

Danas se uvećanje dojki može postići autolognim tkivom (ubrizgavanjem sopstvenog masnog tkiva – eng. *lipofiling*, ili različitim režnjevima ukoliko se radi o rekonstruktivnoj hirurgiji), ugradnjom silikonskih implantata ili kombinovanjem ova dva načina.

Ugradnja implantata za dojke u cilju uvećanja dojki predstavlja drugu po učestalosti kozmetičku operaciju uopšte na području SAD, a slični su proračuni i za ostatak sveta. Procenjuje se da preko 4 miliona žena u svetu ima ugrađene implantate za dojku (9,14).

Postoje četiri različita pristupa za ugradnju implantata: inframamarni, periareolarni, aksilarni i transumbilikalni. Svaki ima svoje prednosti i mane. Inframamarni pristup podrazumeva pozicioniranje reza u inframamarnoj brazdi čime se omogućava dobra preglednost džepa u koji će se postaviti proteza, ali ostavlja ožiljak dužine oko 5cm. Kod periareolarnog pristupa, incizija se plasira duž donje polovine cirkumferencije areole, tako da ožiljak ostaje dobro kamufliran. Iako je preglednost džepa relativno dobra, ovaj pristup je povezan sa većim rizikom za nastanak kontaminacije od bakterija poreklom iz duktalnih kanala, kao i sa povećanim rizikom za izmenjen senzibilitet bradavice. Aksilarni i transumbilikalni pristup ostavljaju dobro sakrivene ožiljke, ali su znatno teži za izvođenje, često zahtevaju upotrebu endoskopa i omogućavaju ugradnju samo proteza koje se pune fiziološkim rastvorom nakon ugradnje (1).

Bez obzira na vrstu pristupa, disekcija džepa u koji će se plasirati proteza se može raditi u subglandularnom prostoru (ispod mlečne žlezde i iznad fascije velikog grudnog mišića (*m. pectoralis major*), u submuskularnom prostoru tj. ispod velikog grudnog mišića ili u subfascijalnom prostoru (ispod fascije velikog grudnog mišića). Subglandularna pozicija može dati dobre rezultate kod pacijenkinja koje imaju dovoljno tkivnog pokrivača, dok se kod mršavih pojedinaca implantat ponekad može lako napipati ili čak videti. Najčešće u primeni je submuskularno plasiranje proteze, čime je obezbeđen dobar pokrivač za implantat, a postignut i dobar estetski rezultat. U tim slučajevima je implantat postavljen delom ispod mišića u gornjem delu, a ispod žlezde u donjem delu, tj. u dve ravni (eng. “*dual plane*”) (1).

Iako se ugradnja implantata za dojku povezuje sa augmentacionom hirurgijom, široka je primena implantata i u rekonstruktivnoj hirurgiji dojke nakon mastektomija. Karcinom dojke je najčešći karcinom na području Velike Britanije, odgovoran je za 31% svih novootkrivenih karcinoma u opštoj populaciji žena, sa životnim rizikom od 1 u 8 žena. Oko 50000 žena se godišnje dijagnostikuje karcinom dojke, oko 16000 njih podležu mastektomiji u Velikoj Britaniji, a preko 96000 u SAD. U Srbiji godišnje oboli oko 4600 žena (15).

Hirurško lečenje karcinoma dojke je značajno evoluiralo. Halsted-ova radikalna mastektomija je bila standard od 1894. do 1960. godina, kada ju je nasledila modifikovana radikalna mastektomija (16). Mastektomija sa poštedom kože (*eng. skin sparing mastectomy* - SSM) je prvi put opisana 1990. od strane Toth i Lapperta, a podrazumevala je uklanjanje kompletne mlečne žlezde sa areolom i bradavicom sa poštedom kože i inframamarne brazde (17). Meta-analize su pokazale isti procenat recidiva kao i kod modifikovane radikalne mastektomije. Danas, se sve više pristupa mastektomiji sa poštedom bradavice (*eng. nipple sparing mastectomy*) (18). Nakon bilo koje od navedenih mastektomija se radi rekonstrukcija dojke koja se može postići autolognim tkivom (režnjevima ili ubrizgavanjem sopstvene masti - lipofilingom) ili implantatima. Zbog nedostatka tkiva dojke implantati se u ovim slučajevima postavljaju submuskularno i najčešće se biraju oni anatomskog oblika.

Nakon ugradnje silikonskih implantata za dojku mogu se javiti potencijalne komplikacije u koje spadaju: kontraktura kapsule, hematoma, serom, infekcija, nekroza, hipertrofično ili keloidno ožiljavanje, asimetrija dojki, rotiranje implantata ukoliko su ugrađeni anatomski implantati i BIA-ALCL.

Kod augmentacione hirurgije najčešća komplikacija je kapsularna kontraktura koja ujedno predstavlja i najčešći uzrok za reoperaciju (1,10). Sledeći po učestalosti razlozi za reoperaciju su ruptura implantata i malpozicija (11). Komplikacije su češće kod ugradnje implantata u rekonstruktivne svrhe zbog veće mogućnosti za kontaminaciju usled veće operativne rane i narušenih mlečnih kanala, kao i zbog sledstvene radioterapije.

1.2. Kontraktura kapsule (KK)

Implantacija bilo kojeg ne-biološkog materijala u organizam izaziva odgovor organizma u vidu reakcije na strano telo što se manifestuje formiranjem fibrozne kapsule oko stranog

materijala (19). U pokušaju da odstrani strano telo, organizam reaguje inflamatornim odgovorom koji rezultuje u enkapsulaciji stranog tela. Reakcija organizma na protezu počinje inflamatornim odgovorom sa dolaskom polimorfonukleara, T ćelija i makrofaga. Vremenom se broj proinflamatornih ćelija smanjuje, a zamenjuju ih fibroblasti koji se akumuliraju oko implantata. Tada se formira fibrozna kapsula (13). Proinflamatorne ćelije luče citokine i faktore raste, kao što je transformišući faktor rasta β (TGF- β). Ovi proteini su najvažniji stimulusi koji podstiču transformaciju fibroblasta iz kapsule u miofibroblaste. Miofibroblasti imaju sposobnost da se kontrahuju i produkuju kolagen koji tokom svoje maturacije i remodelovanja, obezbeđuje dovoljnu snagu za smanjenje ukupne površine kapsule oko implantata (20). U slučaju velikog broja miofibroblasta, a time i njihove izraženije aktivnosti, dolazi do kontrakture kapsule.

Incidenca KK se kreće od 0-50%, mada najveći broj radova opisuje incidencu 8-15% kod augmentacione hirurgije, a 15%-30% kod rekonstrukcija dojki (1,10,21,22). Takođe, incidenca je niža kod primarnih operacija (\approx 20%), u odnosu na revizione operacije (\approx 30%) (21,22). Iako se ova komplikacija može javiti u bilo kom trenutku nakon ugradnje proteza, najčešće se javlja tokom prve dve godine od operacije (21), dok je prema Virden i sar. najčešća incidenca pojave KK od 2 meseca do godinu dana nakon implantacije (23).

Uprkos istraživanjima koja traju blizu tri decenije, do danas tačna etiologija KK ostaje nepoznata. Postoje brojne debate oko patogeneze. Kao što je već navedeno, ugradnja silikonskih implantata izaziva odgovor organizma u vidu formiranja fibrozne kapsule oko implantata. Normalno je da je ova kapsula meka i tanka i ne utiče na oblik dojke. Nasuprot tome, kontrahovana kapsula ima tendenciju da zadeblja, očvrsne i steže se oko implantata, smanjujući svoju ukupnu površinu. Ova reakcija se javlja kao posledica povećanog broja miofibroblasta unutar kapsule (21,24).

Histološke analize su pokazale da se fibrozna kapsula sastoji iz tri sloja; spoljašnjeg, srednjeg i unutrašnjeg. Srednji sloj je taj koji je najbogatiji miofibroblastima, kolagenim vlaknima i novoformiranim krvnim sudovima, što je posebno naglašeno kod izražene kontrakture (25). Takođe, orijentacija i distribucija kolagenih vlakana se menja sa pogoršavanjem kontrakture. Naime, kod izraženih kontraktura kolagena vlakna su deblja i grupišu se u snopove koji su postavljeni normalno na fibroblaste formirajući tako strukturu heliksa (26).

Za nastanak KK opisani su brojni faktori rizika. Najvažniji među faktorima rizika su formiranje biofilma oko implantata, infekcija u perioperativnom periodu, formiranje

hematoma, radioterapija, curenje silikonskog gela, sklonost ka hipertrofičnom ožiljavanju, odabir hirurške tehnike i pristupa kao i hormonalni status pacijenta.

- **Biofilm kao faktor rizika** – detaljno na strani 26.
- **Odgovor organizma na silikon i površinu implantata** – strana 17.
- **Pristup i hirurška tehnika**

Prvobitni standard za poziciju implantata je bila subglandularna ugradnja. Subglandularno pozicioniranje proteza je često imalo loš estetski rezultat jer su se proteze ocrtavale na površini kože posebno kod mršavih individua. U slučaju postavljanja prevelikih implantata neretko je dolazilo do njihove ekstruzije. Pojava ekstruzije je bila posebno česta kod mastektomiranih pacijentkinja gde je proteza postavljena praktično subkutano (27). Iz ovih razloga, submuskularni džep je dobio na popularnosti, a ujedno je doveo i do niže incidence KK. Ono što danas zovemo submuskularnom pozicijom kod augmentacione mamoplastike ustvari “dual plane” tehnike u kojoj je implantat samo u gornjoj trećini ili polovini pod mišićem, a u distalnoj polovini subglandularno pozicioniran. Samo kod rekonstrukcije nakon mastektomije se prostor za implantat kreira tako da je on u celini ispod mišića. Brojne studije pokazale da se kod submuskularnog postavljanja implantata javlja niža incidenca KK u odnosu na subglandularno pozicioniranje (21,28,29).

Henriksen et al. su dokazali da ukoliko se proteze ugrađuju inframamarnim pristupom, rizik za nastanak KK je 6 puta manji u odnosu na bilo koji drugi pristup (28). Druga studija je pokazala da periareolarni pristup ima 16 puta veći rizik od KK, verovatno zbog narušavanja dukalnog sistema i posledične kontaminacije implantata (30).

Tupu disekciju, bez jasne vizualizacije anatomskih struktura, uz kreiranje džepa za protezu “na slepo” bi trebalo napustiti. Jasna vizualizacija svih struktura, uz atraumatsku disekciju tkiva i korektnu hemostazu smanjuje rizik od KK i drugih komplikacija. Handel et al. su utvrdili korelaciju hematoma i pojave KK (11).

Upotreba drenova se pokazala efikasnom u početku, ali su kasnije dugogodišnje studije pokazale nižu incidencu KK kod izbegavanja primene drenova (31,32,33).

- **Sklonost ka ožiljavanju**

Kod pacijenata sa izraženim hipertrofičnim ožiljavanjem potvrđena je pojačana kontraktilnost miofibroblasta ukazujući na individualnu sklonost ka ožiljavanju i formiranju izraženije kapsule (34).

- **Radioterapija**

Incidenca karcinoma dojke je u stalnom porastu, a protokoli lečenja pacijentkinja sa karcinomom dojki podrazumevaju često i radioterapiju nakon mastektomije. Poznato je da radioterapija dovodi do trajnih oštećenja mikrovaskularne mreže, što za posledicu ima hipoksiju tkiva te pogoršavanje ožiljavanja. Iz ovog razloga se rekonstrukciji dojke pristupa pažljivo, individualno se evaluira svaka pacijentkinja pri čemu se razmatra da li će se rekonstrukcija raditi autolognim tkivom, implantatom ili kombinacijom oba. Kao najčešća komplikacija vezana za radioterapiju izdvojile su se fibroza tkiva i kontraktura kapsule (35,36).

- **Hormonalni status**

Nedavne studije su pokazale da na kontrakciju kapsule utiče i hormonalni status. Naime, Dansey et al. su dokazali da postoperativna trudnoća predstavlja faktor rizika za nastanak kontrakture kapsule (22), dok su Persichetti et al. objavili niži stepen kontrakcije kapsule kod pacijentkinja kod kojih su implantati ugrađeni u sklopu rekonstrukcije dojke, a koje su bile na antiestrogenoj terapiji (37).

Dijagnoza KK se najčešće postavlja kliničkim pregledom, inspekcijom i palpacijom. Inspekcijom se u uznapredovalim formama KK uočava deformacija dojke i asimetrija, dok se palpacijom konstatuje da je dojka čvršća. Izraženost KK se klinički rangira na četiri stepena koje je opisao Baker 1978. godine, a koji se odnose samo na pacijentkinje kod kojih je proteza bila ugrađena u cilju augmentacije (38):

- Baker I stepen – označava dojku uobičajene forme, palpatorno meke konzistencije, meku kapsulu koja odgovara očekivanoj i normalnoj reakciji oko stranog tela, bez subjektivnih tegoba.
- Baker II stepen – odnosi se na dojke koje su neizmenjenog oblika, sa čvrstom i opipljivom, ali ne i vidljivom kapsulom. Pacijentkinje nemaju subjektivne tegobe.
- Baker III stepen – dojka je izmenjenog oblika, palpatorno tvrda, a implantat opipljiv i vidljiv. Pacijentkinje nemaju subjektivne tegobe.
- Baker IV stepen – dojke su čvrste, deformisane i bolne, a kapsula tvrda.

Spear je 1995. proširio ovu podelu uključivši i dojke kod kojih je proteza ugrađena u rekonstruktivne svrhe i dodatno je podelio prvi stepen po Baker-u na dva (39):

- IA stepen označava rekonstruisane dojke koje imponuju potpuno prirodno.
- IB stepen opisuje meku dojku, ali palpabilan implantat na pregledu.

U dijagnostici KK se koristi i mamografija koja je korisna kod minimalne do umerene kontrakture. Ultrazvuk je veoma senzitivna metoda za postavljanje dijagnoze KK, ali u rukama iskusnog radiologa (40). Kao zlatni standard za postavljanje dijagnoze smatra se magnetna rezonanca (MR) (41), dok je FDA (*eng. Federal Drug Administration*) preporučio redovne kontrole pomoću MR na svake tri odnosno dve godine nakon ugradnje proteza (42).

Smatra se da su stadijumi KK, I i II po Bakeru, prihvatljivi i ne zahtevaju nikakav tretman. Nasuprot njima, stadijumi III i IV po Bakeru zahtevaju neki vid lečenja što zbog lošeg estetskog izgleda, što zbog subjektivnih tegoba. Zlatni standard za lečenje KK je reoperacija koja podrazumeva, kapsulotomiju, kapsulektomiju i/ili vađenje implantata i ponovna ugradnja u drugu ravan (ukoliko je proteza bila ugrađena subglandularno preporučuje se postavljanje proteze submuskularno ili subfascijalno i obrnuto, ukoliko je proteza bila submuskularno, plasira se ispod žlezde) (22,39,42).

Otvorena kapsulotomija podrazumeva kružne i uzdužne rezove na fibroznoj kapsuli, ali se kapsula ne vadi. Na taj način dojke postaju mekše. Ova procedura je preporučljiva kod proteza plasiranih submuskularno (43). Kompletna kapsulektomija podrazumeva uklanjanje prednjeg i zadnjeg zida kapsule. Ovu proceduru prate veći rizici ukoliko se radi kod

submuskularno postavljenih implantata, jer zadnji zid kapsule direktno naleže na rebra i interkostalne mišiće, te uklanjanje kapsule nosi sa sobom rizik od pojave hematoma i pneumotoraksa (44). Kod kapsulektomija ili kapsulotomija, ukoliko implantat nije rupturiran ostaje nejasno da li je potrebno promeniti implantat ili ne, u smislu iste vrste implantata ali novog, sterilnog ili drugog tipa implantata koji je povezan sa manjim rizikom za nastanak KK (npr. poliuretanski implantat).

Samo uklanjanje implantata može rešiti problem kontrakture kapsule, ali često ostavlja nezadovoljavajući estetski rezultat. Nakon uklanjanja implantata glatke površine punjenih fiziološkim rastvorom, njihova kapsula se dodatno kontrahuje i redukuje u narednih nekoliko meseci, da bi nakon godinu dana gotovo iščezla (44).

Opisano je i nekoliko konzervativnih metoda za lečenje KK. Studija na pacovima je pokazala ohrabrujuće rezultate ubrizgavanjem pirfenidona neposredno po ugradnji i u trajanju od osam nedelja po ugradnji, nakon čega se ukupna količina kolagena smanjila za 50% (45). Pirfenidon ima antiinflamatorne i antifibrotičke karakteristike. Ispitivanja sa pirfenidonom još nisu sprovedena na ljudima.

Uočeno je i da primena antagonista leukotrijena kao što je zafirlukast, koji se koristi u lečenju astme statistički značajno smanjuje stepen KK (sa Baker III na Baker I) (46). Preporučuje se kod visokorizičnih pacijenata i kod rane KK (unutar 6 meseci).

Primena triamcinolona periprostetično, navođena ultrazvukom, se pokazala efikasnom u smanjivanju debljine kapsule i subjektivnih tegoba pacijenata (47,48). Ipak, ubrizgavanje triamcinolona je dovelo do čestih neželjenih efekata u vidu dehiscencija rane, istanjenja parenhima, ekstruzije implantata i ptoze, te je njegova upotreba napuštena (49).

Sada već od istorijskog značaja, u lečenju KK opisana je i zatvorena kapsulotomija koja je podrazumevala manuelnu kompresiju na dojku sa KK. S obzirom na visok stepen komplikacija u vidu hematoma, pseudohernijacije implantata i rupture implantata sa curenjem silikonskog gela, ovakav način lečenja KK je danas neprihvatljiv te je i napušten (50).

Brojne mere su se pokazale kao efikasne u prevenciji kapsularne kontrakture. Savremene preporuke savetuju inframamarnu inciziju, pozicioniranje implantata u submuskularni džep, ugradnju teksturisanih, a ne glatkih implantata i profilaktičko davanje antibiotika. Intraoperativno mnogi hirurzi savetuju dodatne mere kao što je postavljanje zaštita na bradavice, irigacija džepa u koji će se plasirati proteza, irigacija samog implantata, ispiranje rukavica pre rukovanja implantatom i izbegavanje plasiranja drenova (12,14,30,32).

1.3. Anaplastični krupnoćelijski limfom udružen sa implantatima za dojk

Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma (BIA-ALCL)

Tokom proteklih dvadeset godina objavljeno je mnoštvo prikaza slučaja o pojavi anaplastičnog krupnoćelijskog limfoma (*eng. anaplastic large cell lymphoma - ALCL*) koji se razvija uz fibroznu kapsulu, stvorenu oko silikonskih implantata za dojk kod pacijentkinja kojima su ugrađeni silikonski implantati za dojk. Ovo je probudilo sumnju da ALCL može biti kasna komplikacija ugradnje silikonskih implantata ([51](#)).

Limfomi su najčešći maligni tumori ćelija krvi, koji nastaju u limfopoetskim tkivima i organima kao što su limfni čvorovi, slezina, kostna srž ili krv. Mogu nastati i izvan limfatičnog sistema, odnosno ektranodalno u gastrointestinalnom traktu, jetri, plućima, kostima, centralnom nervnom sistemu, bubrezima, testisima, mišićima, potkoži ili koži. Limfomi se dele na Hodgkin limfome, koji čine oko 15% ukupnog broja, i non-Hodgin limfome oko 85% ([52](#)). Oni se međusobno razlikuju u citološkim karakteristikama, odgovoru na terapiju i prognozi. Non-Hodgin limfomi mogu nastati od B ili T limfocita.

ALCL spada u grupu non-Hodgin limfoma porekla T limfocita i može biti sistemski ili kutani. Sistemski oblik ALCL ima dve forme:

- ALCL sa pozitivnom kinazom anaplastičnog limfoma (*eng. anaplastic lymphoma kinase (ALK+)*) koji se češće javlja kod dece i mladih, i ima bolju prognozu sa petogodišnjim preživljavanjem od 80%; i
- ALCL sa negativnom ALK (*ALK-*) koji je češći kod odraslih, a petogodišnje preživaljavanje je oko 49% ([52](#)).

Kutani oblik ALCL se razlikuje od sistemskog ALCL koji zahvata kožu.

ALCL se može javiti u dojci kod pacijenata koji nemaju ugrađene proteze, dok se kod onih koji imaju ugrađene proteze javlja u blizini fibrozne kapsule oko implantata, kao periprostetični izliv, ili na samoj kapsuli. ALCL udružen sa implantatima (*eng. breast implant associated anaplastic large cell lymphoma - BIA-ALCL*), je gotovo uvek *ALK-* (opisan je svega jedan slučaj *ALK+*) ([53](#)).

Limfomi dojke su izuzetno retke vrste maligniteta. Incidenca limfoma dojki iznosi 0,04-0,5% svih maligniteta dojki i oko 1,7% svih ekстранodalnih non-Hodgin limfoma. Većina limfoma dojki, oko 90%, spada u limfome B ćelija, dok T ćelijski limfomi dojke čine manje od 10% svih primarnih non-Hodgin limfoma dojke, a ALCL predstavlja do 3% non-Hodgin limfoma u ukupnoj populaciji (53).

Na osnovu do sada objavljenih slučajeva ALCL u svetu, životni rizik za nastanak ALCL je 18,2 - 67,6 puta viši kod pacijenatkinja koje imaju ugrađene implantate za dojku u poređenju sa onima koje ih nemaju (54,55,56).

BIA-ALCL spada u non-Hodgin limfom T ćelija. Prvi slučaj BIA-ALCL je objavljen 1997. od strane Keech i Creech (57). Lazzeri i sar. su u svojoj meta analizi opisali specifični imunofenotip CD30 koji je ustanovljen isključivo kod pacijenata koji su razvili BIA-ALCL. Time su istakli BIA-ALCL kao poseban entitet (58). Sa povećanjem svesti o postojanju ovog entiteta, objavljeno je sve više slučajeva u svetu. Brody i sar. su 2015. prezentovali 137 pacijenata sa BIA-ALCL koji su objavljeni u svetskoj literaturi (59), a 2017. je FDA je objavila 340 slučajeva iz 37 zemalja (60). BIA-ALCL se u proseku javlja 9 godina nakon implantacije proteza, mada su opisani slučajevi pojave nakon godinu i čak nakon 32 godine (56). Bilateralna forma je ustanovljena kod 4,6% pacijenatkinja (61).

Uzrok za nastanak BIA-ALCL je nepoznat, ali je izolovano nekoliko etioloških faktora u koje spadaju postojanje subkličičke infekcije (biofilma) na površini implantata, kapsularna kontraktura, ponavljana trauma kapsule, genetska predispozicija ili autoimuna predispozicija (61). Tumorigenezi doprinose i hronična inflamacija i odgovor organizma na sastav ili površinu silikona (62). Teksturisani implantati su povezani sa znatno više slučajeva BIA-ALCL (oko 90%) u odnosu na glatke implantate (59,62,63). Naime, teksturisani implantati imaju veću ukupnu površinu za bakterijsku kontaminaciju koja pojačava imunološki odgovor organizma i time provocira nastanak BIA-ALCL kao i kontrakturu kapsule (63,64).

Opisana su dva različita oblika BIA-ALCL:

- In situ oblik je najčešća forma bolesti. Manifestuje se kao kasni, uporni serom koji nestaje sa eksplantacijom implantata i kompletnom kapsulektomijom. Ukoliko se ne leči, in situ oblik može da preraste u infiltrativnu formu.
- Infiltrativna forma bolesti se može ispoljiti kao serom, tumefakt ili brzo fomiranje kapsule. Mortalitet kod ove forme bolesti je preko 50% i zahteva multimodalnu terapiju (65).

Trenutno je u najširoj upotrebi klasifikacija BIA-ALCL po Ann Arbor (66,67):

- Stadijum I: zahvaćenost jednog limfnog regiona ili jedne ekstralimfne lokalizacije.
- Stadijum II: zahvaćenost dva ili više limfnih regiona sa iste strane dijafragme.
- Stadijum III: zahvaćenost limfnih žlezda sa obe strane dijafragme.
- Stadijum IV: diseminovana ekстранodala zahvaćenost.
 - S: zahvaćenost slezine; modifikuje I, II i III klinički stadijum.
 - E: ekстранodalana lokalizacija; modifikuje I, II i III klinički stadijum.
 - A: bez opštih simptoma.
 - B: temperature veća od 38°C, noćno znojenje, mršavljenje više od 10% telesne težine za šest meseci.

Prema Gidengilu najčešće dijagnostikovan stadijum je IE (61%), 11% je stadijum IIE sa aksilarnom limfadenopatijom, dok 3% ima diseminovanu bolest- stadijum IV (66). Međutim, uočeno je da se BIA-ALCL ponaša sličnije drugim malignitetima dojke nego limfomima, posebno kada se govori o lečenju, uključujući hiruršku eksciziju, kao i klinički tok bolesti (68), te je od skoro predložena i TNM klasifikacija (61).

Klinička slika BIA-ALCL je nespecifična. Može se predstaviti u vidu kasne periprostetične efuzije, efuzije u kombinaciji sa palpabilnom masom, izolovanom palpabilnom masom, ili samo sa uvećanim limfnim čvorovima bez seroma i/ili detektibilne mase. Najčešći oblik je kasna efuzija (48-70%), kada se ALCL potvrđuje citološki kod 79% slučajeva (56,68). Količina seroma se kreće od 20 ml do čak 1000ml, a tečnost je uglavnom viskozna. BIA-ALCL može da se manifestuje u vidu palpabilnog tumefakta u dojci koji je u proseku veličine oko 3,5cm i javlja se kod 17-30% slučajeva. Kapsula oko implantata može biti zadebljala i fibrozna ili potpuno normalna. Ostali simptomi uključuju osetljivost dojke, bol, crvenilo, kapsularnu kontrakturu, lezije na koži, povišenu temperaturu ili mastitis (56,65,68).

BIA-ALCL ne ispoljava specifičnosti na imaging- u. Ultrazvuk i magnetna rezonanca su najbolji za otkrivanje efuzije. U svakodnevnoj praksi mamografija otkriva abnormalnosti, dok UZ razlikuje čvrst oblik u odnosu na tečni. Za postavljanje dijagnoze neophodna je citološka analiza (56). Preporučuje se da se sve kasne efuzije testiraju na BIA-ALCL.

Kao što je već rečeno, za razliku od limfoma, BIA-ALCL je često potpuno izlečiva hirurški. Metoda izbora je potpuno uklanjanje proteza i kapsule sa negativnim marginama. Kod infiltrativnih oblika, tumorska masa se mora ukloniti uz negativne margine, a u slučaju

zahvaćenih limfnih čvorova neophodno je uraditi i limfadenektomiju (66). Trenutno se ne preporučuje dodatna dijagnostika u vidu biopsije limfnog čvora stražara (*eng. sentinel lymph node biopsy – SLNB*). Opisana je hemoterapija, i to CHOP (ciklofosamid, doksorubicin, vinkristin i prednisone), kod BIA-ALCL, ali se relapsi javljaju kod čak 54,5% pacijenata (67). Radioterapija se preporučuje za lečenje lokalne rezidualne bolesti koja se ne može hirurški odstraniti. Nakon vađenja implantata i adekvatne hirurgije, recidiv se javlja kod 6%-11% pacijenata unutar prve godine (68). Relapsi bilo koje vrste se javljaju nakon 3 godine. Praćenje pacijenata nakon hirurške procedure se preporučuje svakih 3-6 meseci prve dve godine, a kasnije ukoliko je klinički indikovano. Za sada nema podataka kada je moguće pristupiti rekonstrukciji dojke nakon BIA-ALCL.

1.4. Silikonski implantati

Evolucija silikonskih implantata za dojku traje već 60 godina i prolazi kroz uspone i padove. Savremeni implantati za dojku se sastoje iz dve komponente, kapsule koja je gotovo nepropusna, napravljena od silikonskog elastomera, i materijala kojim je implantat ispunjen: silikonski gel ili fiziološki rastvor (1,8,69).

1.4.1. Silikon

Silikon je po hemijskom sastavu mešavina semi-inorganskog molekula polimera sastavljenog od lanaca polidimetil-siloksan monomera $[(CH_3)_2-SiO]$ različite dužine. U zavisnosti od dužine lanaca polimera i njihovog međusobnog ukrštanja, silikon ispoljava različite fizičke osobine i agregatna stanja: tečno i čvrsto stanje ili forma gela. Tečni silikon ima relativno kratke polimere sa malo ukrštanja. Često se koristi kao lubrikant kod medicinskih aparata. Silikonski gel može biti mek, lepljiv sa osobinama tečnosti, ali i čvrst, kohezivan koji omogućava stabilnost forme. Kao takav se koristi za punjenje silikonskih implantata za dojku. Intenzivno ukrštanje lanaca polimera prouzrokuje čvrstu formu silikona koja se zove još i elastomer. Karakteriše ga fleksibilnost i ima osobine gume. Elastomeri se koriste za izradu implantata za lice, tkivnih ekspandera i spoljne kapsule implantata za dojku (70).

1.4.2. Implantati ispunjeni silikonskim gelom

Prvi implantati koji su bili ispunjeni silikonskim gelom su proizvedeni od strane Dow Corning Corporation, a uveli su ih Cronin i Gerow 1962. godine (1,8). Kapsula, ove takozvane prve generacije silikonskih implantata, je bila načinjena od dva dela debelog silikonskog elastomera, debljine 0,75mm. Bila je glatke površine sa nekom vrstom nalepnica (*eng. Dacron patch*) na zadnjoj strani čija je svrha bila da održava protezu u odgovarajućem položaju. Unutrašnjost kapsule je bila ispunjena viskoznom, silikonskim gelom, a same proteze su bile anatomskog oblika. Većini žena kojima su ugrađivani ovi implantati, grudi su tokom prve godine postajale veoma čvrste, verovatno zbog kontrakture kapsule, fenomena koji u to vreme još nije bio dovoljno razjašnjen. Ipak verovalo se da ova čvrstoća nastaje zbog čvrstine samog implantata, što je usmerilo istraživanja ka proizvodnji mekših.

Druga generacija silikonskih implantata je proizvedena 1970. godine. Implantati su bili mekši, kružnog oblika, a karakterisala ih je tanja kapsula (0,13-0,20mm) bez nalepnice (*eng. Dacron patch*) koja je bila ispunjena manje viskoznom silikonskim gelom. Upravo ove karakteristike kapsule su bile odgovorne za curenje lanaca silikona male molekulske mase u periprostetični intrakapsularni prostor. Mikroskopske silikonske partikule su pronađene i unutar periprostetičnog tkiva, a čak i u limfaticima i regionalnim drenažnim limfnim čvorovima. Iako ovaj fenomen nije dovodio do značajnih ni lokalnih ni sistemskih tegoba, upotreba druge generacije implantata je napuštena zbog učestale ruptуре proteza (71).

Razvoj treće generacije silikonskih implantata obeležio je 1980.-te godine, a fokusirao se na poboljšanje jačine kapsule u cilju smanjenja curenja gela iz intaktnih implantata kao i ruptуре kapsule. Kapsula je bila debljine 0,30-0,50mm, sadržala je i sloj (fluorosilikona ili difenila) koji je služio kao barijera curenju, sada znatno kohezivnijeg gela. Proizvođači INAMED i Mentor su proizveli kapsulu od višeslojnog silikonskog elastomera koji je smanjio curenje silikona u periprostetični prostor na zanemarljivu količinu.

- **Moratorijum**

S obzirom na kontroverze o bezbednosti upotrebe silikona, a posebno silikonskog gela kao osnovnog materijala za izradu implantata, FDA je 1992. na čelu tada sa David Kesslerom, postavila moratorijum na upotrebu ovih implantata na području Sjedinjenih Američkih Država (1). Ovu zabranu je prihvatila i Kanada. Implantati ispunjeni silikonskim gelom su smeli da se ugrade samo u rekonstruktivne svrhe i u svrhu augmentacije samo kod

pacijentkinja koje su bile uključene u kliničke studije. U Kanadi ove implantate su mogle dobiti samo one pacijentkinje koje su ih tražile. Do postavke moratorijuma, na području SAD, 95% ugrađenih implantata su bili oni ispunjeni silikonskim gelom, da bi se nakon moratorijuma situacija obrnula. 2002. godine 95% ugrađenih implantata su bili ispunjeni fiziološkim rastvorom (71). Moratorijum je povučen 2006. godine. U Evropi nisu postojale nikakve zabrane tog tipa, a odabir implantata je zavisio od hirurga i pacijenta. Tokom moratorijuma, proizvođači su radili na usavršavanju nedostataka što je dovelo do proizvodnje četvrte, a ubrzo i pete generacije implantata.

Četvrta generacija silikonskih implantata je proizvedena 1993. pod oštrom kontrolom FDA i ASTM (American Society for Testing Methodology). Silikonski gel je napravljen od više ukrštenih lanaca silikona što je stvorilo viskozniiji gel (tzv. kohezivni gel), dizajniran da ograniči migraciju gela. Inovacija četvrte generacije je proizvodnja ne samo okruglih nego i implantata anatomskog oblika kao i pojava implantata sa teksturisanim površinom. Teksturisana površina je bila namenjena anatomskim implantatima sa idejom da se podstakne urastanje tkiva u protezu što bi rezultiralo smanjenom mogućnošću rotacije implantata (72).

Peta generacija silikonskih implantata je i danas u upotrebi. Kapsula je ista kao i kod četvrte generacije, ali je silikonski gel još kohezivniji što omogućava veću stabilnost oblika čime se postiže prirodniji izgled. Petu generaciju je obeležila i velika raznovrsnost oblika i projekcija koje bi se mogle što više prilagoditi individualnim potrebama pacijenata (1,39).

1.4.3. Različite teksture implantata za dojku

Površina kapsule silikonskog implantata može biti glatka ili teksturisana, a neke od proteza su pokrivene i poliuretanskom penom. Teksturisani implantati su grubo podeljeni na makro-teksturisane i mikro teksturisane (73). Makroteksturisane površine (Biocell®, McGhan) se sastoje iz neravnomerno raspoređenih udubljenja sa otvorenim porama velikog dijametra (600-800 μ m) i dubine (150-200 μ m), dok se mikroteksturisane površine (Siltex®, Mentor) sastoje iz ravnomerno raspoređene talasaste površine sa otvorenim porama manjeg dijametra (70-150 μ m) i dubine (40-100 μ m) (74). Od pre nekoliko godina su proizvedeni implantati sa površinom koja nije glatka, ali su joj pore manjih dijametara od mikroteksturisane površine (TrueTexture, Sinetra). Maxwell et al. su ovakve površine nazvali intermedijernim (73), dok su Barr et al. u svom radu iz 2017.godine predložili podelu implantata na osnovu njihove teksture, odnosno veličine pora na (75):

- makroteksturirana površina - pore $> 75\mu\text{m}$
- mikroteksturirana površina - pore 10-75 μm
- mezoteksturirana površina - pore $< 15\mu\text{m}$
- nanoteksturirana površina - (glatka površina) $< 5\mu\text{m}$

Za izradu teksturisanih implantata postoji nekoliko tehnika: tehnika otiska soli (*eng. salt-loss technique*); formiranje teksture pomoću teksturisane kalupa, čija neravna površina se obrađuje pomoću peska; stvaranje teksture pomoću lasera; i utiskivanje poliuretanske pene na površinu implantata (73).

Prve implantate presvučene poliuretanskom penom su opisali Ashley i Pangman 1968. godine. Debljina poliuretana je bila 1,5-2,0mm sa porama veličine 200-500 μm (76). Ideja je bila da ovi implantati podstaknu bolje urastanje tkiva u samu kapsulu čime bi se smanjila incidenca kontrakture kapsule. Vasquez et al. su 2007. objavili da je mikroskopska arhitektonika kapsule oko poliuretanskih proteza potpuno drugačija od kapsule koja se stvara oko glatkih i teksturisanih implantata, odnosno da kod kapsule oko poliuretanskih implantata kolagena vlakna nisu orijentisana linearno i paralelno kao što je to slučaj kod kapsule oko glatkih i teksturisanih (77). Mnogobrojne studije su potvrdile da se urastanjem poliuretanske pene u tkivo smanjuje kontraktura kapsule (78,79).

1.4.4. Implantati ispunjeni fiziološkim rastvorom

Postoji bar četiri generacije implantata koji se pune fiziološkim rastvorom i još nekoliko prelaznih varijacija (80,81).

Upotrebu implantata koji se pune fiziološkim rastvorom je prvi opisao Henri G. Arion 1965. godine u Toulonu u Francuskoj (82). Nazvani su Simaplast implantati. Kapsula ovih implantata je bila napravljena od dva lista silikonskog elastomera koji su lepljeni duž cirkumferencije, na čijem jednom kraju je bila pričvršćena cevšica sa valvulom koja je služila za punjenje implantata. Nakon punjenja cevšica je zatvarana teflonskim zatvaračem. Ovi implantati su bili okrugli. Međutim, često je dolazilo do spontane deflacije (pražnjenja) implantata, čak 10%-76% (83). Druga generacija (1968. - 1979.) je imala tanju kapsulu i sledstveno veći procenat neuspeha, deflaciju do 88%. Treća generacija (1976.-1992.) je imala

jaču kapsulu i time je bila dugotrajnija. Razlika između druge i treće generacije je ne samo u debljini kapsule, nego i u tehnološkom načinu proizvodnje (83). Nakon što je FDA postavio moratorijum na implantate ispunjene silikonskim gelom, nastala je četvrta generacija implantata koji se pune fiziološkim rastvorom. Njihova tačna formulacija je i dalje zaštićena.

Prednost implantata koji se pune fiziološkim rastvorom je u tome što u slučaju njihove rupture ne postoji potencijalna opasnost za pacijentkinju, a sama ruptura je uvek jasno uočljiva jer bi se implantat u celosti ispraznio i dojka smanjila. Takođe, ovi implantati se pune fiziološkim rastvorom tek nakon plasiranja u odgovarajući džep, tako da je za njihovu ugradnju potrebna relativno mala incizija. Mana ovih implantata je ta da konzistencijom ne oponašaju dobro tkivo dojke, a ponekad je prisutan i efekat “bućkanja” (*eng. rippling*)(1,10).

1.4.5. Odgovor organizma na silikon i različitu teksturu implantata

Iako je medicinski silikon jedan od biološki najinertnijih materijala, povremena pojava autoimunih bolesti, adenopatija i maligniteta kod pacijenata koji imaju neku vrstu ugradnog materijala od silikona, podiže sumnju na potencijalni imunološki ili karcinogeni efekat silikona na ljudski organizam (1,84). Organizam može odreagovati na hemijski sastav i/ili na površinu silikonskih implantata.

Postoje dve pretpostavke o efektu hemijskog sastava silikona na organizam.

- Prva hipoteza je direktna toksičnost silikona. Silikon je identifikovan u vidu tri različite forme u periprostetičnom tkivu:
 - nepravilne, providne, amorfne kapljice
 - intraćelijske kapljice
 - fragmenti elastomera unutar “*giant cell granulomata*” koji se manifestuju u vidu lokalizovanih čvorića. Oni su češći kod ekstra-kapsularne ruptуре i koreliraju sa curenjem silikona (85).

Prve dve forme se javljaju kod svih implantata ispunjenih silikonom dok je treća karakteristična za implantate sa teksturisanim površinom. Smatra se da “*granulomata*” nastaju kao posledica pokušaja da se fagocituju odlubljeni delići elastomerne kapsule (86).

- Druga hipoteza o toksičnosti silikona se odnosi na degradaciju silikona kroz reakciju oko stranog tela, na toksične nusprodukte kao što su:

- siloksan, koji indukuje denaturaciju proteina
- platinum i
- silikate, koji su poznati celularni iritansi i podstiču fibrozu.

Svaki od ova tri jedinjenja su identifikovani u značajnoj koncentraciji u fibroznoj kapsuli oko silikonskih implantata (86,87). Wolfram et al. su u svojim radovima potvrdili da silikon i produkti razgradnje silikona zajedno sa autolognim proteinima dovode do inflamatornog odgovora koji sam po sebi predstavlja pogodno tlo za onkogenezu (88).

Prema Fenoglio i saradnicima biokompatibilnost, odnosno interakcija ljudskog organizma i biomaterijala, je delom diktirana topografijom i hidrofobnošću površine implantata i proteina koji se adsorbuju na površinu implantata dojke (89). Time se može objasniti činjenica da su kapsule koje se formiraju oko različito teksturisanih implantata različite histološke građe. Kapsula koja se formira oko glatkih implantata je debela, sa gusto, laminarno raspoređenim vlaknima. U formiranju je naglašena aktivnost fibroblasta i džinovskih ćelija. Ova naglašena aktivnost fibroblasta smanjuje nivo transformišućeg faktora rasta 1 (*eng. transforming growth factor 1- TGF1*) koji utiče na proliferaciju ćelija. Kapsula kod teksturisanih implantata je tanka sa nepravilno raspoređenim kolagenim vlaknima, sa malo aktivnih fibroblasta i mnoštvom džinovskih ćelija (90). Iz ovog razloga je teže odvojiti teksturisani implantat od svoje kapsule. Pojedini autori opisuju ovakav način odvajanja kao efekat “čičak trake” (*eng. “Velcro effect”*). Neretko implantati sa teksturisanim površinom dovode do formiranja duple kapsule (*eng. double capsule*).

Stevens et al. su pokazali da je veći rizik za nastanak kapsularne kontrakture kod ugrađenih implantata sa glatkom površinom (27). Nasuprot njima teksturisani implantati su povezani sa značajno manjim rizikom za nastajanje KK (90). Brojne meta-analize su potvrdile manju incidence nastanka KK kod teksturisanih implantata u odnosu na glatke (91,92,93). Razlog ovome je verovatno raspored kontraktilnih vlakana unutar same kapsule: u kapsuli oko glatkih implantata se nalazi mnogo više kolagenih vlakana koja su gusto raspoređena, dok su vlakna oko implantata sa teksturisanim površinom raspoređena u raznim pravcima time smanjujući kontraktilnu moć. Poliuretanski implantati su povezani sa najnižom incidencom KK, a histološke analize kapsule su pokazale najmanju koncentraciju fibroznog tkiva i mnogo manje kolagena tipa 3 nego kod teksturisanih implantata (94).

1.4.6. Dupla kapsula i kasni serom

Dupla kapsula (*eng. double capsule*) je fenomen koji se opisuje kao razdvajanje fibrozne kapsule formirane oko implantata na dva lista, od kojih je unutrašnji potpuno ili delimično srastao za implantat. Ukoliko je delimično srastao, najčešće ne izaziva nikakve tegobe, dok potpuno prijanjanje unutrašnjeg lista za implantat omogućava implantatu da se slobodno kreće (73). Unutrašnji i spoljašnji list duple kapsule su međusobno odvojeni interkapsularnim prostorom.

Patofiziologija nastanka duple kapsule nije potpuno ispitana. Ovaj fenomen je najviše registrovan kod makroteksturiranih implantata koji srašćuju za okolno tkivo. Smatra se da nastanku duple kapsule doprinose faktori koji ograničavaju srašćivanje implantata za okolno tkivo, kao što su: preveliki džep u koji će se plasirati proteza ili premala proteza u odnosu na okolno tkivo; infekcija ili prisustvo biofilma; neadekvatna hemostaza; prerana fizička aktivnost nakon operacije ili trauma koja može da dovede do delaminacije (95). Ipak neadekvatno srašćivanje okolnog tkiva za implantat može dovesti do formiranja seroma.

Kod mikroteksturiranih implantata retko dolazi do srašćivanja implantata za tkivo dok se kod glatkih ovaj fenomen ne javlja.

Kasni serom se definiše kao nakupljanje serozne tečnosti u džepu najmanje 12 meseci nakon augmentacione hirurgije, a klinički se manifestuje kao upadljivo uvećanje dojke (73). Maxwell i saradnici naglašavaju da je dupla kapsula fenomen koji nije obavezno vezan sa komplikacijama dok je serom komplikacija. Ipak, drugi radovi ukazuju na povezanost duple kapsule i kasnih seroma, a time i BIA-ALCL (64).

1.4.7. Implantati

Trenutno se kod nas na tržištu nalazi nekoliko proizvođača implantata, a najčešće su u upotrebi Mentor, Polytech i Motiva.

- Mentor (Mentor, California, USA)

Mentor proizvodi glatke implantate (Smooth Round MemoryGel®) i teksturisane implantate pokrivene SILTEX površinom, a koji mogu biti okrugli ili anatomski. Okrugli implantati mogu biti ispunjeni MemoryGel® ili MemoryShape® gelom, dok su anatomski ispunjeni isključivo MemoryShape® gelom.

- Motiva (Establishment Labs SA, Coyol de Alajuela, Costa Rica)

Kapsula TrueMonobloc®, True tissue Dynamics™, 100% filled, 100% ultra soft and 100% form-stable ProgressiveGel™, ProgressiveGel PLUS™ and ProgressiveGel Ultima™. Površina kapsule kod Motiva implantata ima Mikro ili Nanoteksturu, a dobija se specijalnim procesima koji omogućavaju bolju biokompatibilnost, čime se postiže bolja interakcija okolnog tkiva i implantata. Mikrotekstura (VelvetSurface) ima neravnine dubine 40-100µm, dok Nanotekstura (SilkSurface) oko 13µm.

- Polytech (Polytech Health & Aesthetics GmbH, Dieburg, Germany)

Polytech proizvodi implantate glatke (POLYsmooth™) ili teksturisane površine (POLYtxt®, MESMO®sensitive), kao i implantate koji su pokriveni Polytech micropoliuretanskom penom (Microthane®).

1.5. Biofilm i subklinička infekcija

Biofilm je kolonija mikroorganizama uronjenih u heterogeni matriks koji oni proizvode, a koji je pričvršćen za neku statičku površinu (živu ili neživu) ([96,97,98](#)).

Bakterijski biofilm ima veliki efekat na društvo, jer ne samo da doprinosi nozokomijalnim infekcijama nego kolonizovanjem okoline izaziva i koroziju i truljenje vodovodnih cevi kao i propadanje hrane i farmaceutskih proizvoda. Biofilm je opisan u prirodnom okruženju i u tehničkoj mikrobiologiji još pre 90 godina, dok je u medicini termin uveden 1985. od strane Costertona ([99](#)). Procenjuje se da preko 99% bakterija u svetu živi u vidu biofilma, a svega manje od 1% u planktonskom (slobodno-plutajućem) obliku ([96,97](#)).

Biofilm je struktura koja se sastoji od trodimenzionalnih agregata sesilnih mikroorganizama opkoljenih ekstracelularnim matriksom. Ovaj matriks proizvode bakterije odmah nakon pričvršćivanja na zaraženu površinu, a sastoji se od polisaharida, nukleinskih kiselina, proteina i masti. Ekstracelularni matriks čini 50-90% biofilma i štiti bakterije od spoljnih uticaja, uključujući dejstvo antibiotika kao i imunološki odgovor domaćina. Pored matriksa i bakterija, u sastav biofilma mogu ući i komponente domaćina kao što su fibrin, trombociti ili imunoglobulini ([100,101](#)).

Formiranje biofilma prolazi kroz nekoliko faza ([101](#)):

- adhezija, tokom koje se polisaharidi bakterija pričvršćuju za domaćina, živu ili neživu površinu,
- proliferacija odnosno formiranje zrelog biofilma, i
- odvajanje odnosno disperzija.

Biofilm je dinamična formacija u kojoj se neprestano odvija proces reorganizacije i razmnožavanja bakterija koje ga čine, pričvršćivanje novih bakterija iz okoline kao i odvajanje i disperzija bakterija u okolinu. ([96,100,101,102](#)). Biofilm je malih dimenzija; in vivo na tkivima je veličine 4-200 μ m, a na stranim telima 5-1200 μ m, te ga je teško identifikovati na tkivima, dok se sa stranih tela izoluju procesom sonifikacije ([103](#)). Mogućnost adhezije bakterija na različitim površinama je različita. Tako su Arnold i sar. dokazali da ugljačan čelik ima manju sklonost ka formiranju biofilma za razliku od neobrađenih čeličnih površina ([104](#)), dok su Myinth i sar. ustanovili da povećana hrapavost poliamidskih membrana potencira pričvršćivanje i agregaciju bakterija za površinu te formiranje biofilma ([105](#)).

Mirkoorganizmi koji rastu u biofilmu imaju neke različite osobine od onih u planktonskom obliku. Tako, bakterije u biofilmu mogu da prežive i 250 puta veće doze antibiotika od onih koje su u slobodnom obliku. Sa maturacijom biofilma povećava se njegova rezistencija na antibiotike ([106,107](#)). Međutim, prilikom disperzije bakterija iz biofilma one ponovo postaju osetljive na antibiotike. Terapija antibioticima može modifikovati akutnu egzacerbaciju bolesti, ali onog trenutka kada se terapija prekine, biofilm se brzo reorganizuje iz bakterija koje su preostale ([103](#)).

Biofilm je uzrok hroničnih infekcija sa upornom i dugotrajnom patologijom kao posledica inflamatornog odgovora na biofilm. Mnoge infekcije izazvane biofilmom se teško dijagnostikuju i leče i za sada ne postoje tačne smernice za pomoć kliničarima oko ovih infekcija ([106,108](#)). Antibiotička terapija zasnovana na osetljivosti bakterija u planktonskom obliku nema efekta na infekcije izazvane biofilmom ([101,109](#)). Infekcije prouzrokovane biofilmom se mogu podeliti na one koje nastaju na tkivima i nisu povezane sa reakcijama oko stranog tela (npr. hronične infekcije rane, hronična plućna infekcija kod pacijenata sa cističnom fibrozom); i na one kod kojih je biofilm pričvršćen na strana tela (npr. urinarni kateteri, centralni venski kateteri, srčane valvule, ortopedski implantati, implantati za dojk)

([108,109,110](#)). Prisustvo biofilma na brojnim medicinskim ugradnim materijalima je odgovorno za značajan morbiditet i mortalitet ([111](#)). Procenjuje se da je biofilm uzročnik preko 60% lečenih infekcija u zemljama u razvoju ([110](#)).

Odmah po ugradnji protetskog materijala u organizam, makromolekuli domaćina, kao što su fibrinogen i imunoglobulini, se talože na površinu implantata i time olakšavaju prišvrćivanje bakterija za implantat. Bakterije stvaraju nekovalentne veze sa proteinima domaćina i time omogućavaju pokrivanje raznih površina ([101](#)). Prisustvo mikroorganizama u vidu biofilma ne mora uvek izazvati izraženu infekciju, nego može dovesti do hroničnog inflamatornog odgovora tzv. subkliničke infekcije koja se dovodi u vezu sa nastankom kontrakture kapsule ([109](#)).

1.5.1. Metode za očitavanje biofilma

Standardne metode za uzorkovanje bakterija nisu dovoljne za detekciju biofilma jer je svega nekoliko bakterija prisutno na površini biofilma. Njihovo otpuštanje je sprečeno inkapsulisanim, ekstracelularnim matriksom, a same bakterije imaju nizak metabolički nivo. Postoji nekoliko metoda za identifikaciju biofilma ([101,103,111, 112,113](#)):

- Tradicionalna metoda za očitavanje biofilma se sastoji iz dva koraka: oživljavanje bakterija unutar biofilma i sledstvena identifikacija. Oživljavanje bakterija se radi procesom sonifikacije kojom se razlaže ekstracelularni matriks te se bakterije otpuštaju u okolnu sredinu. Ove bakterije se potom kultivišu u bujonima i identifikuju standardnim mikrobiološkim procedurama.
- Biofilm se može identifikovati i elektronskom mikroskopijom, a mana ove procedure je malo vidno polje, što daje mogućnost za nastanak greške.
- Danas je u upotrebi i PCR (polymerase chain reaction) za umnožavanje i malih količina bakterijske DNA i RNA. Iako veoma precizna metoda, mana joj je što može da detektuje samo nukleinske kiseline ali ne i žive organizme.
- Od skoro se koristi i fluorescentna in situ hibridizacija. Fluorescentna proba specifična za 16s ribozomalni RNA prokariocitskih ćelija se vezuje i detektuje biofilm na različitim površinama. Jednom vezana može da se detektuje konfokalnim laser mikroskopom ili fluorescentnom mikroskopijom.

1.5.2. Najčešći uzročnici bakterijskog biofilma na silikonskim implantatima za dojku

Aktuelnosti o efektima biofilma na nastanak brojnih komplikacija vezanih za ugradnju proteza su podstakli dalja ispitivanja sastava samog biofilma. Burkhardt i sar. su još 1981. ustanovili da je najčešća bakterija izolovana na ugrađenim medicinskim materijalima *Staphylococcus epidermidis* (111). Isto su potvrdili Cheesa i sar. (114) i Pajkos i sar. (115) u svojim studijama. Prema Sengu i sar. najučestaliji uzročnik infekcija implantata dojki su bakterije iz roda *Staphylococcus*, i to prvenstveno *S. aureus*, dok je *Pseudomonas aeruginosa* drugi izazivač po učestalosti (116). Prema Rieger i sar. izazivači infekcije implantata su najčešće bili kombinacija *S. aureus*, koagulaza negativnog *Staphylococcus*, *Propionibacterium acnes* i *Citrobacter koseri* (117). Hu i sar. su u svojoj analizi biofilma kod pacijentkinja sa BIA-ALCL i pacijentkinja sa KK ustanovili da je biofilm najčešće polimikrobni, kao i da su najčešće prisutni sojevi *Staphylococcus-a* kod pacijentkinja sa KK, odnosno *Ralstonia spp.* kod pacijentkinja sa BIA-ALCL (64).

Staphylococcus epidermidis i *Staphylococcus aureus* su Gram-pozitivne bakterije koje spadaju u rod *Staphylococcus* zajedno sa još preko 40 vrsta. *Staphylococcus epidermidis* je deo normalne ljudske flore, posebno kože i nešto ređe sluzokože, a sastav je i endogene flore dojke (118). Spada u fakultativno anaerobnu bakteriju. Iako obično nije patogena, može biti uzročnik infekcije kod imunokompromitovanih pacijenata, najčešće intrahospitalnih infekcija. S obzirom da se nalazi na koži, čest je uzročnik kontaminacije. *S. epidermidis* je posebno značajan onim osobama koje imaju neku vrstu ugrađenog medicinskog materijala (kateteri, srčane valvule, ortopedski implantati, silikonski implantati...) (119). Poznato je da ova bakterija ima veliku moć formiranja biofilma koji im omogućava dugotrajan opstanak na različitim medicinskim sredstvima. Razlog ovakve virulencije je sposobnost površnih proteina *S. epidermidisa* da vezuje krv i proteine ekstracelularnog matriksa. Već formiran biofilm omogućava drugim bakterijama da se vezuju za njega, formirajući tako višeslojni biofilm (120).

Staphylococcus aureus se često nalazi na ljudskoj koži, u nosu ili respiratornom traktu kao deo normalne flore. Procenjuje se da je oko 20-30% zdrave ljudske populacije nosilac ove bakterije. *S. aureus* se može naći i na predmetima opšte upotrebe, ali i u mleku, siru, mesu i drugim prehrambenim proizvodima. Iako *S. aureus* nije uvek patogen, čest je uzročnik infekcija kože, respiratornog trakta, sinusitisa, osteomijelitisa, meningitisa, endokarditisa, sepse, ali i trovanja hranom. Patogeni oblici produkuju jake proteinske toksine koji inaktivišu

antitela (121). Rezistentni oblici na meticilin (meticilin rezistentan *Staphylococcus aureus* - MRSA) predstavljaju ozbiljan problem u kliničkoj medicini širom sveta. Kao i *S. epidermidis*, i *S. aureus* stvara biofilm na ugradnim medicinskim sredstvima ali i na tkivima. U biofilmu se pored *S. aureusa* često može naći i *Candida albicans*, za koju se smatra da olakšava *S. aureusu* da penetrira ljudsko tkivo. Ovakav biofilm, formiran od dva ili više mikroorganizama, je povezan sa višim mortalitetom (122). Nakon ugradnje nekog medicinskog sredstva, njegova površina se pokriva proteinima domaćina čime se olakšava pričvršćivanje bakterija. Jednom inficiran implantat sa *S. aureusom* se mora izvaditi uz nastavak antibiotske terapije. Često ova antibiotska terapija nije dovoljna za eradikaciju, pa savremene preporuke uključuju upotrebu nano- srebra, bakteriofaga i antibiotika iz biljaka (122).

Propionibacterium spp. je anaerobni, Gram-pozitivni bacil, opšteprisutan na koži čoveka u sklopu normalne flore (123). Nalazi se i u usnoj duplji, gastrointestinalnom traktu i genitourinarnom traktu. Obično nije patogen. Ipak, opisan je i kao izazivač ozbiljnih infekcija, posebno onih udruženih sa protetskim materijalom (endocarditis, infekcija zgloba ramena..). Kontaminacija *Propionibacterium spp.* nastaje tokom samog hirurškog zahvata, kada u slučaju neadekvatne antiseptike, dolazi do kolonizovanja mikroorganizama sa ivica rane (117,124,125).

Pseudomonas aeruginosa je Gram-negativna, štapićasta bakterija koja može da izazove infekciju ne samo kod ljudi nego i kod životinja i biljaka. Infekcije kod ljudi se mogu završiti smrtnim ishodom. *P. aeruginosa* je opšteprisutan u prirodi, zemljištu, vodi, biljkama i životinjama. Odgovara mu vlažna sredina. Ponekad kolonizuje zdravu kožu čoveka, spoljašnje uho, gornje delove respiratornih puteva. *P. aeruginosa* je multirezistentna bakterija, koja neprestano formira nove mehanizme za odbranu od antibiotika (126). Spada u oportunističke, nozokomijalne patogene. Najčešće izaziva infekcije disajnih puteva (posebno kod pacijenata sa cističnom fibrozom), urinarnog trakta, opekotina i rana, a može dovesti i do septičnog šoka (127). *P. aeruginosa* nije ekstremno virulentan ako se poredi sa drugim patogenim bakterijama kao što su *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus pyogenes*, ali je sposoban da formira velike kolonije i biofilm.

Ralstonia spp. je aerobni, Gram-negativni bacil koja može biti izazivač nozokomijalnih infekcija. Prirodno stanište *Ralstonije* su voda i zemljište (128). Spada u oportunističke patogene zajedno sa *Pseudomonasom*, *Acinetobacter baumannii* i *Stenotrophomonas maltophilia*. *Ralstonia spp.* se nekada smatrala delom roda *Pseudomonas*, poznatija kao

Pseudomonas pickettii. Sredinom prošlog veka je zbog svojih osobnosti preimenovana u *Ralstonia spp.* Često je izolovana iz sputuma pacijenata sa cističnom fibrozom (i to *Ralstonia mannitolytica*), ali njen klinički značaj je slabo ispitan. Brojni slučajevi infekcije *Ralstoniom picketti* su posledica kontaminiranih rastvora, uključujući vodu za injeciranje, fiziološki rastvor koji se pravi od prečišćene vode, kao i sterilni rastvori lekova (129). Oni se mogu aplikovati intravenski, mogu biti korišteni za ispiranje rana ili za endotrachealanu sukciju, što za posledicu ima bakterijemiju i pneumoniju. U većini slučajeva kontaminacija se dešava tokom proizvodnje (130).

1.5.3. Uticaj biofilma i subkliničke infekcije na pojavu KK i BIA-ALCL

Ideju o uticaju bakterijske kontaminacije na pojavu KK je dao Burkhardt 1981. godine. On je definisao pojam subkliničke infekcije kao prisustvo bakterija na implantatu bez znakova infekcije. Kao preventivnu meru predložio je ispiranje džepa u koji će se plasirati proteza, povidon jodom (131). Kasnije su mnogobrojne studije potvrdile postojanje bakterijskog biofilma na eksplantiranim implantatima kod kojih je postojala KK (23,115,132,133,134). Virden i sar. su 1992. ispitivali prisustvo bakterijskog biofilma na kontrahovanim kapsulama i ustanovili da je biofilm prisutan kod više od polovine KK, a najčešće izolovana bakterija je bila *S. epidermidis* (23). Pajkos i sar. su izučavali prisustvo i sastav biofilma uzetog sa KK, III i IV stepena po Baker-u i konstatovali da 89,5% kontrahovanih kapsula ima pozitivne bakterijske kulture, najviše bakterija iz roda *Staphylococcus*, *Propionibacterium* i *Bacillus* (115). Uloga bakterija u nastanku kontrakture kapsule je posebno naglašena prisustvom bakterija kod 76% implantata koji su izvađeni zbog prisustva kontrakture u studiji Del Pozo i sar., dok Dobke i sar. navode čak 86% pozitivnih bakterijskih briseva kod izvađenih implantata. Histološke analize su pokazale da je kontrahovana kapsula znatno deblja od nekontrahovanih kapsula u ovim studijama (133,134). Prekretnicu u pretpostavkama da su bakterijska kontaminacija i odgovor organizma na nju delimično odovorni za nastanak KK, su napravili Tamboto i sar. Oni su u svom eksperimentu ugrađivali mini silikonske implantate svinjama, s tim da su nakon preparacije submamarnog džepa za plasiranje proteze, polovinu džepova inokulisali *S. epidermidis*-om. Za rezultat su dobili četiri puta veću incidencu KK stepena III i IV po Baker-u kod proteza koje su bile ugrađene u kontaminirani džep (44). Sledstveno tome, smanjenjem stepena kontaminacije implantata, smanjuje se mogućnost formiranja biofilma na njegovoj površini, a time i KK (13).

Već je rečeno da je uzrok nastanka KK multifaktorijalan, a svakako jedan od najznačajnijih je bakterijska kontaminacija u vidu biofilma. Prisustvo biofilma deluje kao iritans na organizam i stimuliše stvaranje fibroznog tkiva, što doprinosi formiranju KK ([115](#), [135](#)). Ni imunološki odgovor se ne može zanemariti. U patohistološkim presecima kontrahovanih kapsula ustanovljeno je prisustvo monocita, makrofaga i mast ćelija koje stimulišu sekreciju histamina, citokina IL8, TNF- α , TGF β i metaloproteinaza. Ovi citokini podstiču inflamatorni odgovor domaćina, angiogenezu, te transformaciju fibroblasta u miofibroblaste ([136](#)). Prisustvo biofilma ubrzava kontrakturu kapsule na modelima na životinjama ([44](#)). Prema nekim studijama, prisustvo monocita i makrofaga se javlja kao odgovor na silikon ([137](#)).

Dokazano je da se pod fiziološkim in vitro uslovima, leukotrijeni pričvršćuju i penetriraju zreo biofilm *Staphylococcus aureus* i čak produkuju citokine kao odgovor na biofilm ([114](#)). Ovo dokazuje da je formiranje biofilma povezano sa dugotrajnim infekcijama i hroničnim inflamatornim odgovorom.

Pojava prave infekcije postoperativno je znatno manja (1-6%) u odnosu na visoku incidencu pozitivnih briseva uzetih sa KK. Smatra se da upravo subakutna infekcija i formiranje biofilma moraju imati ulogu u diskrepanci postoperativne infekcije i prave kontrakture ([138](#)).

Biofilm se dovodi u vezu sa nastankom BIA-ALCL. Tačan mehanizam nije poznat. Saznanje da bakterijska infekcija doprinosi nastanku limfoma nije nova; prisustvo *Helicobacter pylori* se dovodi u vezu sa nastankom gastričnog limfoma ([139](#)). Smatra se da kombinacija teksturisane površine implantata, proliferacije T limfocita kao odgovor na prisustvo bakterija i transformacija T helper (Th) ćelija dovode do nastanka BIA-ALCL ([54,140,141](#)). Adams spekulise da bi odgovor organizma na Gram-pozitivne bakterije išao u pravcu pojave KK, a odgovor na Gram-negativne u pravcu limfoma ([142](#)). *Ralstonia spp.* je najčešće izolovana kod pacijenata sa BIA-ALCL.

Razvoj BIA-ALCL je verovatno kompleksan proces, koji rezultira interakcijom domaćina, implantata i mikrobioloških faktora uključujući bakterijski fenotip, imunološki odgovor, genetsku pozadinu pacijenta i teksturu implantata. Time se objašnjava i činjenica da neki pacijenti koji imaju biofilm oko implantata razvijaju KK, a drugi podstiču limfocitarnu hiperplaziju i razvijaju BIA ALCL ([64](#)).

1.5.4. Prevencija stvaranja biofilma

Za formiranje biofilma nije potreban veliki broj bakterija. Jednom formiran biofilm na implantatu se ne može ukloniti. Kao što je već rečeno, bakterije uronjene u biofilm su neosetljive na dejstvo antibiotika, sem malog broja dispergovanih bakterija. Samo prisustvo biofilma neprestano izaziva inflamatorni odgovor domaćina u formi subkličke infekcije koja se može odraziti na formiranje KK. Takođe, hronični T ćelijski inflamatorni infiltrat ukazuje na imunološki odgovor domaćina na subkličku infekciju (64).

U većini studija u kojima je ispitivana bakterijska flora na kontrahovanim kapsulama, izolovan je *S. epidermidis*, bakterija koja je deo normalne flore kože čoveka i sastavni deo duktusa dojke (138). Time je dokazano da, uprkos adekvatnoj dezinfekciji kože i antibiotskoj profilaksi, kontaminacija bakterijama dolazi tokom operativnog zahvata (13). Danino i sar. su na osnovu svog eksperimenta sugerisali da do bakterijske kontaminacije dolazi tokom inicijalnog plasiranja proteze u džep (143). Izvor ovih bakterija su ili koža pacijenta ili njihove bradavice, s obzirom da su kanali unutar bradavica kolonizovani sa brojnim bakterijama, prvenstveno *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtypes* i *Difteroidima*. Manipulacija bradavicama tokom operacije može dovesti do kontaminacije implantata. Iz tog razloga se savetuje izolovanje bradavice preoperativno (138). Deva i sar. su dali svoju preporuku za kliničku praksu kod ugradnje silikonskih proteza za dojku (144):

- tokom uvida u anesteziju dati antibiotsku profilaksu,
- izbegavati periareolarne incizije,
- koristiti štitičke za bradavice,
- raditi pažljivu atraumatsku disekciju,
- voditi računa o detaljnoj hemostazi,
- izbegavati disekciju u parenhim dojke; “dual-plane” i subfascijalni džep se preporučuju,
- ispirati džep u koji će se plasirati proteza sa mešavinom tri antibiotika ili povidon jodom,
- koristiti “rukav” za ugradnju proteze,
- pre ugradnje implantata koristiti nove rukavice, tkanine i instrumente,
- minimalizovati eksponiranost implantata vazduhu,
- minimalizovati vreme za repozicioniranje i zamenu implantata,

- zatvarati ranu po slojevima,
- izbegavati upotrebu drenova,
- koristiti antibiotsku profilkasu kod narednih procedura koje dovode do narušavanja integriteta kože ili sluznica.

S obzirom da se uprkos profilaktičkom davanju antibiotika, mogu naći kolonizovane bakterije u vidu biofilma na izvađenim implantatima, predložene su brojne mere koje se sprovode u cilju smanjenja kontaminacije. Nekolicina objavljenih radova savetuje intraoperativnu irigaciju, pretežno džepa u koji će se pozicionirati proteza. Tako Wiener preporučuje ispiranje džepa povidon jodom (145), Pfeiffer i Blount ispiranje antibioticima (146,147) dok, Giordano i Adams mešavinom povidon joda i antibiotika (148,149). Prema njihovim, in vivo studijama, nakon ispiranja nekim od navedenih sredstava dobili su nižu incidencu KK u odnosu na ne ispiranje. S druge strane, Drinane i Stevens nisu dobili statistički značajno manju incidencu KK nakon ispiranja antibioticima (21,150). Pojedini autori su u rastvore za ispiranje džepa dodavali i kortikosteroide (21) ili epinefrin (146).

Sem preporuka u pojedinačnim studijama, do danas ne postoje standardizovane procedure vezane za pripremu submuskularnog ili subglandularnog džepa, kao ni za način tretiranja implantata pre implementacije sa posebnim akcentom na suzbijanje potencijalne kontaminacije (142). Bilo koji metod koji smanjuje kontaminaciju implantata tokom insercije bi doveo do smanjenja ukupne incidence KK (44).

1.5.5. Sredstva koja se koriste za ispiranje džepa i proteza

1.5.5.1. Povidon jod

Povidon jod je polivinilski polimer koji se koristi kao topikalni antiseptik za prevenciju infekcija kože i mukoznih membrana tokom hirurških zahvata. Koristi se i za čišćenje traumatskih rana. Antiseptičke osobine povidon joda su poznate još iz XIX veka, a komercijalna upotreba je počela 1955. godine kada ga je Svetska Zdravstvena Organizacija (SZO) svrstala na listu esencijalnih lekova (21).

Povidon jod je po hemijskom sastavu povidon, hydrogen jodid i elementarni jod. U komercijalnoj primeni je 10% rastvor koji sadrži 90% vode, 8,5% podisona i 1% raspoloživog

joda i jodida. Potpuno se rastvara u hladnoj i mlakoj vodi, etil alkoholu, izopropil alkoholu, polietilen glikolu i glicerolu (152). PH vrednost rastora je oko 5, a kiselost se smanjuje sa razređenjima. Antiseptičko dejstvo povidon joda nastaje kroz sporo oslobađanje slobodnog joda iz povidon joda, koji ubija eukariotske ili prokariotske ćelije kroz jodizaciju lipida i oksidaciju citoplazmatskih i membranskih jedinjenja. Kod bakterija ima afinitet za ćelijsku membranu i citoplazmu tako da smrt bakterija nastaje unutar par sekundi. Povidon jod je baktericidan agens na koji bakterije ne stvaraju rezistenciju. Ipak, dok povidon jod ima malo efekta na formirani bakterijski biofilm, ukoliko su bakterije koje stvaraju biofilm kontaminirale rastvor povidona, mogu preživeti dugo vremena.

S druge strane, sporo otpuštanje slobodnog joda, smanjuje toksično dejstvo joda na ljudske ćelije (153,154,155). Povidon jod je generalno bezbedan za primenu, ali su opisane i retke alergijske reakcije. Ima širok dijapazon antimikrobnog dejstva. Efikasno deluje protiv bakterija, gljivica, protozoa i virusa (155,156).

FDA je 2000. godine zabranila upotrebu betadina za ispiranje silikonskih proteza koje se pune fiziološkim rastvorom zbog objavljenog visokog procenta izduvavanja ovih proteza nakon što su bile u kontaktu sa povidonom. Ovo su rezultati jednog hirurga koji je intraluminalo ubrizgavao betadin. S druge strane, Burgkard je pokazao pozitivan uticaj povidon joda na pojavu kontrakture kapsule kod Biocell implantata na naduvavanje.

1.5.5.2. Oktenidin dihidrohlorid

Oktenidin dihidrohlorid (fabrički "Octenisept", Schulke & Mayr, Norderstedt, Germany) je antiseptik koji se koristi za tretman traumatskih, akutnih, hroničnih i hirurških rana, kao i opekotina. U širokoj primeni je i za dezinfekciju sluznica; preporučuje se za upotrebu pre i posle dijagnostičkih procedura ili operacija u anogenitalnoj, urogenitalnoj i vaginalnoj regiji, pre prenatalnih, intranatalnih i postnatalnih manipulacija kao i kod procedura u oralnoj šupljini.

Po sastavu, u 100ml rastvora nalazi se 0,1g oktenidin-dihidrohlorida i 2g 2-fenoksietalnola. Oktenidin-dihidrohlorig reaguje sa polisaharidima različitih bakterijskih kompartmana i enzimskim sistemima, što dovodi do curenja citoplazmatskih komponenti i izmenjene funkcije ćelije (157). Pokazao se efikasnim u eradiciranju biofilma bakterija *S. aureus* i *P. aeruginosa* prema Junki i saradnicima (167).

1.5.5.3. Rastvori antibiotika

Antibiotici predstavljaju najčešće korišćene pridodate supstance tokom hirurških ispiranja, uprkos veoma malom broju studija koje podupiru ispravnost njihovog korišćenja. Osamdesetih godina prošlog veka, objavljene su dve studije na humanom uzorku koje ukazuju da primena antibiotika ovakvim putem nema jasnog benefita ([158,159](#)).

Za ispiranje džepa u koji će se plasirati silikonska proteza za dojku najčešće su u upotrebi neki od antibiotika prve ili druge generacije cefalosporina, gentamicin i bacitracin ([161](#)).

- Cefalosporini su beta-laktamski antibiotici sličnih penicilinu, baktericidnog dejstva. Mehanizam dejstva im je takav da sprečavaju sintezu peptidoglikana ćelijskog zida bakterija, što dovodi do njihove lize. Postoji četiri generacije cefalosporina. Cefalosporini prve generacije su efikasni pre svega protiv Gram-pozitivnih mikroorganizama i koriste se u terapiji infekcija kože, uva, sinusa, ždrela, mokraćnih puteva, creva. Lekovi druge generacije imaju bolje dejstvo na Gram-negativne bakterije, a prilično su efikasni i protiv Gram-pozitivnih mikroorganizama. Cefalosporini treće generacije spadaju u grupu tzv. antibiotika širokog spektra i veoma su efikasni protiv Gram-negativnih bakterija. Neki od njih deluju i na *Pseudomonas aeruginosu*. Četvrta generacija ovih antibiotika ima još širi spektar, obuhvatajući podjednako i Gram-pozitivne i Gram-negativne mikroorganizme.
- Gentamicin je baktericidni antibiotik koji spada u grupu aminoglikozida. Mehanizam dejstva im je takav da inhibiraju sintezu proteina bakterija. Aminoglikozidi su efikasni protiv mnogih Gram negativnih i nekih Gram pozitivnih organizama, i najčešće se koriste za lečenje infekcija izazvanih Gram negativnim bakterijama.
- Bacitracin je polipeptidni antibiotik koji inhibiše sintezu ćelijskog zida bakterija i delotvoran je protiv Gram-pozitivnih mikroorganizama. Zbog nezatne sistemske resorpcije, polipeptidi se pretežno primenjuju lokalno, u vidu masti ili kapi za oči.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Cilj 1. Ustanoviti mogućnost formiranja biofilma četiri različite bakterije (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Ralstonia pickettii*) na tri različito teksturisana silikonska implantata za dojku (sa porama veličine 70-150 μm ; 50–900 μm ; i 13 μm) u in vitro uslovima.

Cilj 2. Ispitati da li ispiranje antiseptičnim sredstvima i to: oktenidin- dihidrochloridom ili povidon jodom; ili antibiotikom - cefuroksimom; (ili istovremeno mešavinom povidon joda i antibiotika) pre bakterijske kontaminacije sa četiri različite bakterije ima uticaja na formiranje bakterijskog biofilma na tri različito teksturisana implantata za dojke u in vitro uslovima.

Cilj 3. Ispitati efekat antiseptika u odnosu na efekat antibiotika na formiranje bakterijskog biofilma na tri različito teksturisana silikonska implantata za dojku.

3. HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

Napomena:

Prilikom sprovođenja eksperimenta, ispitan je i efekat mešavine povidon joda i dva antibiotika (cefuroksim i gentamicin) kao rastvora kojim su ispirani uzorci implantata pre kontaminacije, tako da je postavljena još jedna hipoteza i jedna podhipoteza.

Hipoteza 1. Bakterijski biofilm se više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 μm i 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm .

Hipoteza 2. Sposobnost formiranja biofilma navedenih bakterija na silikonskim implantatima za dojku je manja nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom, povidon jodom ili antibiotikom-cefuroksimom u odnosu na površine koje nisu ispirane.

Podhipoteza 2.1.: Sposobnost formiranja biofilma navedenih bakterija na silikonskim implantatima za dojku je manja nakon ispiranja mešavinom povidon joda i dva antibiotika (cefuroksim i gentamicin) u odnosu na površine koje nisu ispirane.

Hipoteza 3. Ispiranje antisepticima je efikasnije u prevenciji formiranja bakterijskog biofilma na silikonskim implantatima za dojku u odnosu na ispiranje antibiotikom.

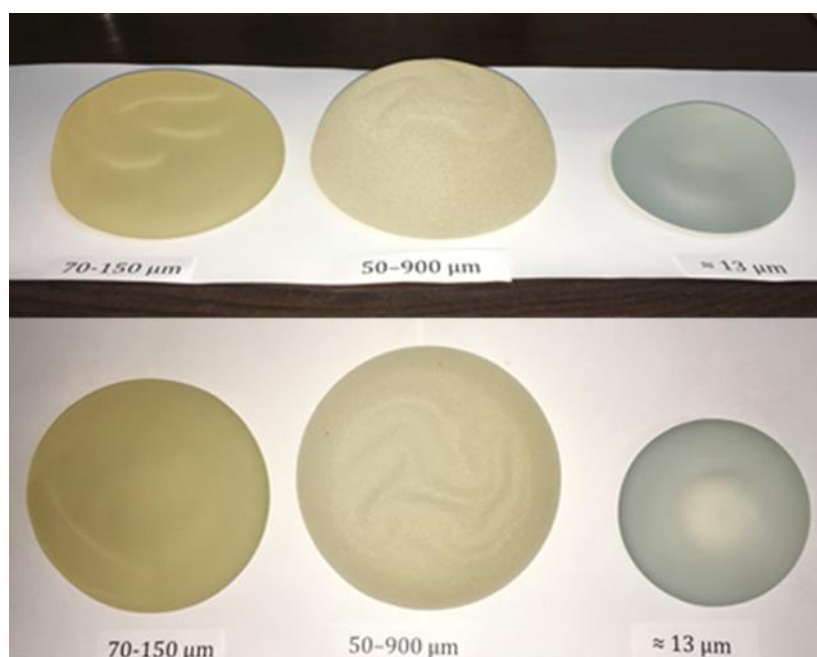
Podhipoteza 3.1.: Ispiranje mešavinom povidon joda i dva antibiotika (cefuroksim i gentamicin) je efikasnije u prevenciji formiranja bakterijskog biofilma na silikonskim implantatima za dojku u odnosu na ispiranje samo antibiotikom.

Hipoteza 4. Ispiranje povidon jodom je efikasnije u prevenciji formiranja bakterijskog biofilma na silikonskim implantatima za dojku u odnosu na ispiranje oktenidin dihidrohloridom.

4. MATERIJAL I METODE

Istraživanje je koncipirano kao prospektivna studija u vidu eksperimenta koji je izveden u Laboratoriji za mikrobiologiju, Instituta za javno zdravlje Vojvodine u Novom Sadu. Za izvođenje eksperimenta korišćeni su uzorci tri vrste silikonskih implantata za dojku sa različito teksturisanim površinom, odnosno porama različite veličine (Slika 1.):

- 70-150 μm (SILTEX, MemoryGel®, Mentor, California, USA)
- 50–900 μm (MESMO®sensitive, Polytech Health & Aesthetics GmbH, Dieburg, Germany)
- 13 μm (SilkSurface, TrueMonobloc®, Motiva, Establishment Labs SA, Coyol de Alajuela, Costa Rica).



Slika 1. Tri različito teksturisana silikonska implantata za dojku

Marinković, M. (2018). Novi Sad (fotografija- privatna kolekcija)

Od svakog od navedenih implantata su pravljeni uzorci, koji su sterilisani te kontaminirani sa četiri različite bakterije: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Ralstonia picketti*. Za ispitivanje sposobnosti formiranja biofilma, korišćena je

modifikovana tehnika sa mikrotitar pločama po Stepanoviću (160). Metod podrazumeva rast bakterijskog soja u tečnoj podlozi triptikaza soja bujona u bunarčićima polivinilskih ili polistirenskih mikrotitar ploča, u unapred određenim uslovima koji omogućavaju nastanak biofilma (prethodno osvežena 24-časovna kultura inkubirana na 37°C u aerobnim uslovima i resuspendovana u triptikaza soja bujon).

Eksperiment je sproveden u 3 faze:

Faza 1: Pravljenje i sterilisanje uzoraka

Uzorci su dobijeni sečenjem kapsula implantata. Svaki implantat je prvo presečen horizontalno na polovine, zatim je izvađen kohezivni gel, a kapsula od elastomera isečena na komadiće veličine 1x1 cm. Uzorci su potom pakovani u kese za sterilizaciju te sterilisani u autoklavu i to plazmom vodonik peroksida (aparatus: STERRAD 100S, Johnson & Johnson) (Slika 2.).



A



B

Slika 2. A- kapsula implantata presečena na pola. B- komadići kapsule implantata nakon sterilizacije.

Marinković, M. (2018). Novi Sad (fotografija- privatna kolekcija)

Faza 2: Kontaminacija uzoraka

U kontrolisanim laboratorijskim uslovima, u prisustvu plamenika kako bi se izbegla unakrsna kontaminacija, po 30 uzoraka je postavljano u sterilne petrijeve šolje. Ukupno je bilo 1440 uzoraka. Svaka petrijeva šolja je predstavljala zasebnu grupu u kojoj je bilo po 30 uzoraka. Petrijeve šolje su podeljene u 3 grupe na osnovu teksture uzorka:

Grupa 1 - tekstura sa porama veličine 70-150 μm

Grupa 2 - tekstura sa porama veličine 50–900 μm

Grupa 3 - tekstura sa porama veličine 13 μm

Svaka od ovih grupa je dalje podeljena u jednu kontrolnu grupu i po tri ispitivane grupe.

- Svaka kontrolna grupa (N=3) je potom kontaminirana sa po 100 μl bakterijskog bujona *Staphylococcus epidermidis* (n=30), *Staphylococcus aureus* (n=30), *Pseudomonas aeruginosa* (n=30) i *Ralstonia picketti* (n=30).
- Ispitivane grupe se bile podeljene prema načinima ispiranja na one u kojima su:
 - Uzorci ispirani oktenidin - dihidrochloridom, pa kontaminirani sa po 100 μl bakterijskog bujona *Staphylococcus epidermidis* (n=30), *Staphylococcus aureus* (n=30), *Pseudomonas aeruginosa* (n=30) i *Ralstonia picketti* (n=30).
 - Uzorci ispirani povidon jodom pa kontaminirani sa po 100 μl bakterijskog bujona *Staphylococcus epidermidis* (n=30), *Staphylococcus aureus* (n=30), *Pseudomonas aeruginosa* (n=30) i *Ralstonia picketti* (n=30).
 - Uzorci ispirani antibiotikom – cefuroksimom, pa kontaminirani sa po 100 μl bakterijskog bujona *Staphylococcus epidermidis* (n=30), *Staphylococcus aureus* (n=30), *Pseudomonas aeruginosa* (n=30) i *Ralstonia picketti* (n=30).
 - Uzorci ispirani mešavinom povidon joda i dva antibiotika (cefuroksim i gentamicin), a potom kontaminirani sa po 100 μl bakterijskog bujona *Staphylococcus epidermidis* (n=30), *Staphylococcus aureus* (n=30), *Pseudomonas aeruginosa* (n=30) i *Ralstonia picketti* (n=30) (Slika 3.).



Slika 3. A- primer kontrolne grupe: kontaminirani uzorci. B- primer ispitivane grupe - kontaminirani uzorci nakon ispiranja povidon jodom

Marinković, M. (2018). Novi Sad (fotografija- privatna kolekcija)

Faza 3: Očitavanje biofilma.

Po završenoj kontaminaciji, uzorci su se inkubirali na temperaturi od 37°C u trajanju od 96h, čime su stvoreni uslovi za formiranje biofilma.

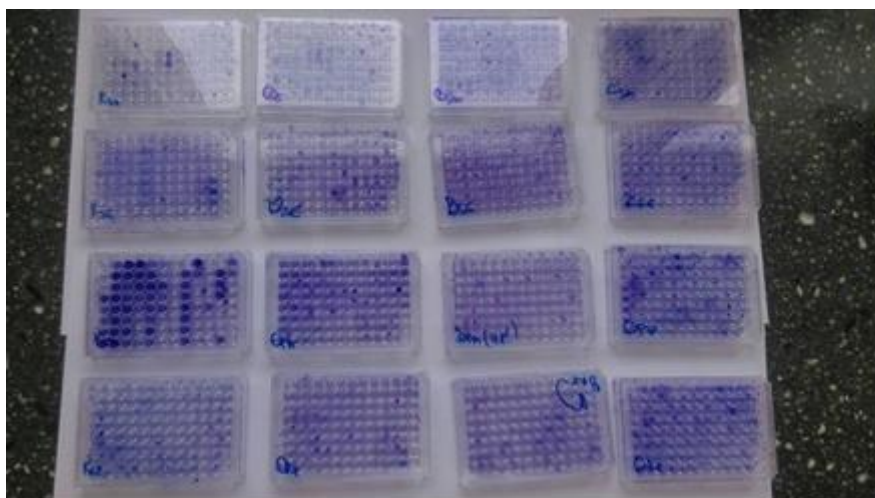


Slika 4. Pertijeve šolje sa kontaminiranim uzorcima u inkubatoru
Marinković, M. (2018). Novi Sad (fotografija- privatna kolekcija)

Nakon inkubacije, svaki pojedinačni uzorak je uronjen u sterilan tripton soja bujon, izlagan soničnoj energiji u trajanju od 1 minuta i zatim vorteksiran 1 minut, čime je omogućeno odvajanje nastalog biofilma od implantata.

- Tripton soja bujon u koji je uronjen pojedinačni uzorak je razlivan u tri bunarčića na mikrotitar ploči u količini od 200 μ l. Kao negativna kontrola služili su bunarčići ispunjeni nezasejanim bujonom.
- Mikrotitar ploče su se zatim inkubirale na 37°C u trajanju od 24h.
- Potom je aspiriran sadržaj iz svakog bunarčića i po 3 puta ispiran sa po 250 μ l sterilnog fiziološkog rastvora, a mikrotitar ploče su se energično protresle da bi se odstranile sve bakterije koje nisu adherirale.
- Adsorbovane bakterije na zidove i dno bunarčića su potom fiksirane sa 200 μ l 99% etanola u trajanju od 15 minuta.

- Po isteku 15 minuta, bunarčići mikrotitar ploča su se praznili i ostavljali da se osuše, a zatim bojili sa 0,2ml 1% kristal violetom. Boja boji ćelije, ali ne i plastiku (Slika 5.).
- Ostavljano je da boja deluje 5 minuta, zatim je odlivana i ispirana pod mlazom tekuće, česmenske vode. Nakon ispiranja ploča, ostaje ljubičasti prsten ili prevlaka na mestima gde su se bakterije pričvrstile na zidove bunarčića. Udubljenja koja su sadržala bakterijske sojeve defektne u adheziji se nisu obojila, za razliku od udubljenja u kojima je rastao soj koji može da formira biofilm.
- Nakon bojenja i sušenja mikrotitar ploča na vazduhu, dodavano 160 μ l 33% sirćetne kiseline da bi se boja razložila.
- Potom je mikrotitar ploča postavljena u ELIZA čitač. Merenje adsorbance na 620 nm uz pomoć ELIZA čitača ukazao je na količinu kristal violeta koji je ostao u otvoru, a ona je direktno zavisna od broja ćelija koje su se pričvrstile za površinu. Ovaj metod omogućava kvantifikaciju pričvršćivanja bakterija.



Slika 5. Mikrotitar ploče nakon bojenja kristal violetom. Ljubičasto prebojeni bunarčići su oni na kojima se nalaze adherirane bakterije tj. formiran biofilm.

Marinković, M. (2018). Novi Sad (fotografija- privatna kolekcija)

Na osnovu adsorbance, svi sojevi su podeljeni u 4 kategorije, pri čemu je cut-off adsorbance (OD_c) definisana kao 3 standardne devijacije srednje adsorbance negativne kontrole:

$OD \leq OD_c$	neadherentan bakterijski soj
$OD_c < OD \leq 2 \times OD_c$	slabo adherentan bakterijski soj
$2 \times OD_c < OD \leq 4 \times OD_c$	umereno adherentan bakterijski soj
$4 \times OD_c < OD$	vrlo adherentan bakterijski soj

4.1. Statistička obrada podataka

Za unos podataka korišćena je programska podrška MS Office Excell 2007, a za statističku obradu podataka korišćen je programski paket SPSS v.20.

Prikupljeni podaci su analizarni adekvatnim parametarskim i neparametarskim statističkim metodama u zavisnosti od ispunjenja pretpostavke o normalnosti varijabli. Normalnost varijabli je ispitivana testovima (Kolmogorov-Smirnov i Shapiro-Wilk), numeričkim pokazateljima (skewness i kurtosis) i grafičkim prikazom (histogram i Q-Q plot). Deskriptivna statistika predstaviće rezultat procentima i medijanom.

U zavisnosti od tipa varijabli, za ispitivanje statistički značajnih razlika u jednoj varijabli između dve nezavisne grupe, korišćen je t-test nezavisnih uzoraka i Mann-Whitney U test. Razlike u jednoj varijabli između tri ili više nezavisnih uzoraka ispitan je analizom varijanse ili Kruskal-Wallis testom.

Hi kvadrat (χ^2) test je korišćen u cilju ispitivanja postojanja statistički značajne razlike u frekvenciji kategorija jedne kategorijalne varijable, a χ^2 testom nezavisnosti ispitano je da li su dve kategorijalne varijable nezavisne. Za ispitivanje postojanja statistički značajne linearne veze između dve kategorijalne varijable korišćen je neparametarski koeficijent korelacije (Spirmanov i Kendalov), dok će se za numeričke varijable koristiti Pirsonov koeficijent korelacije.

Sva ispitivanja sprovedena su na nivou statističke značajnosti $p < 0.05$.

Rezultati su prikazani tabelarno i grafički uz odgovarajući tekstualni komentar.

5. REZULTATI

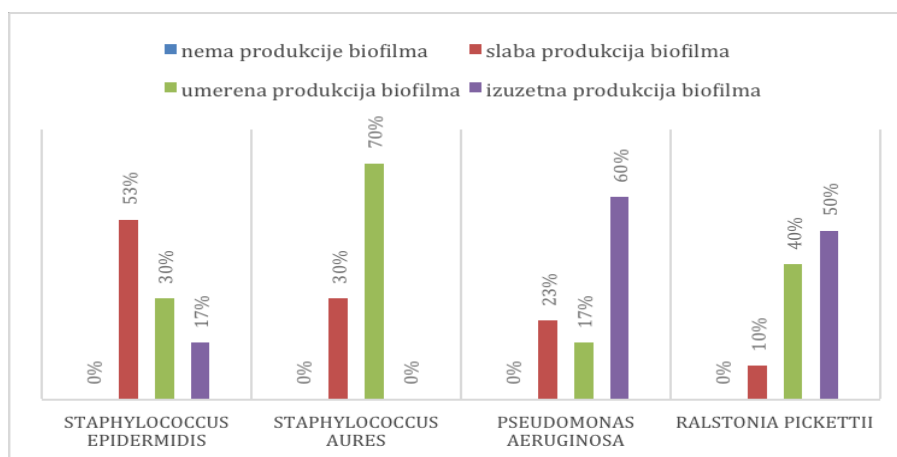
5.1. Produkcija biofilma svake bakterije po grupama implantata

Za svaku grupu implantata, svaku bakteriju, i sve načine ispiranja predstavljene su procentualno produkcije biofilma. Hi kvadrat testom je testirana nulta hipoteza da kategorije produkcije biofilma datih bakterija imaju iste verovatnoće. Testiranje je izvršeno na nivou statističke značajnosti od 5%. Rezultati su predstavljeni po grupama silikonskih implantata i načinima ispiranja.

5.1.1. GRUPA 1. – silikonski implantati sa porama veličine 70-50 µm

U nastavku su predstavljene produkcije biofilma bakterija na silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 µm u kontrolnoj grupi (Grafikon 1.).

Grafikon 1.: Frekvencije produkcije biofilma u procentima bez ispiranja u Grupi 1. (pore veličine 70-150 µm)

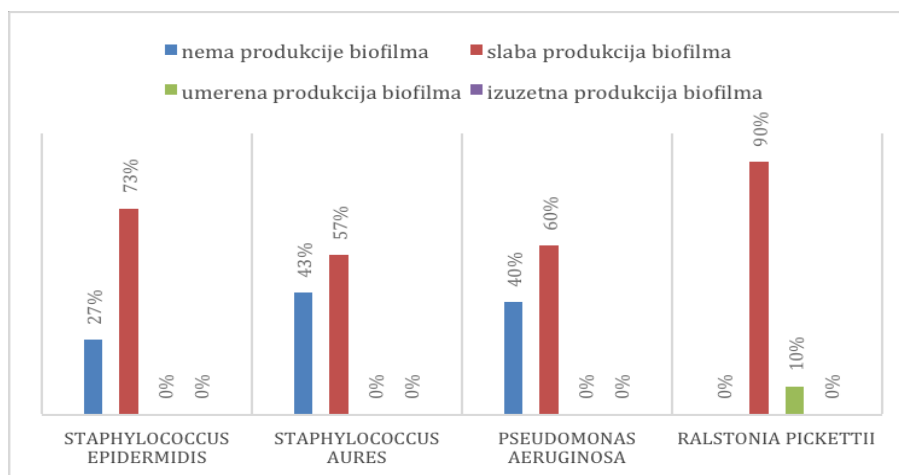


- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* imala je u 53% slučajeva slabu produkciju, u 30% umerenu i u 17% izuzetnu produkciju biofilma, dok se nije desilo da produkcija biofilma ne bude registrovana. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus epidermidis* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoće da produkcija bude umerena ili izuzetna ($p=0.045$).

- Bakterija *Staphylococcus aureus* imala je u 30% slučajeva imala slabu produkciju, a u 70% umerenu produkciju biofilma, dok se nije desilo da produkcija biofilma ne bude registrovana ili da bude izuzetna. Hi kvadrat test otkrio je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus aureus* ima umerenu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoću da produkcija bude slaba ($p=0.028$).
- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* imala je u 23% slučajeva slabu produkciju, u 17% umerenu i u 60% izuzetnu, dok se nije desilo da produkcija biofilma ne bude registrovana. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Pseudomonas aeruginosa* ima izuzetnu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoće da produkcija bude slaba ili umerena ($p=0.007$).
- Bakterija *Ralstonia pickettii* je u 10% slučajeva registrovala slabu produkciju, u 40% umerenu i u 50% izuzetnu, dok se nije desilo da produkcija biofilma ne bude registrovana. Hi kvadrat testom utvrđeno je da verovatnoća da bakterija *Ralstonia pickettii* ima izuzetnu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoće da produkcija bude slaba ili umerena ($p=0.020$).

U nastavku su predstavljene produkcije biofilma bakterija nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom na silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 (Grafikon 2.).

Grafikon 2.: Frekvencije produkcije biofilma nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom u Grupi 1 (pore veličine 70-150 μm)



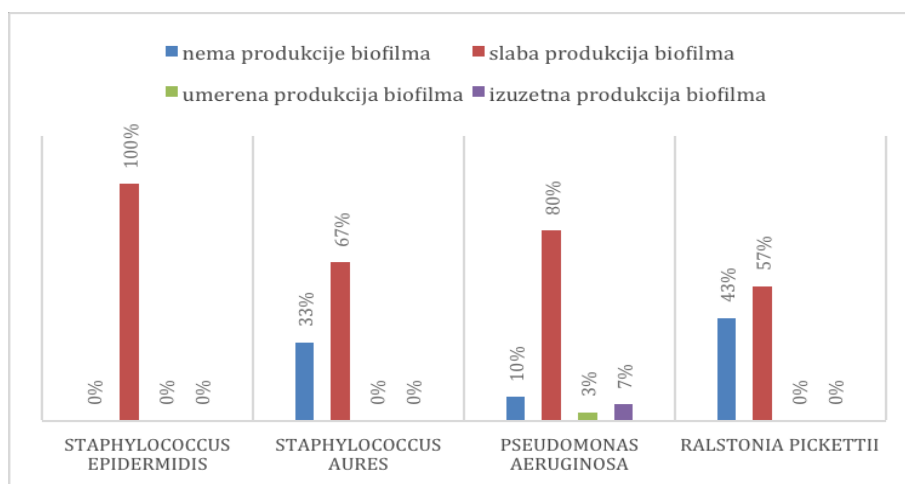
- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* u 27% slučajeva nije registrovala produkciju biofilma, dok je preostalih 73% slučajeva imalo slabu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus epidermidis* ima

slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoće da nema produkciju ($p=0.011$).

- Bakterija *Staphylococcus aureus* u 43% slučajeva nije registrovala produkciju, dok je preostalih 57% posto slučajeva imalo slabu produkciju biofilma. Hi kvadrat test otkrio je da verovatnoća da bakterije *Staphylococcus aureus* ima ima slabu produkciju biofilma nije statistički značajno veća od verovatnoće da nema produkciju ($p=0.465$).
- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* u 40% slučajeva nije registrovala produkciju, dok je preostalih 60% slučajeva imalo slabu produkciju biofilma. Hi kvadrat test otkrio je da verovatnoća da bakterija *Pseudomonas aeruginosa* ima slabu produkciju biofilma nije statistički značajno veća u odnosu na verovatnoće da nema produkciju ($p=0.273$).
- Bakterija *Ralstonia pickettii* imala je u 90% slučajeva slabu produkciju, a u 10% umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom utvrđeno je da je verovatnoća da bakterija *Ralstonia pickettii* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoće da produkcija bude umerena ($p=0.000$).

U nastavku su predstavljene produkcije biofilma bakterija nakon ispiranja povidon jodom na silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 μm (Grafikon 3.).

Grafikon 3.: Frekvencije produkcije biofilma nakon ispiranja povidon jodom u grupi 1 (pore veličine 70-150 μm)



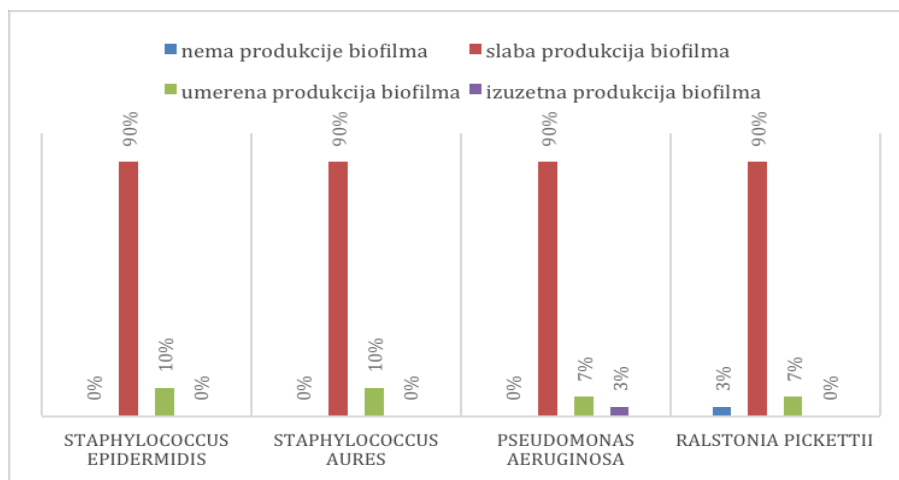
- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* u 100% slučajeva je registrovala slabu produkciju biofilma.
- Bakterija *Staphylococcus aureus* u 33% slučajeva nije registrovala produkciju, dok je preostalih 67% posto slučajeva imalo slabu produkciju biofilma. Hi kvadrat test otkrio

je da verovatnoća da bakterije *Staphylococcus aureus* ima slabu produkciju biofilma nije statistički značajno veća od verovatnoće da nema produkcije ($p=0.068$).

- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* u 10% slučajeva nije registrovala produkciju, u 80% je imala slabu, u 3% umerenu, dok je preostalih 7% slučajeva imalo izuzetnu produkciju biofilma. Hi kvadrat test otkrio je da je verovatnoća da bakterija *Pseudomonas aeruginosa* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoća ostalih produkcija ($p=0.000$).
- Bakterija *Ralstonia pickettii* u 43% slučajeva nije registrovala produkciju, a u 57% je imala slabu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom utvrđeno je da verovatnoća da bakterija *Ralstonia pickettii* ima slabu produkciju biofilma nije statistički značajno veća od verovatnoće da produkcija ne bude registrovana ($p=0.465$).

U nastavku su predstavljene produkcije biofilma bakterija nakon ispiranja antibiotikom cefuroksimom na silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 μm (Grafikon 4.).

Grafikon 4.: Frekvencije produkcije biofilma nakon ispiranja antibiotikom cefuroksim u grupi 1 (pore veličine 70-150 μm)



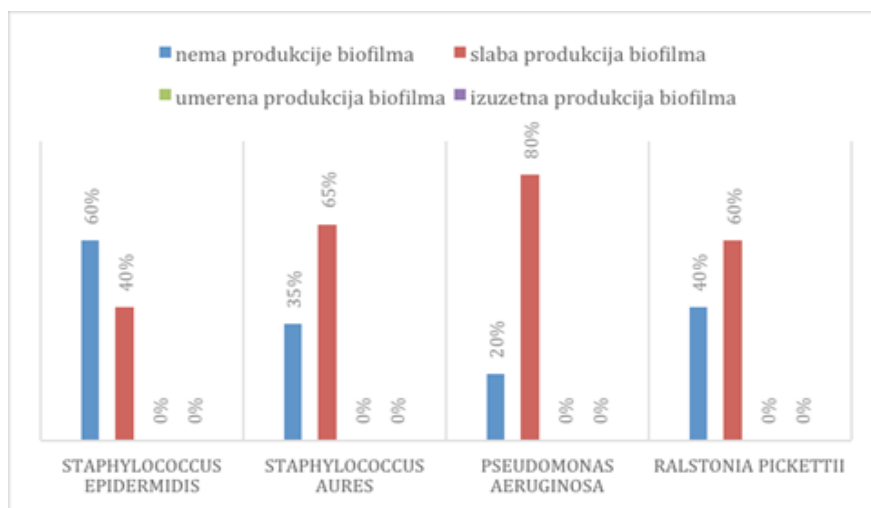
- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* je u 90% slučajeva registrovala slabu produkciju, dok je preostalih 10% slučajeva imalo umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus epidermidis* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoće da ima umerenu produkciju ($p=0.000$).
- Bakterija *Staphylococcus aureus* je u 90% slučajeva imala je slabu produkciju, dok je preostalih 10% slučajeva imalo umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom

pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus aureus* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoće da ima umerenu produkciju ($p=0.000$).

- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* u 90% slučajeva imala je slabu produkciju, u 7% umerenu i u 3% izuzetnu produkciju biofilma. Hi kvadrat test otkrio je da je verovatnoća da bakterija *Pseudomonas aeruginosa* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoća da ima umerenu ili izuzetnu produkciju ($p=0.000$).
- Bakterija *Ralstonia pickettii* u 3% nije registrovala produkciju, u 90% slučajeva imala je slabu produkciju, a u 7% umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom utvrđeno je da je verovatnoća da bakterija *Ralstonia pickettii* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoća da produkcija bude umerena ili da nema produkcije ($p=0.000$).

U nastavku su predstavljene produkcije biofilma bakterija nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika na silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 μm (Grafikon 5.).

Grafikon 5.: Frekvencije produkcije biofilma nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika u grupi 1 (pore veličine 70-150 μm)



- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* u 60% slučajeva nije registrovala produkciju biofilma, a u 40% slučajeva je registrovala slabu produkciju. Hi kvadrat testom pokazano je da ne postoji statistički značajna razlika između verovatnoće da bakterija

Staphylococcus epidermidis ima slabu produkciju biofilma i verovatnoće da nema produkcije ($p=0.371$).

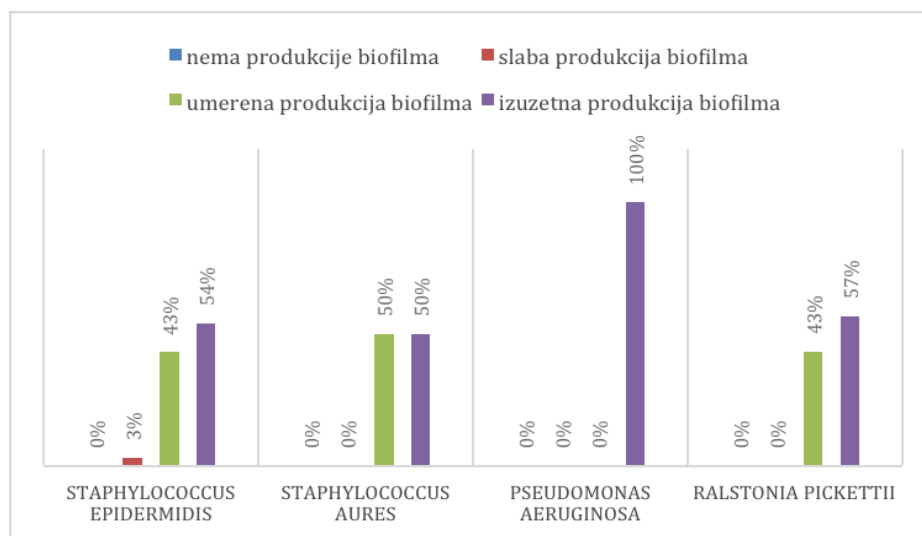
- Bakterija *Staphylococcus aureus* u 35% slučajeva nije registrovala produkciju biofilma, dok je u preostalih 65% registrovala slabu produkciju. Hi kvadrat testom pokazano je da verovatnoća da bakterija *Staphylococcus aureus* ima slabu produkciju biofilma nije statistički značajno veća od verovatnoće da nema produkcije ($p=0.180$).
- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* u 20% slučajeva nije registrovala produkciju biofilma, dok je u preostalih 80% registrovala slabu produkciju. Hi kvadrat test otkrio je da je verovatnoća da bakterija *Pseudomonas aeruginosa* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoće da nema produkciju ($p=0.007$).
- Bakterija *Ralstonia pickettii* u 40% slučajeva nije registrovala produkciju biofilma, dok je u preostalih 60% registrovala slabu produkciju. Hi kvadrat testom utvrđeno je da verovatnoća da bakterija *Ralstonia pickettii* ima slabu produkciju biofilma nije statistički značajno veća od verovatnoće da nema produkcije ($p=0.371$).

5.1.2. GRUPA 2. – silikonski implantati sa porama veličine 50-900 μm

Produkcije biofilma bakterija na silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm su sledeće u kontrolnoj grupi (Grafikon 6.).

- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* imala je u 3% slučajeva slabu produkciju, u 43% umerenu i u 54% izuzetnu produkciju biofilma, dok se nije desilo da produkcija biofilma ne bude registrovana. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus epidermidis* ima izuzetnu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoće da produkcija bude umerena ili slaba ($p=0.002$).
- Bakterija *Staphylococcus aureus* imala je u 50% slučajeva umerenu i u 50% izuzetnu produkciju biofilma, dok se nije desilo da produkcija biofilma ne bude registrovana ili da bude slaba. Hi kvadrat test pokazao je da ne postoje razlike u verovatnoćama da bakterija *Staphylococcus aureus* ima umerenu i izuzetnu produkciju biofilm ($p=1$).

Grafikon 6.: Frekvencije produkcije biofilma u procentima bez ispiranja u grupi 2 (pore veličine 50-900 μm)

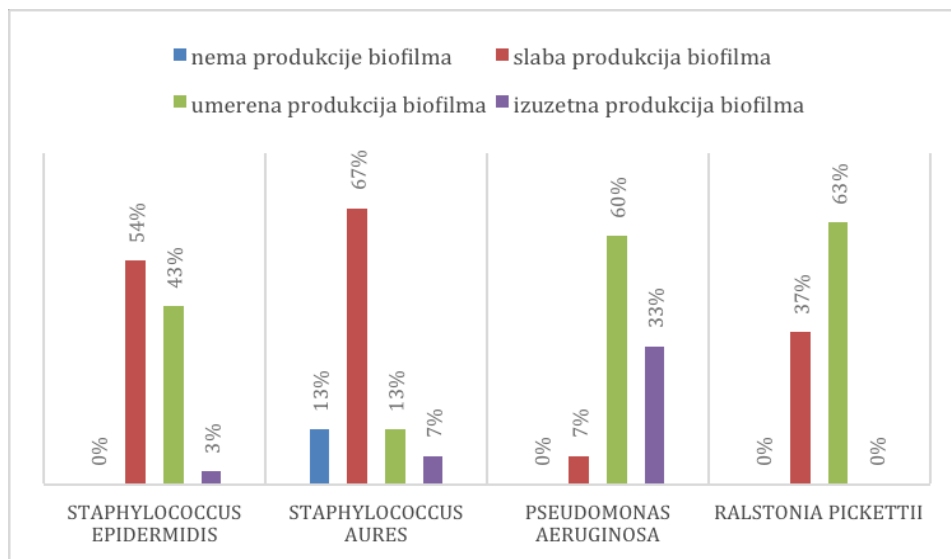


- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* imala je u 100% slučajeva izuzetnu produkciju biofilma.
- Bakterija *Ralstonia pickettii* je u 43% slučajeva imala umerenu i u 57% izuzetnu produkciju biofilma, dok se nije desilo da produkcija biofilma ne bude registrovana ili da bude slaba. Hi kvadrat testom utvrđeno je da ne postoje razlike u verovatnoćama da bakterija *Ralstonia pickettii* ima umerenu i izuzetnu produkciju biofilma ($p=0.465$).

Produkcije biofilma bakterija nakon ispiranja uzoraka oktenidin-dihloridom na silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm su sledeće (Grafikon 7.).

- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* u 54% slučajeva registrovala je slabu produkciju, u 43% slabu i 3% slučajeva imalo izuzetnu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus epidermidis* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoću da je produkcija izuzetna ili umerena ($p=0.002$).
- Bakterija *Staphylococcus aureus* u 13% slučajeva nije registrovala produkciju, u 67% je registrovala slabu, u 13% umerenu, dok je preostalih 7% posto slučajeva imalo izuzetnu produkciju biofilma. Hi kvadrat test otkrio je da verovatnoća da bakterija *Staphylococcus aureus* ima slabu produkciju biofilma nije statistički značajno veća u odnosu na ostale verovatnoće svih ostalih produkcija ($p=0.000$).

Grafikon 7.: Frekvencije produkcije biofilma nakon ispiranja oktenidin-dihidrokloridom u grupi 2 (pore veličine 50-900 μm)



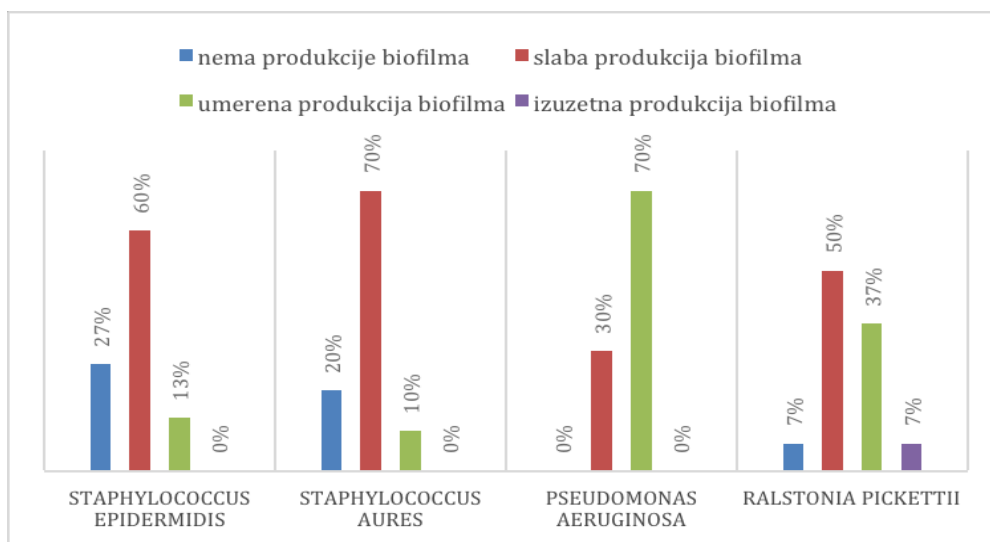
- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* je u 70% slučajeva imala slabu, u 60% umerenu i u 33% izuzetnu produkciju biofilma. Hi kvadrat test otkrio je da verovatnoća da bakterija *Pseudomonas aeruginosa* ima umerenu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoću ostalih produkcija ($p=0.002$).
- Bakterija *Ralstonia pickettii* imala je u 37% slučajeva slabu produkciju, a u 63% umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom utvrđeno je da verovatnoća da bakterija *Ralstonia pickettii* ima slabu produkciju biofilma nije statistički značajno manja u odnosu na verovatnoću da produkcija bude umerena ($p=0.144$).

Produkcije biofilma bakterija nakon ispiranja povidon jodom na silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm su sledeće (Grafikon 8.).

- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* u 27% slučajeva nije registrovala produkciju, u 60% je registrovala slabu i u 13% umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus epidermidis* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoću da je produkcija umerena ili da je nema ($p=0.006$).
- Bakterija *Staphylococcus aureus* u 20% slučajeva nije registrovala produkciju, dok je u 70% posto slučajeva imala slabu, a u 10% umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat test otkrio je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus aureus* ima ima

slabu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoće da nema produkcije ili da je umerena ($p=0.001$).

Grafikon 8.: Frekvencije produkcije biofilma nakon ispiranja povidon jodom u grupi 2 (pore veličine 50-900 μm)



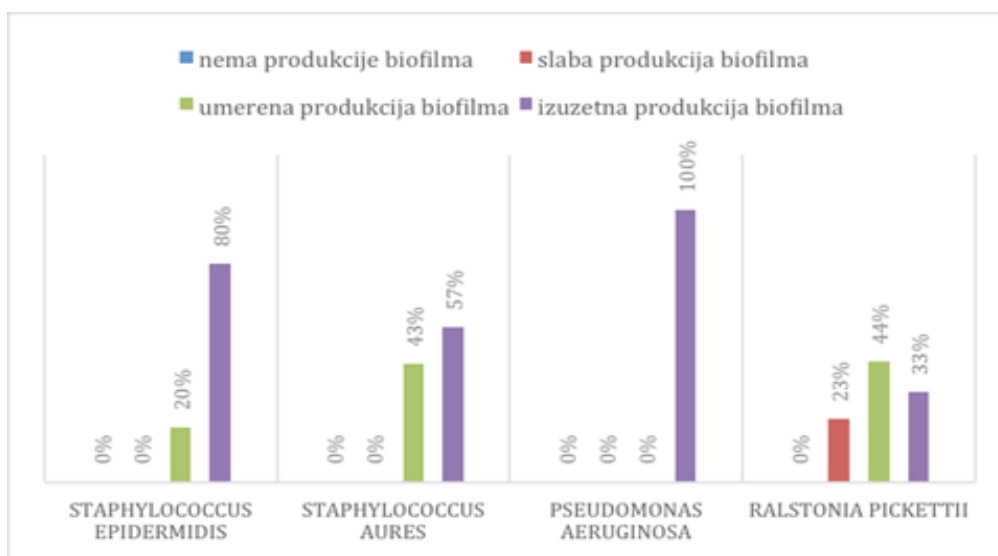
- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* je u 30% slučajeva registrovala slabu produkciju, a u 70% umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat test otkrio je da je verovatnoća da bakterija *Pseudomonas aeruginosa* ima umerenu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoću da ima slabu produkciju ($p=0.028$).
- Bakterija *Ralstonia pickettii* u 7% slučajeva nije registrovala produkciju, dok je u 50% slučajeva imala slabu, u 37% umerenu i 7% izuzetnu produkciju. Hi kvadrat testom utvrđeno je da verovatnoća da bakterija *Ralstonia pickettii* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoću ostalih produkcija ($p=0.001$).

Produkcije biofilma bakterija nakon ispiranja antibiotikom cefuroksimom na silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm su sledeće (Grafikon 9.).

- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* je u 20% slučajeva registrovala umerenu produkciju, dok je preostalih 80% slučajeva imalo izuzetnu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus epidermidis* ima izuzetnu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoću da ima umerenu produkciju ($p=0.001$).

- Bakterija *Staphylococcus aureus* je u 43% slučajeva imala umerenu produkciju, dok je preostalih 57% slučajeva imalo izuzetnu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom pokazano je da ne postoji statistički značajna razlika između verovatnoća da bakterija *Staphylococcus aureus* ima umerenu i izuzetnu produkciju biofilma ($p=0.465$).

Grafikon 9.: Frekvencije produkcije biofilma nakon ispiranja antibiotikom cefuroksim u grupi 2 (pore veličine 50-900 μm)

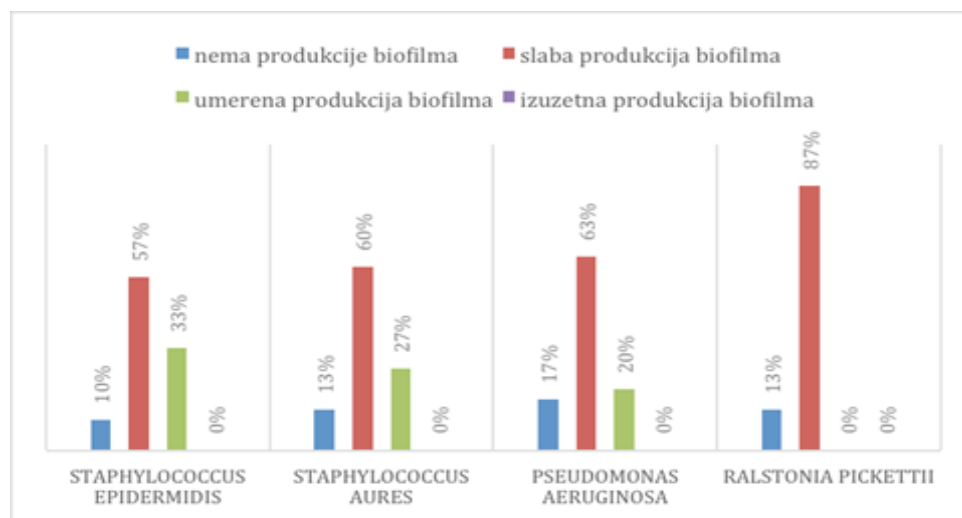


- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* u 100% slučajeva imala je izuzetnu produkciju biofilma.
- Bakterija *Ralstonia pickettii* je u 23% registrovala slabu, u 44% slučajeva umerenu, a u 7% izuzetnu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom utvrđeno je da ne postoje statistički značajne razlike u verovatnoćama produkcija biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* ($p=0.407$).

Produkcije biofilma bakterija nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika na silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm su sledeće (Grafikon 10.).

- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* u 10% slučajeva nije registrovala produkciju biofilma, u 57% slučajeva registrovala slabu produkciju i u 33% umerenu produkciju. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus epidermidis* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoća ostalih produkcija ($p=0.007$).

Grafikon 10.: Frekvencije produkcije biofilma nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika u grupi 2 (pore veličine 50-900 µm)

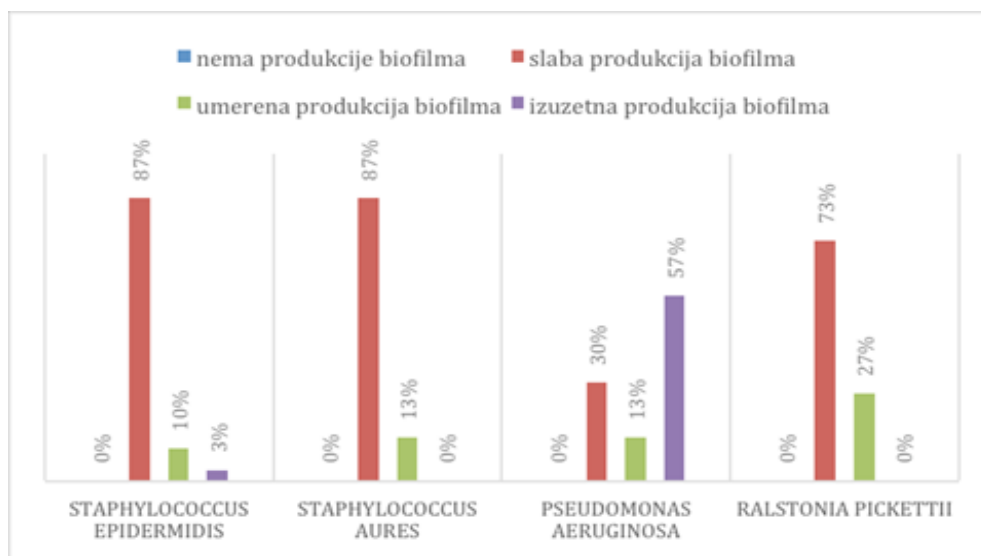


- Bakterija *Staphylococcus aureus* u 13% slučajeva nije registrovala produkciju biofilma, u 60% registrovala je slabu i u 27% umerenu produkciju. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus aureus* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoća ostalih produkcija ($p=0.006$).
- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* u 17% slučajeva nije registrovala produkciju biofilma, u 63% je registrovala slabu produkciju i u 20% umerenu. Hi kvadrat test otkrio je da je verovatnoća da bakterija *Pseudomonas aeruginosa* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoća ostalih produkcija ($p=0.002$).
- Bakterija *Ralstonia pickettii* u 13% slučajeva nije registrovala produkciju biofilma, dok je u preostalih 87% registrovala slabu produkciju. Hi kvadrat testom utvrđeno je da je verovatnoća da bakterija *Ralstonia pickettii* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoće da nema produkcije uopšte ($p=0.000$).

5.1.3. GRUPA 3. – silikonski implantati sa porama veličine 13 µm

Produkcije biofilma bakterija na silikonskim implantatima sa porama veličine 13 µm su date u nastavku u kontrolnoj grupi (Grafikon 11.).

Grafikon 11.: Frekvencije produkcije biofilma u procentima bez ispiranja u grupi 3 (pore veličine 13 μm)

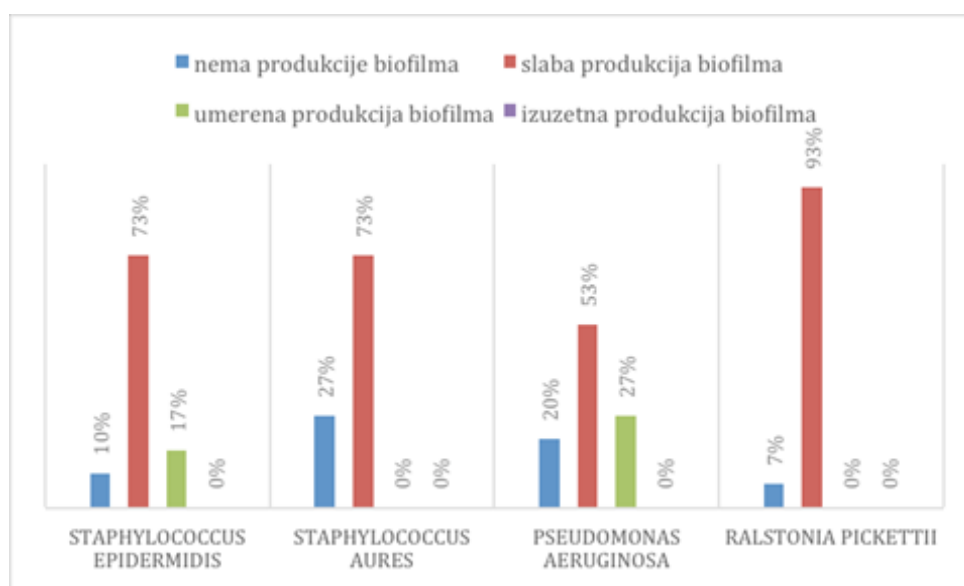


- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* imala je u 87% slučajeva slabu produkciju, u 10% umerenu i u 3% izuzetnu produkciju biofilma, dok se nije desilo da produkcija biofilma ne bude registrovana. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus epidermidis* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veću u odnosu na verovatnoće da produkcija bude umerena ili izuzetna ($p=0.000$).
- Bakterija *Staphylococcus aureus* imala je u 87% slučajeva imala slabu i u 13% umerenu produkciju biofilma, dok se nije desilo da produkcija biofilma ne bude registrovana ili da bude izuzetna. Hi kvadrat test pokazao je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus aureus* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veću od verovatnoće da ima umerenu produkciju ($p=0.000$).
- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* imala je u 30% slučajeva slabu produkciju, u 13% umerenu i u 57% izuzetnu produkciju biofilma, dok se nije desilo da produkcija biofilma ne bude registrovana. Hi kvadrat test pokazao je da je verovatnoća da bakterija *Pseudomonas aeruginosa* ima izuzetnu produkciju biofilma statistički značajno veću od verovatnoća ostalih produkcija ($p=0.011$).
- Bakterija *Ralstonia pickettii* je u 73% imala slabu, a u 27% slučajeva umerenu produkciju biofilma, dok se nije desilo da produkcija biofilma ne bude registrovana ili da bude izuzetna. Hi kvadrat testom utvrđeno je da je verovatnoća da bakterija

Ralstonia pickettii ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veću od verovatnoće da produkcija bude umerena ($p=0.014$).

Produkcije biofilma bakterija nakon ispiranja uzoraka oktenidin-dihidrohloridom na silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm su date u nastavku (Grafikon 12.).

Grafikon 12.: Frekvencije produkcije biofilma nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom u grupi 3 (pore veličine 13 μm)

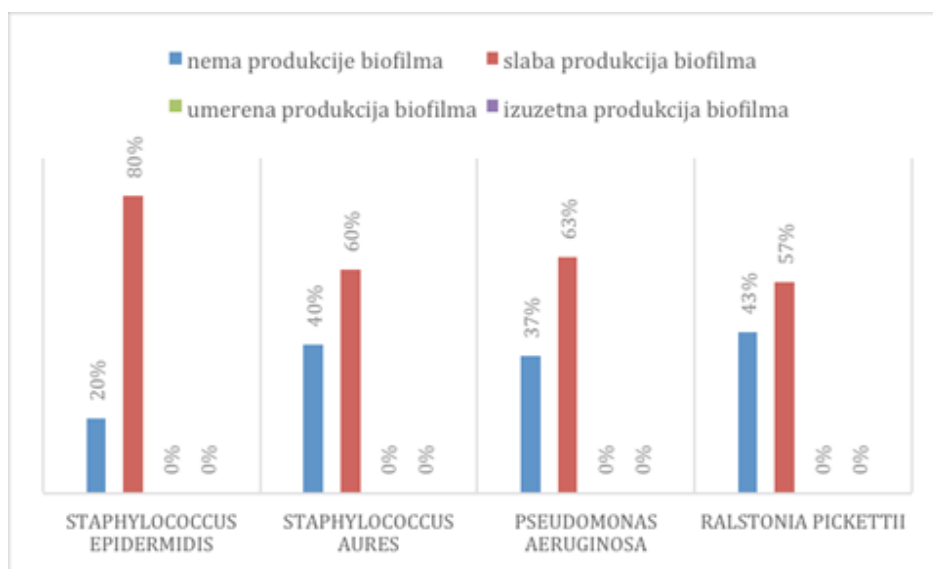


- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* u 10% slučajeva nije registrovala produkciju, u 73% je registrovala slabu, a u 17% izuzetnu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus epidermidis* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoću da je produkcija izuzetna ili da je nema ($p=0.000$).
- Bakterija *Staphylococcus aureus* u 27% slučajeva nije registrovala produkciju, a u 73% je registrovala slabu produkciju biofilma. Hi kvadrat test otkrio je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus aureus* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoću da nema produkcije ($p=0.011$).
- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* u 20% slučajeva nije registrovala produkciju, a u 53% slučajeva je imala slabu i u 27% slučajeva umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat test je pokazao da ne postoji statistički značajna razlika u verovatnoćama produkcije biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* ($p=0.061$).

- Bakterija *Ralstonia pickettii* nije registrovala produkciju biofilma u 7% slučajeva, dok je registrovala slabu produkciju u 93% slučajeva. Hi kvadrat testom utvrđeno je da je verovatnoća da bakterija *Ralstonia pickettii* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća u odnosu na verovatnoću da ne bude generisana produkcija ($p=0.000$).

Produkcije biofilma bakterija nakon ispiranja povidon jodom na silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm su date u nastavku (Grafikon 13.).

Grafikon 13.: Frekvencije produkcije biofilma nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika u grupi 3 (pore veličine 13 μm)



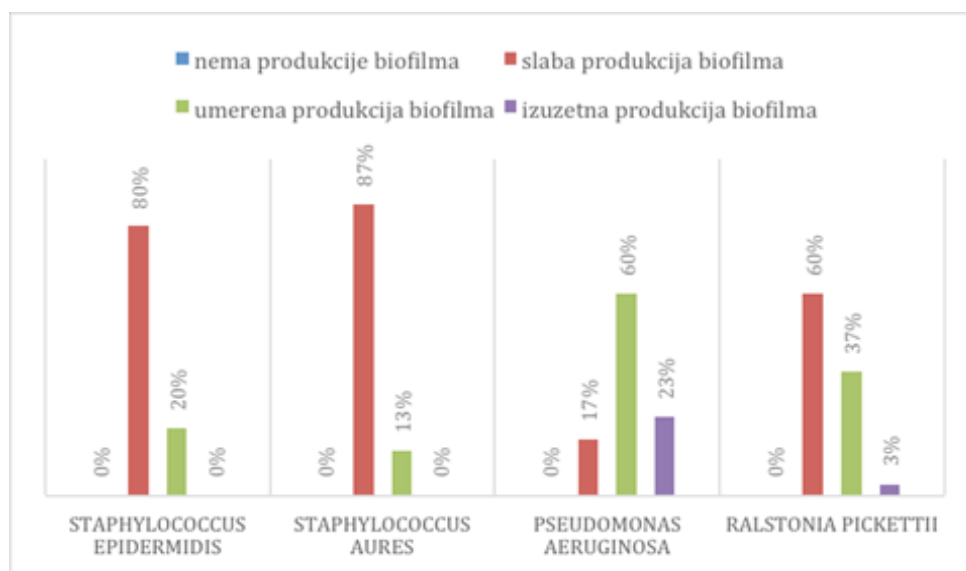
- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* u 20% slučajeva nije registrovala produkciju, a u 80% je registrovala slabu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus epidermidis* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veću u odnosu na verovatnoću da je nema ($p=0.000$).
- Bakterija *Staphylococcus aureus* u 40% slučajeva nije registrovala produkciju, dok je u 60% posto slučajeva imala slabu produkciju biofilma. Hi kvadrat test otkrio je da ne postoji statistički značajna razlika u verovatnoći da bakterija *Staphylococcus aureus* ima slabu produkciju biofilma i verovatnoću da nema produkcije ($p=0.273$).
- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* u 37% slučajeva nije registrovala produkciju, dok je u 63% posto slučajeva imala slabu produkciju biofilma. Hi kvadrat test otkrio je da ne postoji statistički značajna razlika u verovatnoći da bakterija *Pseudomonas*

aeruginosa ima slabu produkciju biofilma i verovatnoću da nema produkcije ($p=0.144$).

- Bakterija *Ralstonia pickettii* u 43% slučajeva nije registrovala produkciju, dok je u 57% slučajeva imala slabu produkciju. Hi kvadrat test otkrio je da ne postoji statistički značajna razlika u verovatnoći da bakterija *Ralstonia pickettii* ima slabu produkciju biofilm i verovatnoću da nema produkcije uopšte ($p=0.465$).

Produkcije biofilma bakterija nakon ispiranja antibiotikom - cefuroksimom na silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm su date u nastavku (Grafikon 14.).

Grafikon 14.: Frekvencije produkcije biofilma nakon ispiranja antibiotikom cefuroksim u grupi 3 (pore veličine 13 μm)

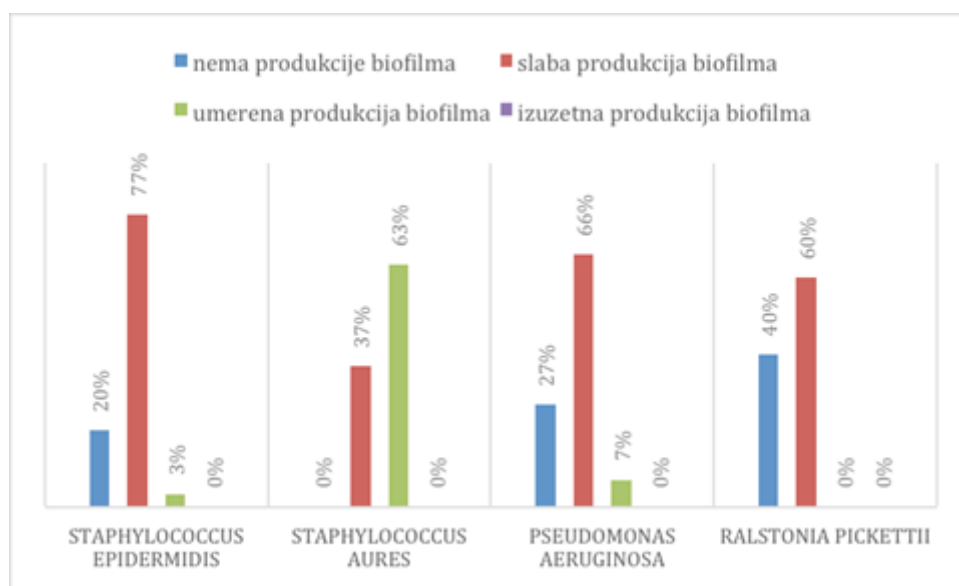


- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* je u 80% slučajeva registrovala slabu, a u 20% umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus epidermidis* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veću od verovatnoće da ima umerenu produkciju ($p=0.001$).
- Bakterija *Staphylococcus aureus* je u 87% slučajeva imala je slabu produkciju, dok je preostalih 13% slučajeva imalo umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus aureus* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veću od verovatnoće da produkcija bude umerena ($p=0.000$).

- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* je u 17% slučajeva imala slabu, u 60% umerenu i u 23% izuzetnu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Pseudomonas aeruginosa* ima umerenu produkciju biofilma statistički značajno veću od verovatnoća da produkcija bude slaba ili izuzetna ($p=0.007$).
- Bakterija *Ralstonia pickettii* je u 60% registrovala slabu produkciju, u 37% slučajeva umerenu produkciju, a u 3% izuzetnu produkciju. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Ralstonia pickettii* ima slabu produkciju biofilm statistički značajno veću od verovatnoće da produkcija bude umerena ili izuzetna ($p=0.001$).

Produkcije biofilma bakterija nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika na silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm su date u nastavku (Grafikon 15.).

Grafikon 15.: Frekvencije produkcije biofilma nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika u grupi 3 (pore veličine 13 μm)



- Bakterija *Staphylococcus epidermidis* u 20% slučajeva nije registrovala produkciju, u 77% je registrovala slabu i u 3% umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom pokazano je da je verovatnoća da bakterija *Staphylococcus epidermidis* ima slabu produkciju biofilma veću od verovatnoće ostalih produkcije ($p=0.000$).
- Bakterija *Staphylococcus aureus* je u 37% slučajeva registrovala slabu, a u 63% umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom pokazano je da verovatnoća da bakterija *Staphylococcus aureus* ima slabu produkciju biofilma nije statistički značajno manja od verovatnoće umerene produkcije ($p=0.457$).

- Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* u 27% slučajeva nije registrovala produkciju, u 66% je registrovala slabu i u 7% umerenu produkciju biofilma. Hi kvadrat test otkrio je da je verovatnoća da bakterija *Pseudomonas aeruginosa* ima slabu produkciju biofilma statistički značajno veća od verovatnoće ostalih produkcija ($p=0.000$).
- Bakterija *Ralstonia pickettii* u 40% slučajeva nije registrovala produkciju, a u 37% je registrovala slabu produkciju biofilma. Hi kvadrat testom utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u verovatnoćama produkcije biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* ($p=0.273$).

5.2. Uticaj teksture na formiranje biofilma za svaku bakteriju – kontrolne grupe

Za svaku bakteriju je ispitano postojanje veze između produkcije biofilma četiri različite bakterije i teksture silikonskih implantata.

5.2.1. *Staphylococcus epidermidis*

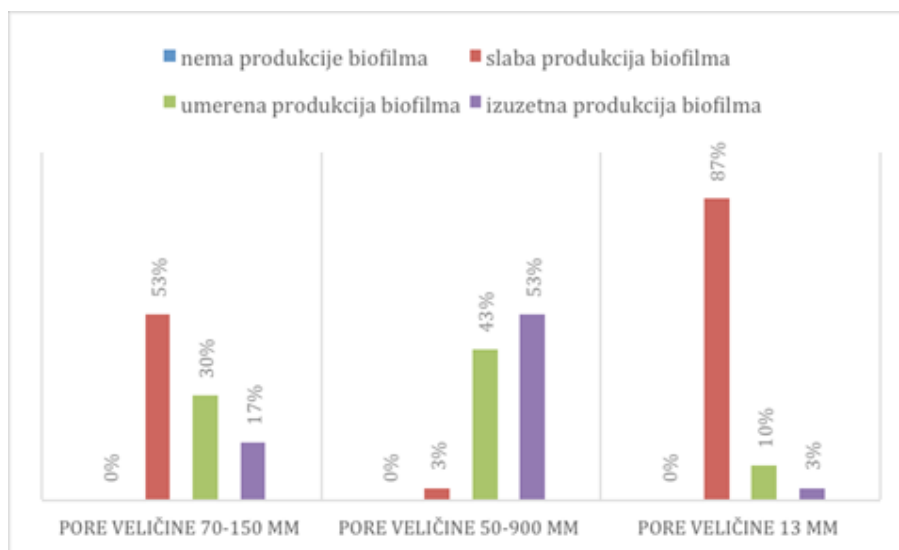
Hi kvadrat test nezavisnosti otkrio je da postoji statistički značajan uticaj teksture silikonskih implantata na produkciju biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* (chi square (4)=44.628, $p=0.000$). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 16. Velčina uticaja teksture implantata na produkciju biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* iznosi 0.2479 što je prema Koenovom kriterijumu srednji uticaj.

Rezultat hi kvadrat testa je i u ovom slučaju potvrđen i Kruskal Volis testom koji je utvrdio postojanje statistički značajnih razlika u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* tri implantata (chi square (2)=42.365, $p=0.000$).

Man Vitnijev U testom je ispitano koje podloge se statistički značajno međusobno razlikuju pri čemu je upotrebljena Bonferonijeva korekcija alfa vrednosti ($0.05/3=0,017$). Man Vitnijev U test je otkrio postojanje statistički značajnih razlika u svim poređenjima.

- Biofilm bakterije *Staphylococcus epidermidis* se statistički značajno više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=297$, $p=0.005$).

Grafikon 16.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus epidermidis* po grupama silikonskih implantata



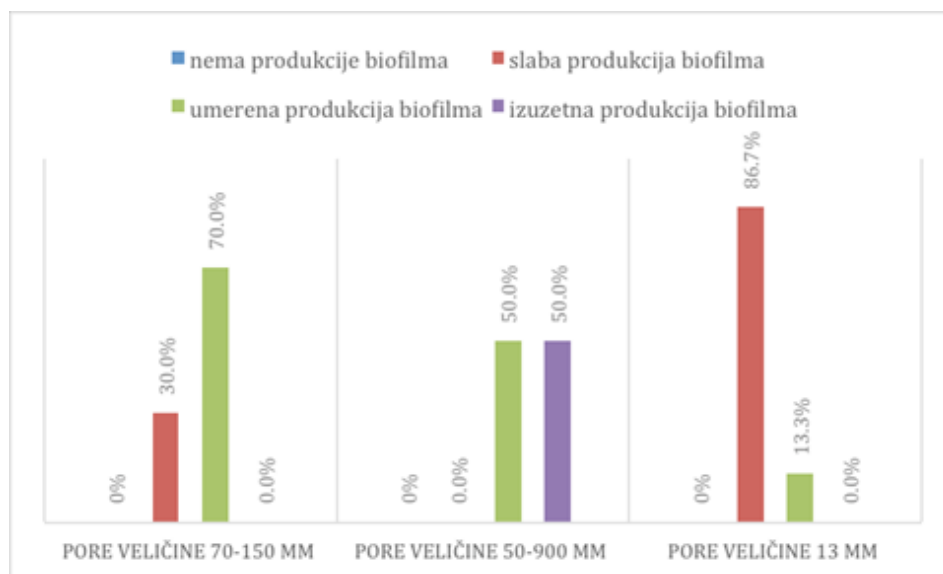
- Biofilm bakterije *Staphylococcus epidermidis* se statistički značajno više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=57,5$, $p=0.000$).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus epidermidis* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=185$, $p=0.000$).

5.2.2. *Staphylococcus aureus*

Hi kvadrat testom nezavisnosti ispitano je postojanje veze između produkcije biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* i teksture implantata čiji rezultati ukazuju da postoji statistički značajna veza ($\chi^2(4)=71.036$, $p=0.000$). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 17. Veličina uticaja teksture implantata na produkciju biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* iznosi 0.3946 što je prema Koenovom kriterijumu velik uticaj.

Rezultat je potvrđen i Kruskal Volis testom koji je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na tri različito teksturisana implantata ($\chi^2(2)=55.504$, $p=0.000$). Da bi se utvrdilo koji implantati se statistički značajno međusobno razlikuju primenjen je Man Vitnijev U test koristeći Bonferonijevu korekciju alfa vrednosti ($0.05/3=0,017$). Man Vitnijev U test je otkrio postojanje statistički značajnih razlika u svim poređenjima.

Grafikon 17.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus aureus* po grupama silikonskih implantata



- Biofilm bakterije *Staphylococcus aureus* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70–150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm (U=195, p=0.000).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus aureus* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm (U=30, p=0.000).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus aureus* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70–150 μm.

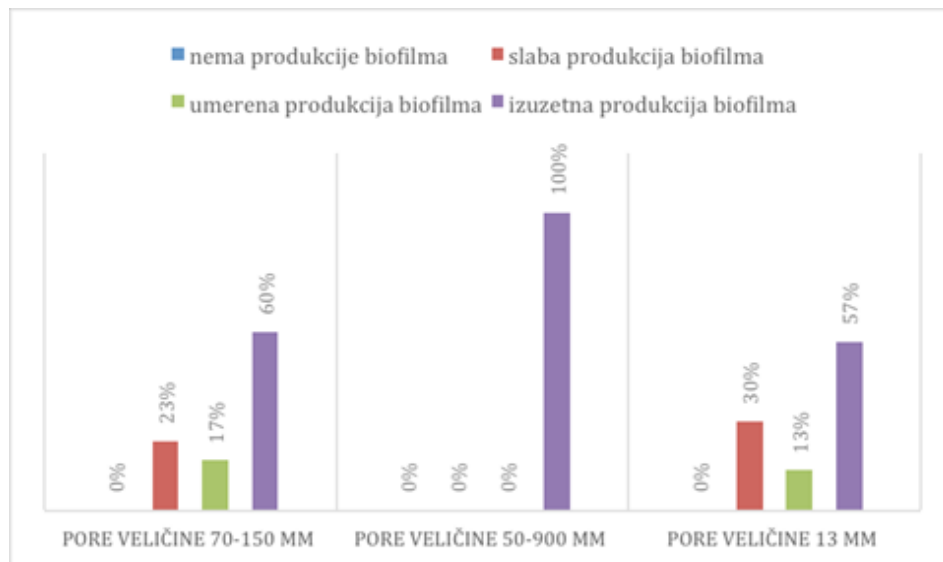
5.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Hi kvadrat testom nezavisnosti utvrđeno je da postoji statistički značajna veza između produkcije biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* i teksture implantata (chi square (4)=17.872, p=0.001). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 18. Veličina uticaja vrste implantata na produkciju biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* iznosi 0.099 što je prema Koenovom kriterijumu uticaj male jačine.

Kruskal Volis test potvrdio je rezultate dobijene hi kvadrat testom, odnosno pokazano je da postoji statistički značajan uticaj vrste implantata na produkciju biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* (chi square (2)=16.856, p=0.000).

Man Vitnijev U testom, sa istom procedurom kao u prethodnim testovima, pokazano je da postoje statistički značajne razlike u produkciji biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* između sledećih grupa implantata.

Grafikon 18.: Frekvencije produkcije biofilma *Pseudomonas aeruginosa* po grupama silikonskih implantata



- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 μm i implantatima sa porama veličine 13 μm (U=426, p=0.694).
- Biofilm bakterije *Pseudomonas aeruginosa* se statistički značajno više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm (U=255, p=0.000).
- Biofilm bakterije *Pseudomonas aeruginosa* se statistički značajno više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm (U=258, p=0.000).

5.2.4. *Ralstonia pickettii*

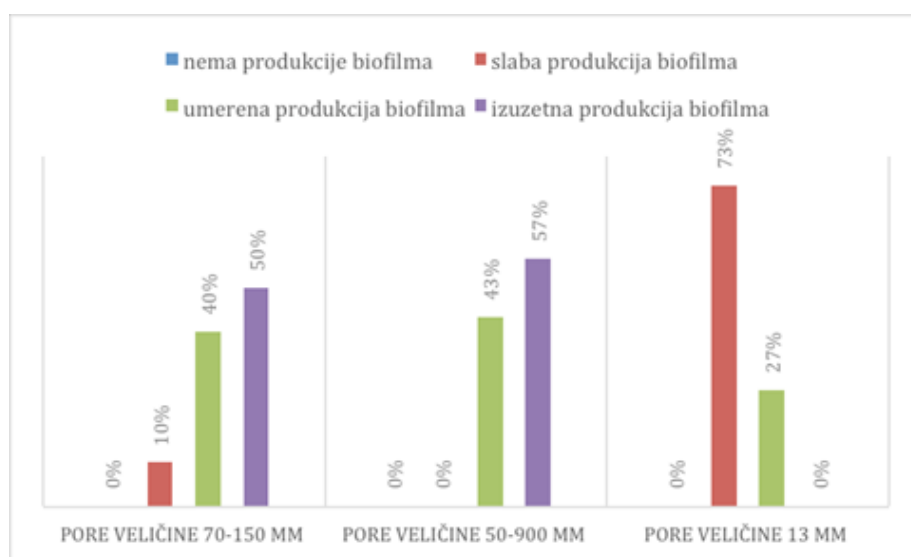
Hi kvadrat testom nezavisnosti pokazano je da postoji statistički značajna veza između produkcije biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* i teksture implantata (chi square (4)=18.872, p=0.000). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 19. Veličina uticaja vrste implantata na

produkciju biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* iznosi 0.2867 što je prema Koenovom kriterijumu uticaj srednje jačine.

Rezultat hi kvadrat testa je i u ovom slučaju potvrđen i Kruskal Volis testom koji ukazuje na postojanje statistički značajnog uticaja teksture implantata na produkciju biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* (chi square (2)=46.366, p=0.000).

Man Vitnijev U testom je ispitano koji implantati se statistički značajno međusobno razlikuju pri čemu je upotrebljena Bonferonijeva korekcija alfa vrednosti (0.05/3=0,017). Man Vitnijev U test je otkrio postojanje statistički značajnih razlika u svim poređenjima.

Grafikon 19.: Frekvencije produkcije biofilma *Ralstonia pickettii* po grupama silikonskih implantata



- Biofilm bakterije *Ralstonia pickettii* se statistički značajno više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm (U=105, p=0.000).
- Biofilm bakterije *Ralstonia pickettii* se statistički značajno više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm (U=52, p=0.000).
- Biofilm bakterije *Ralstonia pickettii* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm (U=270, p=0.000).

5.3.Efekti ispiranja na formiranje biofilma svake bakterije – ispitivane grupe

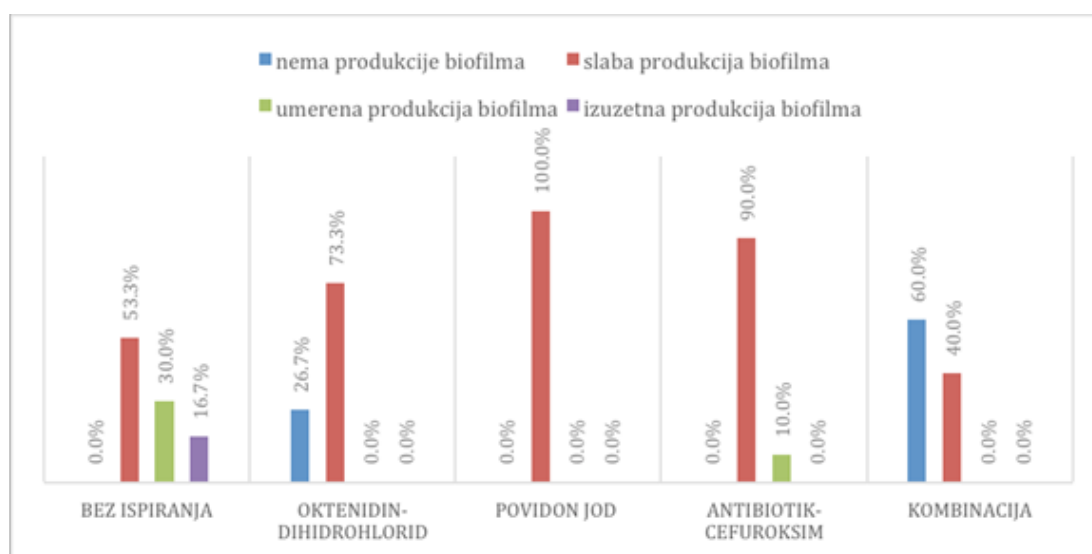
Dalje je ispitana sposobnost formiranja biofilma navedenih bakterija na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom, povidon jodom, antibiotikom-cefuroksimom kao i kombinacijom povidon joda i dva antibiotika, u odnosu na površine koje nisu ispirane.

5.3.1. GRUPA 1. - silikonski implantati sa porama veličine 70-150 µm

5.3.1.1. *Staphylococcus epidermidis*

Hi kvadrat testom nezavisnosti pokazano je da vrsta rastora za ispiranje ima statistički značajan uticaj na produkciju biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* kod silikonskih implantata sa porama veličine 70-150 µm (chi square(12)=95.350, p=0.000). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 20. Veličina uticaja vrste podloge na produkciju biofilma iznosi 0.227 što je prema Koenovom kriterijumu srednji uticaj. Kruskal Volis test je takođe otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma i vrste ispiranja (chi square(4)=60.89, p=0.000). Man Vitnijevim U testom ispitano je koji način ispiranja se statistički značajno razlikuje od slučaja bez ispiranja.

Grafikon 20.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus epidermidis* na silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 µm po načinima ispiranja

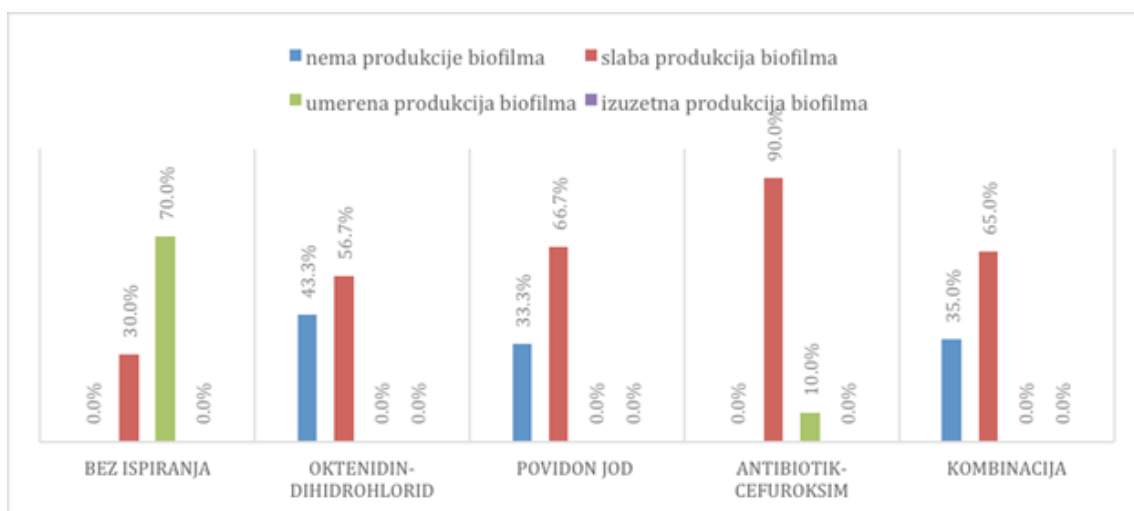


- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=176, p=0.000).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* nakon ispiranja povidon jodom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=240, p=0.000).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* nakon ispiranja antibiotikom-cefuroksimom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=277.5, p=0.001).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=64, p=0.000).

5.3.1.2. *Staphylococcus aureus*

Hi kvadrat testom nezavisnosti pokazano je da način ispiranja ima statistički značajan uticaj na produkciju biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* kod silikonskih implantata sa porama veličine 70-150 μm (chi square(8)=95.875, p=0.000). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 21. Veličina uticaja načina ispiranja na produkciju biofilma iznosi 0.324 što je prema Koenovom kriterijumu velik uticaj. Kruskal Volis test je takođe otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma i načina ispiranja (chi square(4)=66.59, p=0.000).

Grafikon 21.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 μm po načinima ispiranja



Man Vitnijevim U test dao je sledeće rezultate:

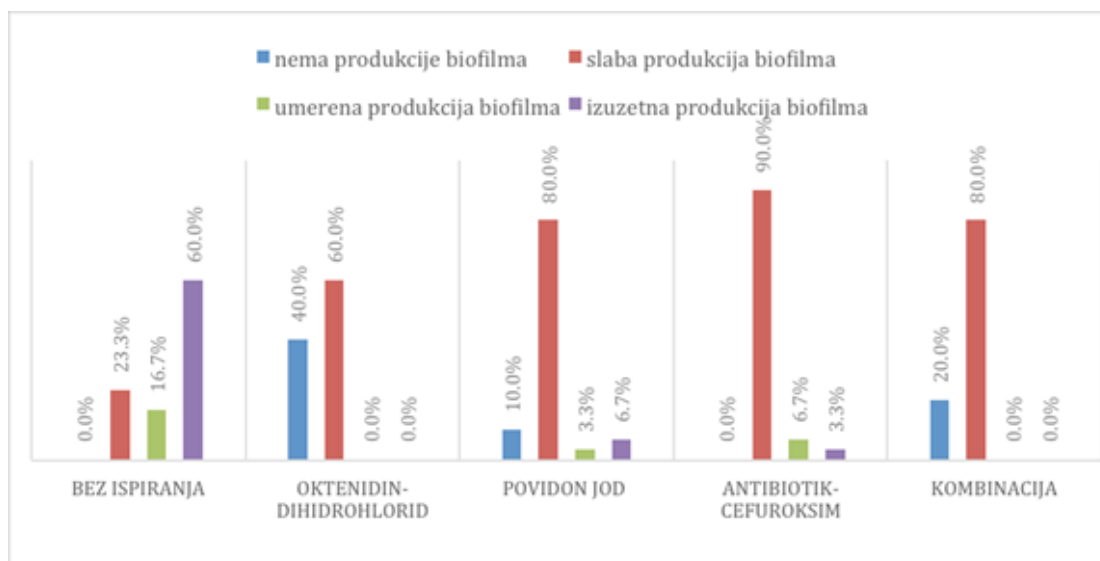
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=76.5, p=0.000).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja povidon jodom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=90, p=0.000).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja antibiotikom-cefuroksimom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=180, p=0.000).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=58.5, p=0.000).

5.3.1.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Hi kvadrat testom nezavisnosti pokazano je da način ispiranja ima statistički značajan uticaj na produkciju biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* kod silikonskih implantata sa porama veličine 70-150 μm (chi square(12)=99.679, p=0.000). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 22. Veličina uticaja vrste podloge na produkciju biofilma iznosi 0.234 što je prema Koenovom kriterijumu srednji uticaj. Kruskal Volis test je takođe otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma i načina ispiranja (chi square(4)=69.35, p=0.000).

- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=63, p=0.000).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja povidon jodom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=135.5, p=0.000).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja antibiotikom-cefuroksimom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=134.5, p=0.000).

Grafikon 22.: Frekvencije produkcije biofilma *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 µm po načinima ispiranja



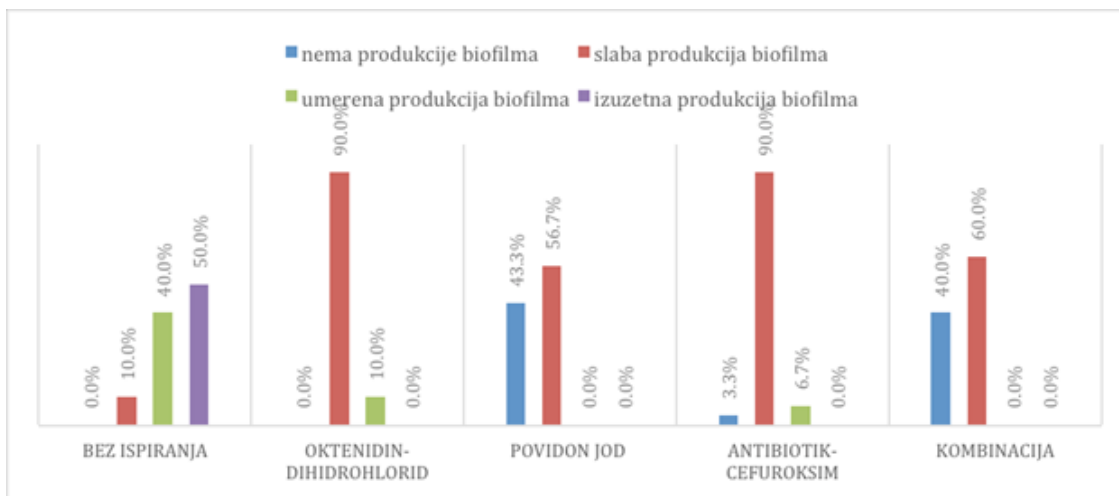
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=56, p=0.000).

5.3.1.4. *Ralstonia pickettii*

Hi kvadrat testom nezavisnosti pokazano je da način ispiranja ima statistički značajan uticaj na produkciju biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 µm (chi square(12)=136.53, p=0.000). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 23. Veličina uticaja načina ispiranja na produkciju biofilma iznosi 0.325 što je prema Koenovom kriterijumu velik uticaj. Kruskal Volis test je takođe otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma i načina ispiranja (chi square(4)=89.23, p=0.000).

- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=67.5, p=0.000).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja povidon jodom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=25.5, p=0.000).

Grafikon 23.: Frekvencije produkcije biofilma *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima sa porama veličine 70-150 μm po načinima ispiranja



- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja antibiotikom-cefuroksimom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=58.5$, $p=0.000$).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja kombinacijom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=18$, $p=0.000$).

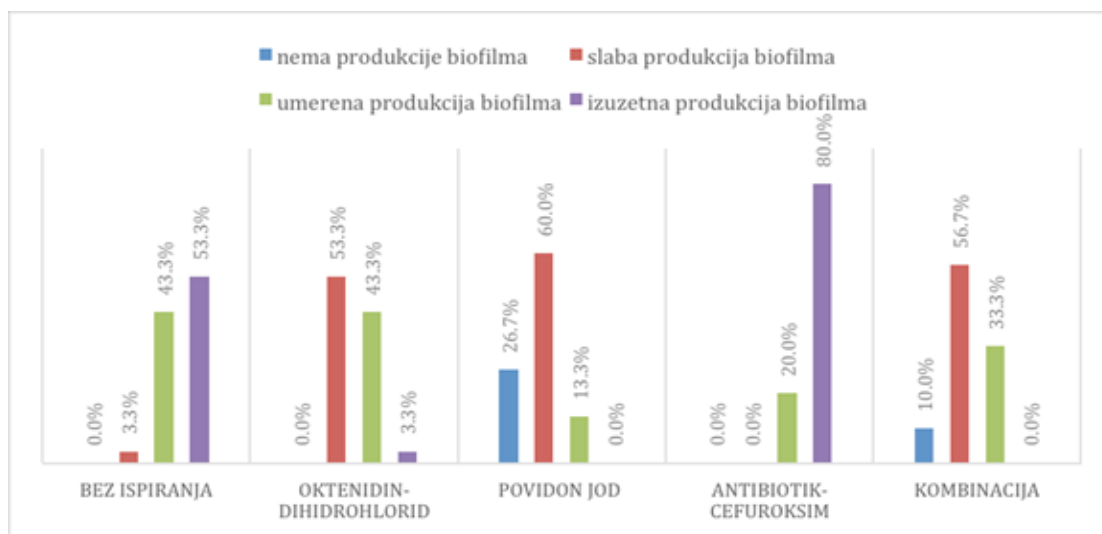
5.3.2. GRUPA 2 – silikonski implantati sa porama veličine 50-900 μm

5.3.2.1. Staphylococcus epidermidis

Hi kvadrat testom nezavisnosti pokazano je da način ispiranja ima statistički značajan uticaj na produkciju biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* na silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm ($\text{chi square}(12)=121.682$, $p=0.000$). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 24. Veličina uticaja vrste podloge na produkciju biofilma iznosi 0.274 što je prema Koenovom kriterijumu srednji uticaj. Kruskal Volis testom je takođe otkrivena statistički značajna povezanost produkcije biofilma i načina ispiranja ($\text{chi square}(4)=97.08$, $p=0.000$).

- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=127.5$, $p=0.000$).

Grafikon 24.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus epidermidis* na silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 µm po načinima ispiranja



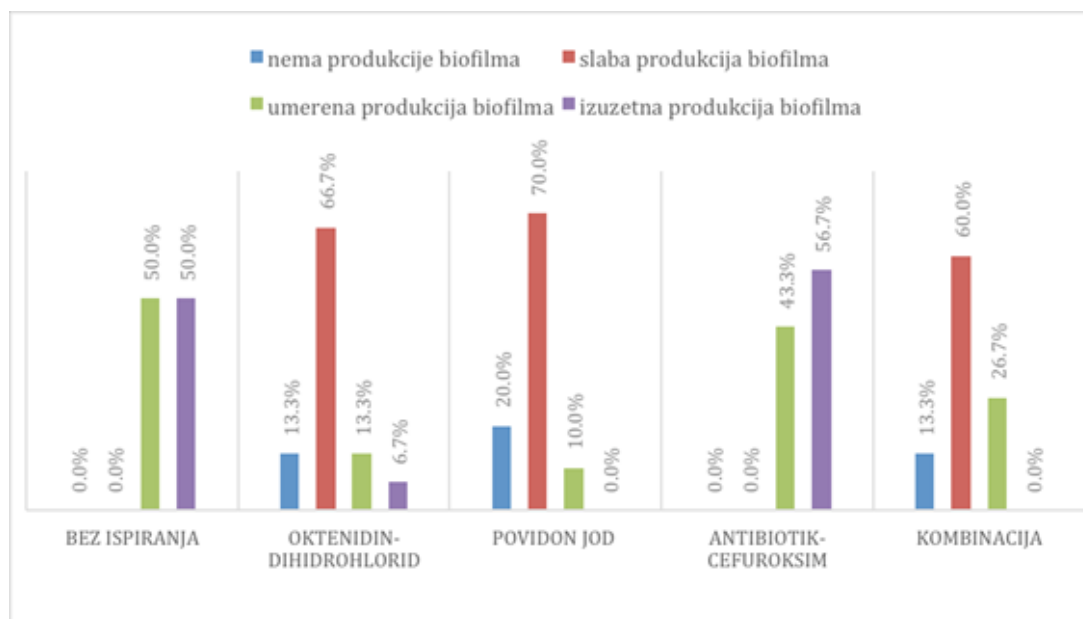
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=39, p=0.000).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja antibiotikom-cefuroksimom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=327, p=0.027).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=83.5, p=0.000).

5.3.2.2. *Staphylococcus aureus*

Hi kvadrat testom nezavisnosti pokazano je da način ispiranja ima statistički značajan uticaj na produkciju biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 µm (chi square(12)=105.354, p=0.000). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 25. Veličina uticaja vrste podloge na produkciju biofilma iznosi 0.234 što je prema Koenovom kriterijumu srednji uticaj. Kruskal Volis test je potvrdio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma i načinu ispiranja (chi square(4)=95.37, p=0.000).

- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=75, p=0.000).

Grafikon 25.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 µm po načinima ispiranja

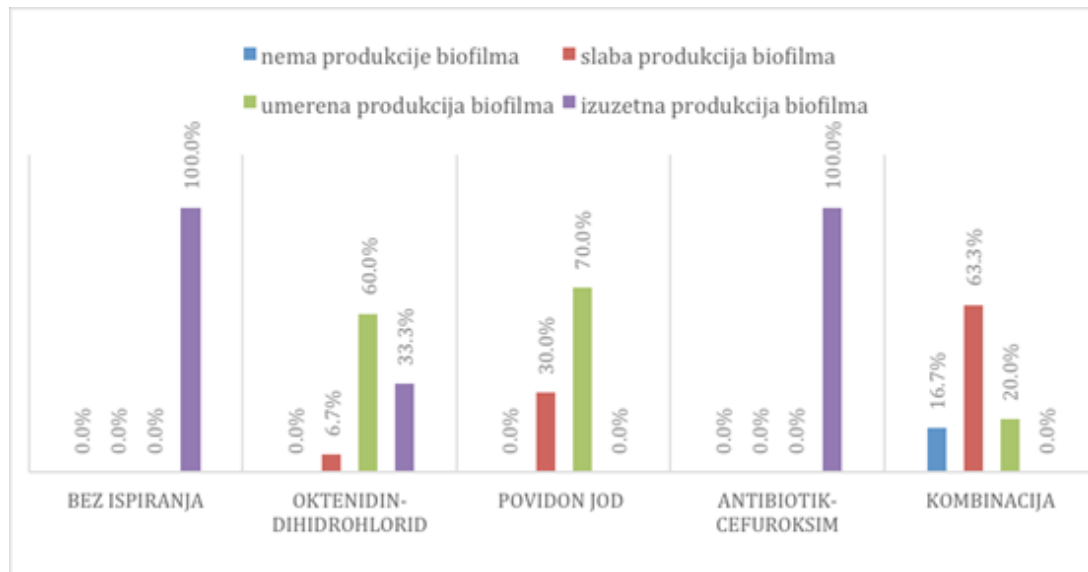


- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja povidon jodom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=22.5$, $p=0.000$).
- Ne postoji statistički značajna razlika u sposobnosti formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja antibiotikom-cefuroksimom u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=420$, $p=0.608$).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=60$, $p=0.000$).

5.3.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Hi kvadrat testom nezavisnosti pokazano je da način ispiranja ima statistički značajan uticaj na produkciju biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 µm ($\chi^2(12)=174.048$, $p=0.000$). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 26. Veličina uticaja vrste podloge na produkciju biofilma iznosi 0.386 što je prema Koenovom kriterijumu velik uticaj. Kruskal Volis test je takođe otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma i načina ispiranja ($\chi^2(4)=120.93$, $p=0.000$).

Grafikon 26.: Frekvencije produkcije biofilma *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 µm po načinima ispiranja



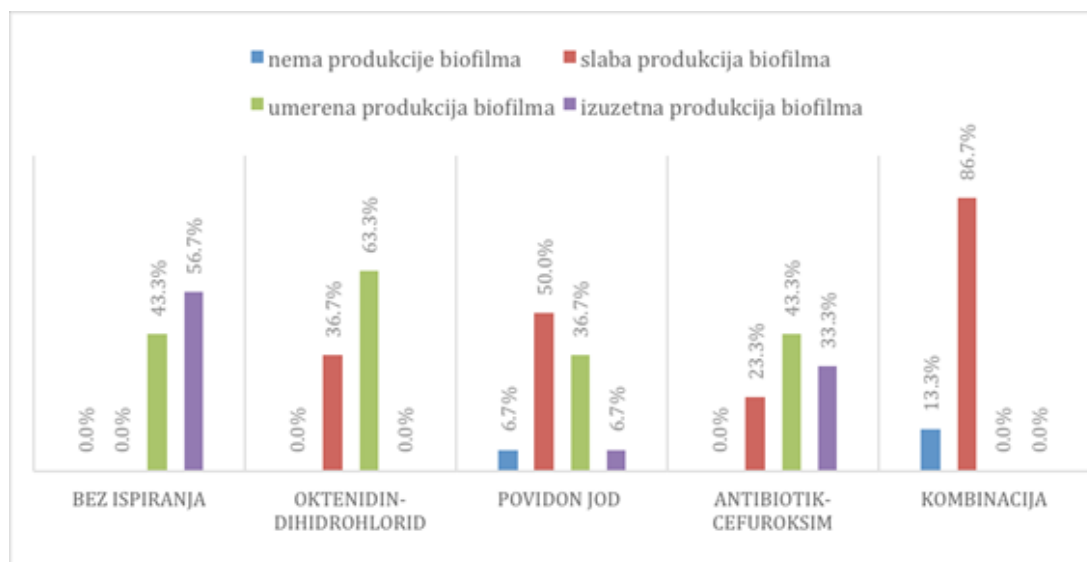
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=150$, $p=0.000$).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja povidon jodom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=0$, $p=0.000$).
- Ne postoji statistički značajna razlika u formiranju biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja antibiotikom-cefuroksimom u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=450$, $p=1$).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=0$, $p=0.000$).

5.3.2.4. *Ralstonia pickettii*

Hi kvadrat testom nezavisnosti pokazano je da način ispiranja ima statistički značajan uticaj na produkciju biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 µm ($\chi^2(12)=98.402$, $p=0.000$). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 27. Veličina uticaja vrste podloge na produkciju biofilma iznosi 0.218 što je prema Koenovom kriterijumu srednji uticaj. Kruskal Volis testom je takođe utvrđeno da postoji

statistički značajna veza između produkcije biofilma i načina ispiranja ($\chi^2(4)=76.72$, $p=0.000$).

Grafikon 27.: Frekvencije produkcije biofilma *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm po načinima ispiranja



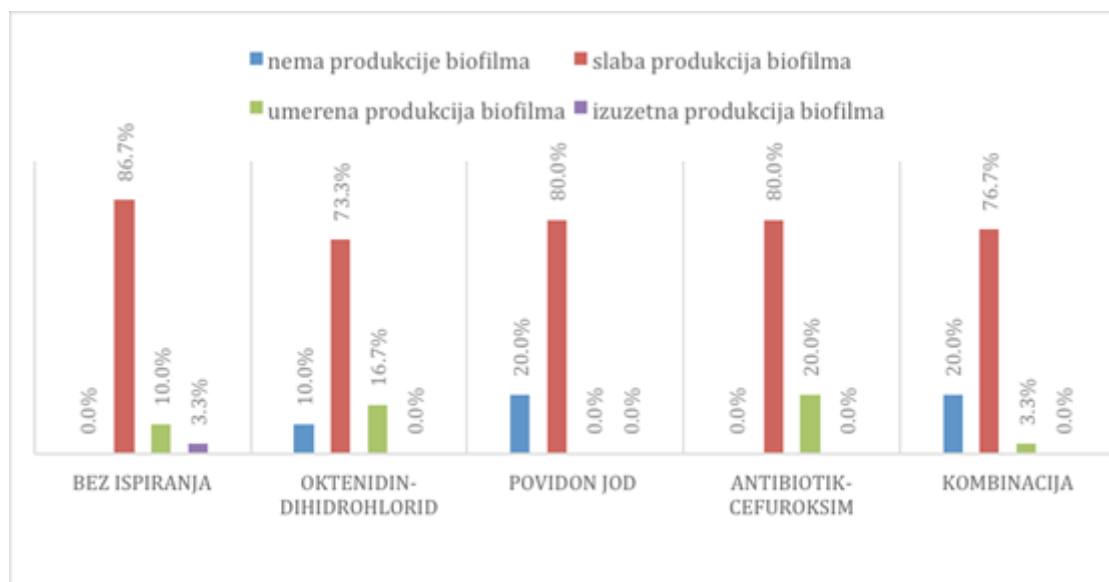
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=123$, $p=0.000$).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja povidon jodom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=114.5$, $p=0.000$).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja antibiotikom-cefuroksimom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=299.5$, $p=0.014$).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=0$, $p=0.000$).

5.3.3. GRUPA 3– silikonski implantati sa porama veličine 13 µm

5.3.3.1. *Staphylococcus epidermidis*

Hi kvadrat testom nezavisnosti pokazano je da način ispiranja ima statistički značajan uticaj na produkciju biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* kod silikonskih implantata sa porama veličine 13 µm ($\chi^2(12)=25.036$, $p=0.000$). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 28. Veličina uticaja vrste podloge na produkciju biofilma iznosi 0.05 što je prema Koenovom kriterijumu mali uticaj. Kao i u prethodnim slučajevima, potvrđena je statistički značajna veza produkcije biofilma i načina ispiranja i Kruskal Volis testom ($\chi^2(4)=18.71$, $p=0.001$).

Grafikon 28.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus epidermidis* na silikonskim implantatima sa porama veličine 13 µm po načinima ispiranja



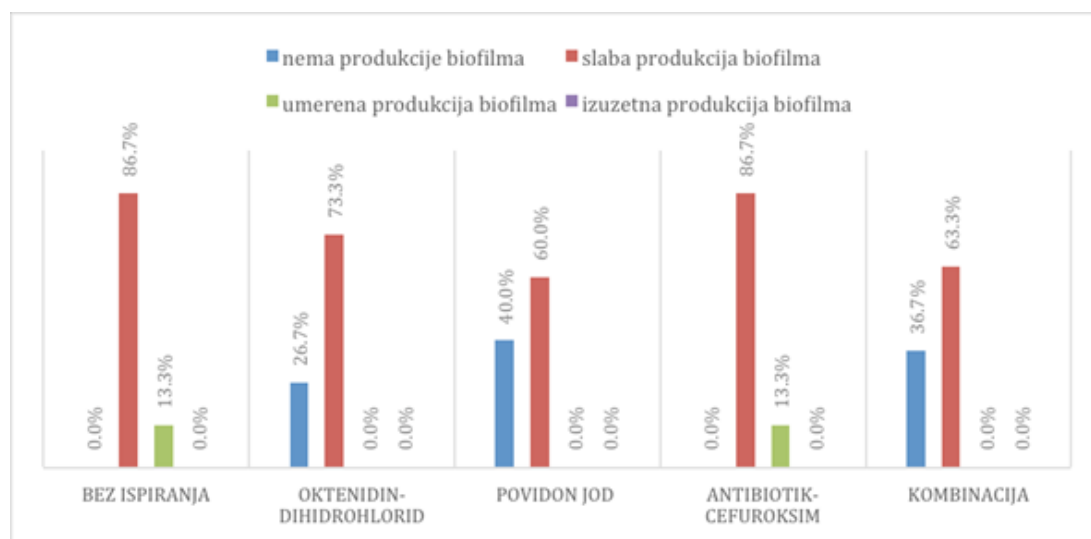
- Ne postoji statistički značajna razlika u formiranju biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=423.5$, $p=0.574$).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja povidon jodom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=312$, $p=0.002$).
- Ne postoji statistički značajna razlika u formiranju biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja antibiotikom-cefuroksimom u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=423$, $p=0.537$).

- Sposobnost formiranja bakterijskog biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=326.5$, $p=0.007$).

5.3.3.2. *Staphylococcus aureus*

Hi kvadrat testom nezavisnosti pokazano je da način ispiranja ima statistički značajan uticaj na produkciju biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm ($\text{chi square}(8)=36.623$, $p=0.000$). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 29. Veličina uticaja vrste podloge na produkciju biofilma iznosi 0.122 što je prema Koenovom kriterijumu mali uticaj. Statistički značajna povezanost produkcije biofilma i načina ispiranja potvrđena je i Kruskal Volis testom ($\text{chi square}(4)=35.47$, $p=0.000$).

Grafikon 29.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm po načinima ispiranja



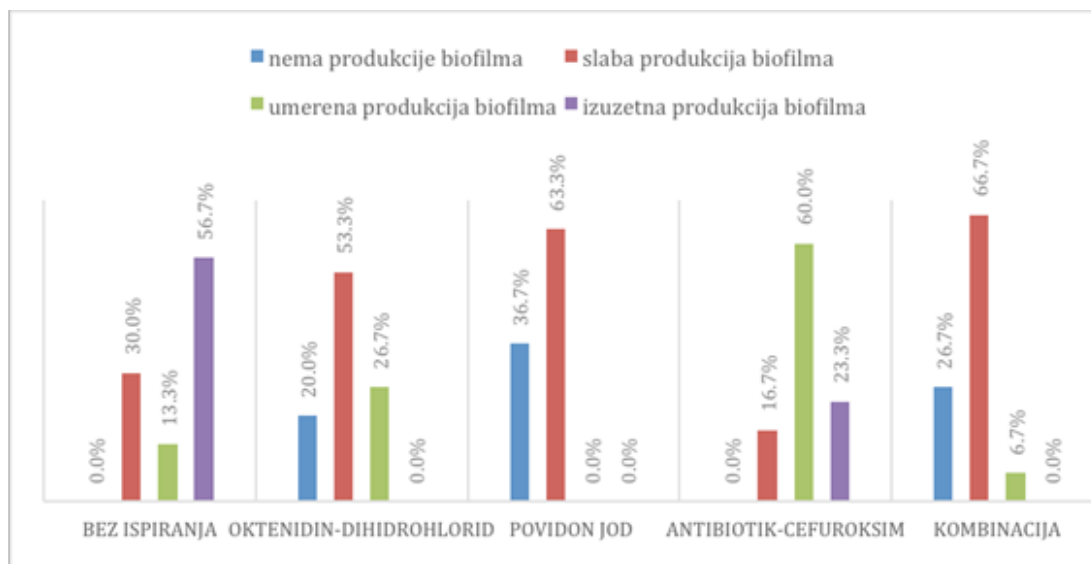
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=286$, $p=0.001$).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja povidon jodom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=234$, $p=0.000$).

- Ne postoji statistički značajna razlika u sposobnosti formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja antibiotikom-cefuroksimom u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=450$, $p=1$).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=247$, $p=0.000$).

5.3.3.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Hi kvadrat testom nezavisnosti pokazano je da način ispiranja ima statistički značajan uticaj na produkciju biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm ($\chi^2(12)=109.743$, $p=0.000$). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 30. Veličina uticaja vrste podloge na produkciju biofilma iznosi 0.243 što je prema Koenovom kriterijumu srednji uticaj. Statistički značajna povezanost produkcije biofilma i načina ispiranja utvrđena je i Kruskal Volis testom ($\chi^2(4)=75.19$, $p=0.000$).

Grafikon 30.: Frekvencije produkcije biofilma *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm po načinima ispiranja



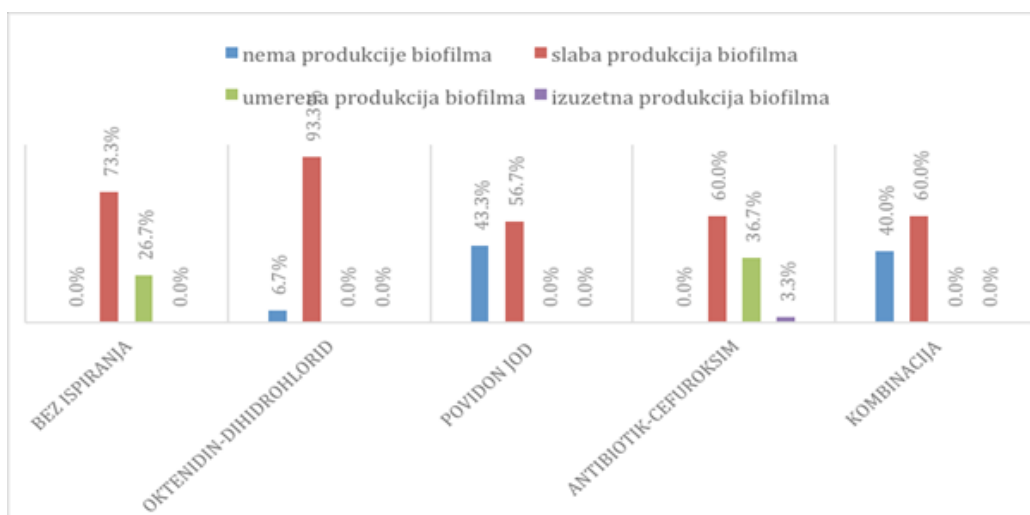
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=160$, $p=0.000$).

- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja povidon jodom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=85.5$, $p=0.000$).
- Ne postoji statistički značajna razlika u formiranju biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja antibiotikom-cefuroksimom u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=371$, $p=0.212$).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=112$, $p=0.000$).

5.3.3.4. *Ralstonia pickettii*

Hi kvadrat testom nezavisnosti pokazano je da način ispiranja ima statistički značajan uticaj na produkciju biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* kod silikonskih implantata sa porama veličine 13 μm ($\text{chi square}(12)=69.427$, $p=0.000$). Rezultati su vizualizirani na Grafikonu 31. Velčina uticaja vrste podloge na produkciju biofilma iznosi 0.154 što je prema Koenovom kriterijumu mali uticaj. Kruskal Volis test jetakođe otkrio da postoji statistički značajna veza između načina ispitivanja i produkcije biofilma ($\text{chi square}(4)=54.77$, $p=0.000$).

Grafikon 31.: Frekvencije produkcije biofilma *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm po načinima ispiranja



- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane ($U=308$, $p=0.001$).

- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja povidon jodom je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=187, p=0.000).
- Ne postoji statistički značajna razlika u formiranju biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja antibiotikom-cefuroksimom u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=386, p=0.248).
- Sposobnost formiranja biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na silikonskim implantatima za dojku nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika je statistički značajno manja u odnosu na površine koje nisu ispirane (U=198, p=0.000).

5.4. Komparacija efekata ispiranja povidon jodom i oktenidin dihidrochloridom

U cilju ispitivanja razlika u efikasnosti ispiranja silikonskih implantata povidon jodom i oktenidin-dihidrochloridom, upotrebljen je Man Vitni U test.

5.4.1. GRUPA 1 – silikonski implantati sa porama veličine 70-50 µm

Za sve četiri bakterije ispitano je da li postoji statistički značajna razlika u formiranju biofilma na implantatima koji su ispirani povidon jodom i oktenidin-dihidrochloridom.

	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Ralstonia pickettii</i>
U	330.000	405.000	288.000	229.500
p	.003	.430	.003	.000

Tabela 1.: Ispitivanje razlike u formiranju biofilma – Grupa 1

U Grupi 1, postoji statistički značajna razlika u prevenciji formiranja biofilma na implantatima koji su ispirani povidon jodom i oktenidin-dihidrochloridom kod svih bakterija sem kod *Staphylococcus aureus*-a (Tabela 1.).

5.4.2. GRUPA 2– silikonski implantati sa porama veličine 50-900 µm

Za sve četiri bakterije ispitano je da li postoji statistički značajna razlika u formiranju biofilma na implantatima koji su ispirani povidon jodom i oktenidin-dihidrohloridom.

	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Ralstonia pickettii</i>
U	234.000	384.000	240.000	368.000
p	.000	.235	.000	.174

Tabela 2.: Ispitivanje razlike u formiranju biofilma – Grupa 2

U Grupi 2, postoji statistički značajna razlika u prevenciji formiranja biofilma na implantatima koji su ispirani povidon jodom i oktenidin-dihidrohloridom kod svih bakterija sem kod *Staphylococcus aureus* i *Ralstonia pickettii* (Tabela 2.).

5.4.3. GRUPA 3– silikonski implantati sa porama veličine 13 µm

Za sve četiri bakterije ispitano je da li postoji statistički značajna razlika u formiranju biofilma na implantatima koji su ispirani povidon jodom i oktenidin-dihidrohloridom.

	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Ralstonia pickettii</i>
U	345.000	390.000	299.000	285.000
p	.036	.277	.011	.001

Tabela 3.: Ispitivanje razlike u formiranju biofilma – Grupa 3

Postoji statistički značajna razlika u prevenciji formiranja biofilma na implantatima koji su ispirani povidon jodom i oktenidin-dihidrohloridom kod svih bakterija sem kod *Staphylococcus aureus* (Tabela 3.).

5.5. Komparacija efekata različitih ispiranja na formiranje biofilma svake bakterije

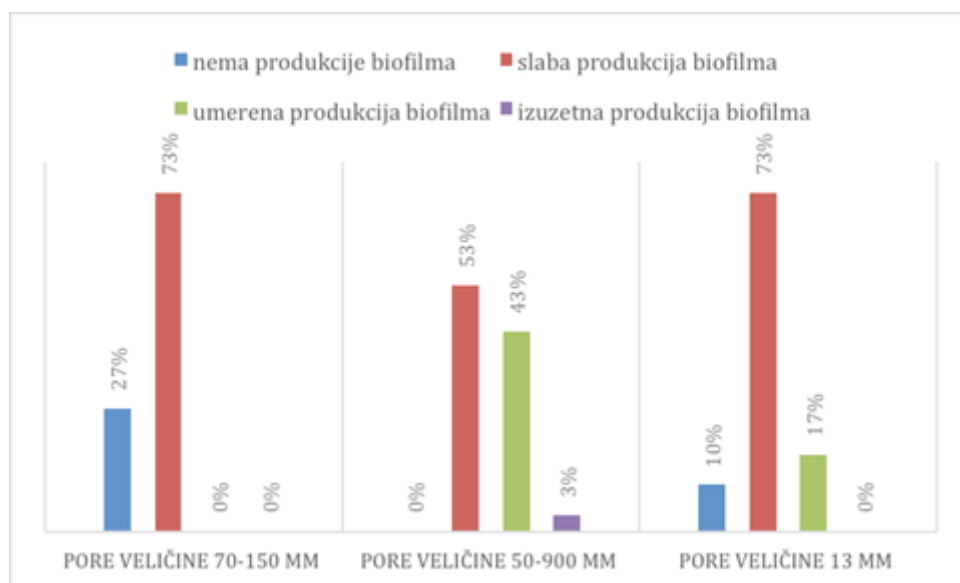
Dalje su komparirani efekti različitih vrsta ispiranja u odnosu na teksturu implantata za svaku bakteriju da bi se ustanovilo najefikasnije sredstvo za ispiranje za određenu teksturu implantata.

5.5.1. Ispiranje Oktenidin-dihidrohloridom

5.5.1.1. *Staphylococcus epidermidis*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* i teksture implantata nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom ($\chi^2(4)=26.442$, $p=0.000$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 32. Rezultat je potvrđen i Kruskal Volis testom koji je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* tri različite teksture implantata ($\chi^2(2)=24.90$, $p=0.000$). Man Vitnijev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja oktenidin-dihidrhloridom.

Grafikon 32.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus epidermidis* nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom u zavisnosti od teksture silikonskih implantata

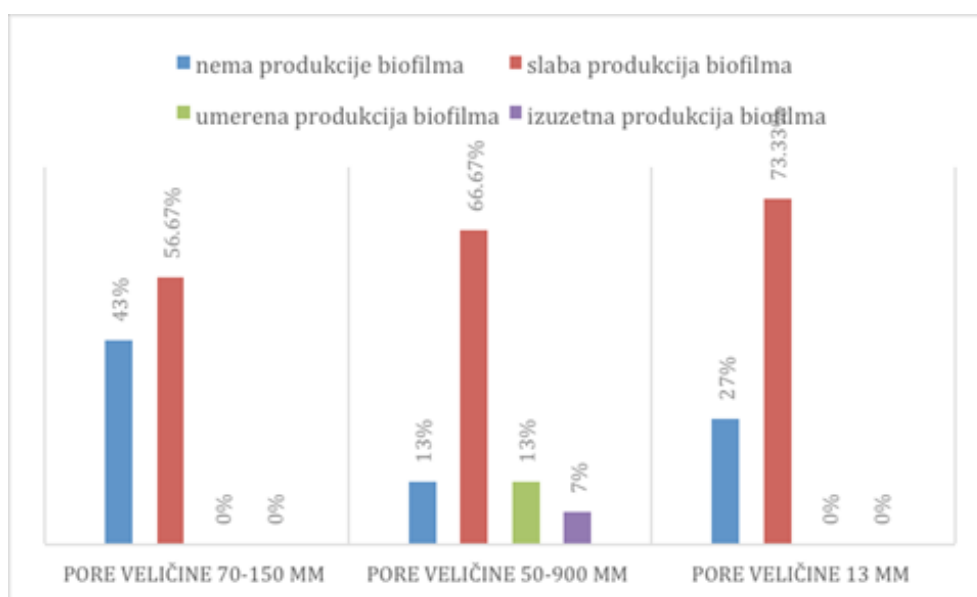


- Biofilm bakterije *Staphylococcus epidermidis* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=785$, $p=0.013$).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus epidermidis* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=1076.5$, $p=0.005$).
- Biofilm bakterije *Ralstonia picketti* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=641$, $p=0.000$).

5.5.1.2. *Staphylococcus aureus*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* i vrste implantata nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom ($\chi^2(6)=17.524$, $p=0.007$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 33. Rezultat je potvrđen i Kruskal Volis testom koji je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* tri različite vrste implantata ($\chi^2(2)=11.78$, $p=0.003$). Man Vitnijev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja oktenidin-dihidrhloridom.

Grafikon 33.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus aureus* nakon ispiranja oktenidin-dihidrohloridom u zavisnosti od teksture silikonskih implantata

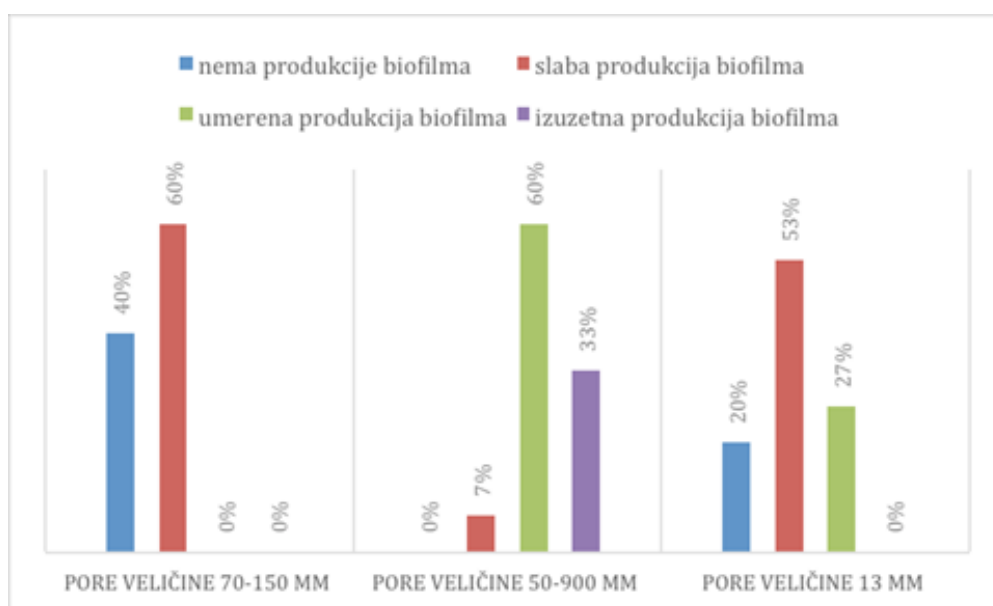


- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70–150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=840$, $p=0.183$).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus aureus* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=1041$, $p=0.021$).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus aureus* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=729$, $p=0.001$).

5.5.1.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* i teksture implantata nakon ispiranja oktenidin-dihidrokloridom ($\chi^2(6)=63.436$, $p=0.000$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 34. Rezultat je potvrđen i Kruskal Volis testom koji je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* tri različite vrste implantata ($\chi^2(2)=53.67$, $p=0.000$). Man Vitnijev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja oktenidin-dihidrokloridom.

Grafikon 34.: Frekvencije produkcije biofilma *Pseudomonas aeruginosa* nakon ispiranja oktenidin-dihidrokloridom u zavisnosti od teksture silikonskih implantata

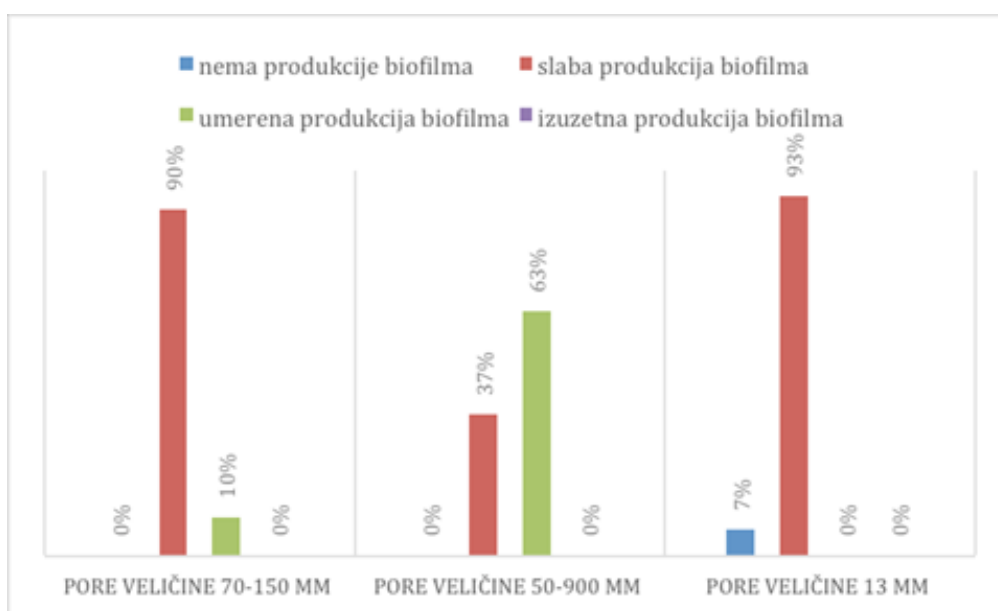


- Biofilm bakterije *Pseudomonas aeruginosa* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70–150 μm ($U=753$, $p=0.007$).
- Biofilm bakterije *Pseudomonas aeruginosa* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=569$, $p=0.000$).
- Biofilm bakterije *Pseudomonas aeruginosa* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=483$, $p=0.000$).

5.5.1.4. *Ralstonia pickettii*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* i teksture implantata nakon ispiranja oktenidin-dihloridom ($\chi^2(6)=33.022$, $p=0.000$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 35. Rezultat je potvrđen i Kruskal Volis testom koji je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* tri različite vrste implantata ($\chi^2(2)=37.26$, $p=0.000$). Man Vitnijev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja oktenidin-dihloridom.

Grafikon 35.: Frekvencije produkcije biofilma *Ralstonia pickettii* nakon ispiranja oktenidin-dihloridom u zavisnosti od teksture silikonskih implantata



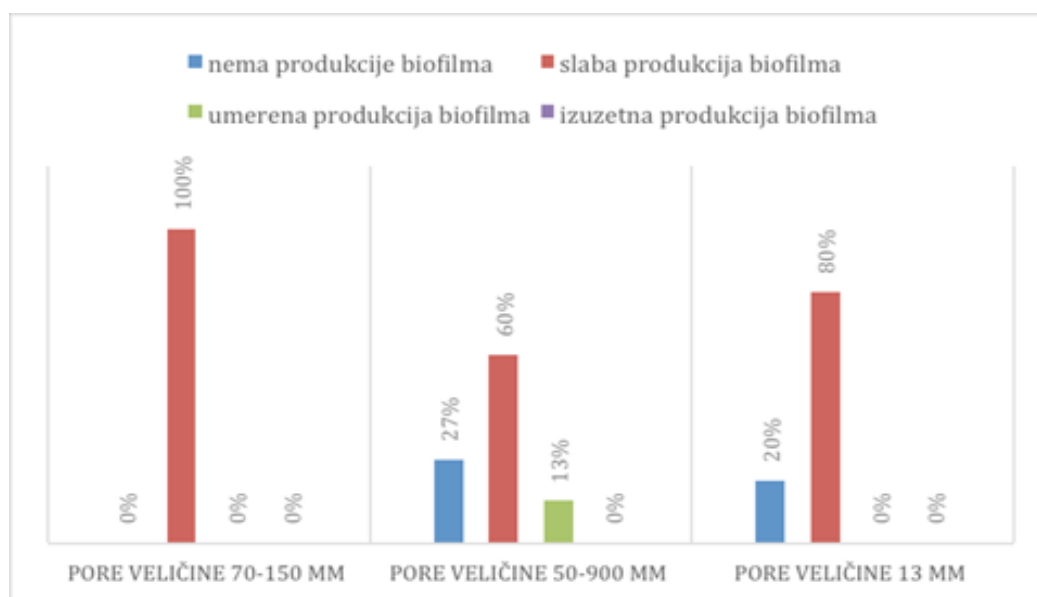
- Biofilm bakterije *Ralstonia pickettii* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70–150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=987$, $p=0.027$).
- Biofilm bakterije *Ralstonia pickettii* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=1211$, $p=0.000$).
- Biofilm bakterije *Ralstonia pickettii* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=675$, $p=0.000$).

5.5.2. Ispiranje Povidon jodom

5.5.2.1. *Staphylococcus epidermidis*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* i vrste implantata nakon ispiranja povidon jodom ($\text{chi square}(4)=18.429$, $p=0.001$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 36. Međutim, Kruskal Volis test nije otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* tri različito teksturisana implantata ($\text{chi square}(2)=3.62$, $p=0.163$). Man Vitnijev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja povidon jodom.

Grafikon 36.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus epidermidis* nakon ispiranja povidon jodom u zavisnosti od teksture silikonskih implantata

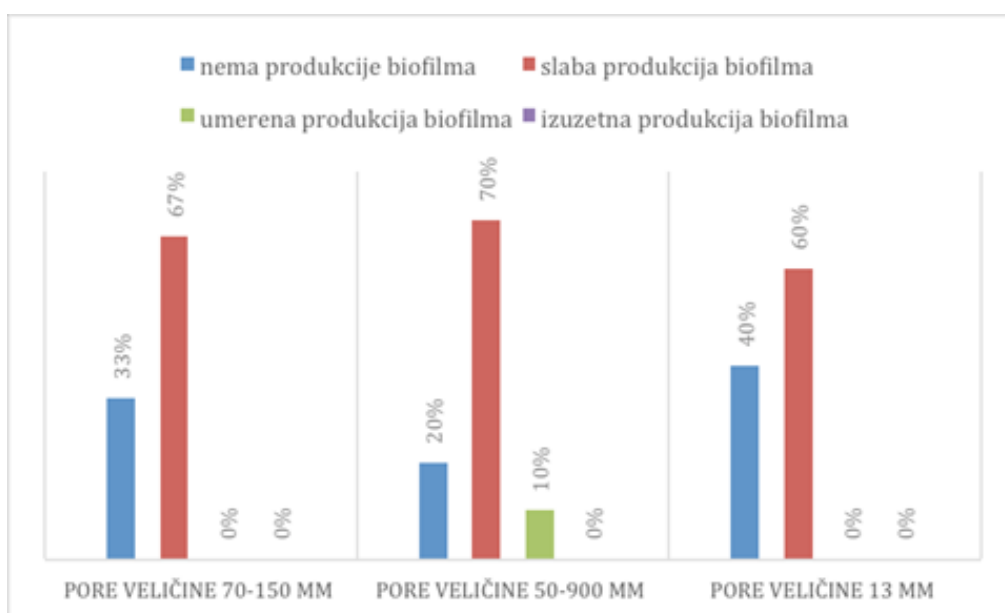


- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm (U=933, p=0.747).
- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70–150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm (U=935, p=0.749).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus epidermidis* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70–150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm (U=988, p=0.027).

5.5.2.2. *Staphylococcus aureus*

Hi kvadrat test nezavisnosti nije pokazano postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* i teksture implantata nakon ispiranja povidon jodom (chi square(4)=8.941, p=0.083). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 37. Kruskal Volis test takođe nije otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* tri različite vrste implantata (chi square(2)=4.83 p=0.089). Man Vitnijev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja povidon jodom.

Grafikon 37.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus aureus* nakon ispiranja povidon jodom u zavisnosti od teksture silikonskih implantata

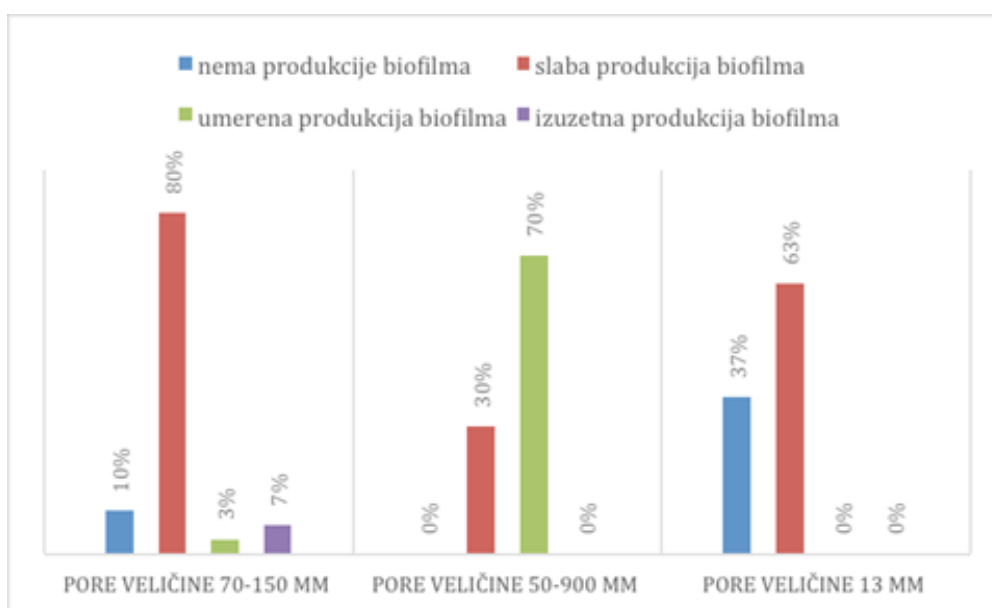


- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70–150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=945$, $p=0.601$).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus aureus* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=1032$, $p=0.039$).
- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70–150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 50-900 μm ($U=825$, $p=0.104$).

5.5.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* i teksture implantata nakon ispiranja povidon jodom ($\text{chi square}(6)=68.861$, $p=0.000$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 38. Rezultat je potvrđen i Kruskal Volis testom koji je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* tri različite vrste implantata ($\text{chi square}(2)=41.44$ $p=0.000$). Man Vitnjev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja povidon jodom.

Grafikon 38.: Frekvencije produkcije biofilma *Pseudomonas aeruginosa* nakon ispiranja povidon jodom u zavisnosti od teksture silikonskih implantata

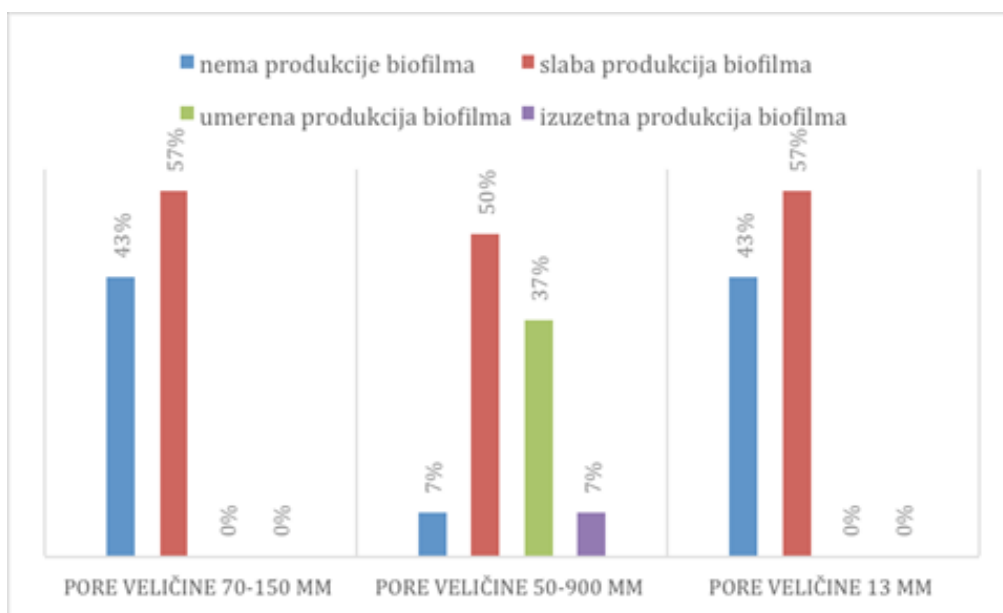


- Biofilm bakterije *Pseudomonas aeruginosa* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70–150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=766.5$, $p=0.005$).
- Biofilm bakterije *Pseudomonas aeruginosa* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=1279.5$, $p=0.000$).
- Biofilm bakterije *Pseudomonas aeruginosa* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=1177.5$, $p=0.000$).

5.5.2.4. *Ralstonia pickettii*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* i vrste implantata nakon ispiranja povidon jodom (chi square(6)=34.806, $p=0.000$). Međutim, rezultati su predstavljeni na Grafikonu 39. Kruskal Volis test je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* tri različite vrste implantata (chi square(2)=27.24, $p=0.000$). Man Vitnjev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja povidon jodom.

Grafikon 39.: Frekvencije produkcije biofilma *Ralstonia pickettii* nakon ispiranja povidon jodom u zavisnosti od teksture silikonskih implantata



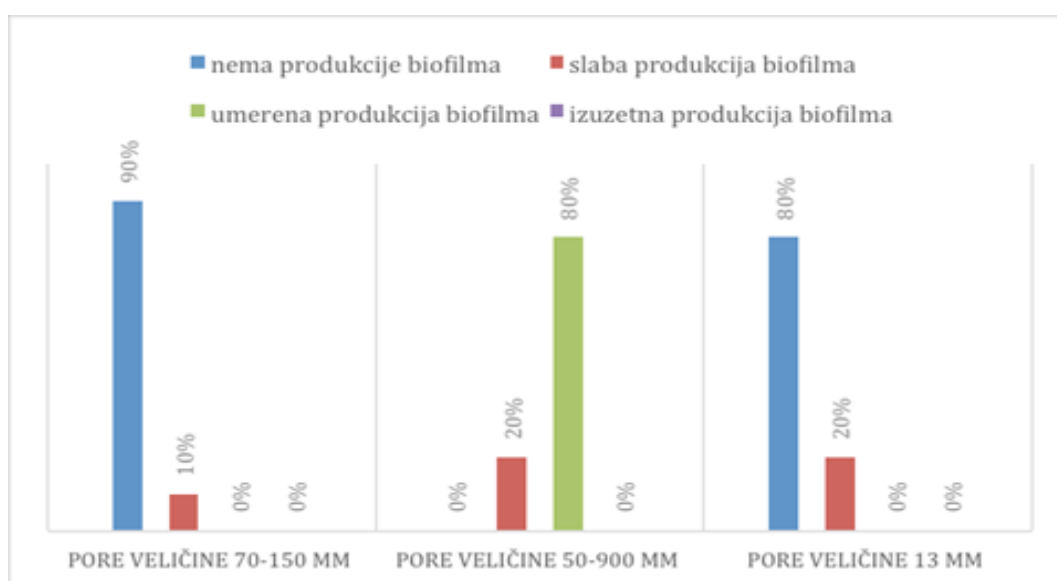
- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70–150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=915$, $p=1$).
- Biofilm bakterije *Ralstonia pickettii* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=1190.5$, $p=0.000$).
- Biofilm bakterije *Ralstonia pickettii* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=639.5$, $p=0.000$).

5.5.3. Ispiranje antibiotikom-cefuroksimom

5.5.3.1. *Staphylococcus epidermidis*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* i teksture implantata nakon ispiranja antibiotikom ($\text{chi square}(4)=74.965$, $p=0.000$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 40. Rezultat je potvrđen i Kruskal Volis testom koji je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* tri različite vrste implantata ($\text{chi square}(2)=70.57$, $p=0.000$). Man Vitnijev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja antibiotikom.

Grafikon 40.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus epidermidis* nakon ispiranja antibiotikom u zavisnosti od teksture silikonskih implantata

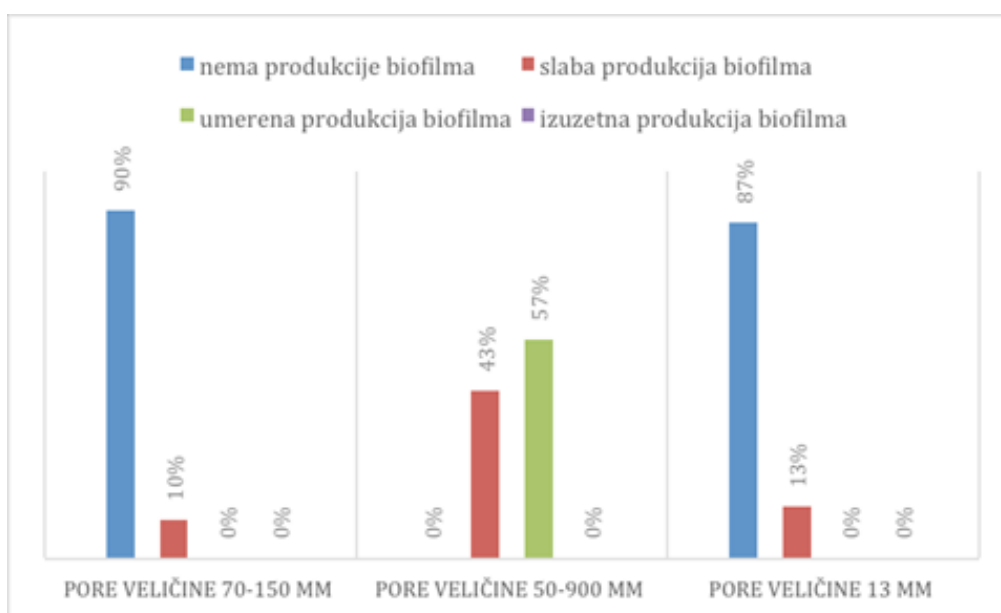


- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=870$, $p=0.287$).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus epidermidis* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=1347$, $p=0.000$).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus epidermidis* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=1356$, $p=0.000$).

5.5.3.2. *Staphylococcus aureus*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* i teksture implantata nakon ispiranja antibiotikom ($\chi^2(4)=69.628$, $p=0.000$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 41. Rezultat je potvrđen i Kruskal Volis testom koji je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na različito teksturisanim implantatima ($\chi^2(2)=68.78$, $p=0.000$). Man Vitnjev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja antibiotikom.

Grafikon 41.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus aureus* nakon ispiranja antibiotikom u zavisnosti od teksture silikonskih implantata

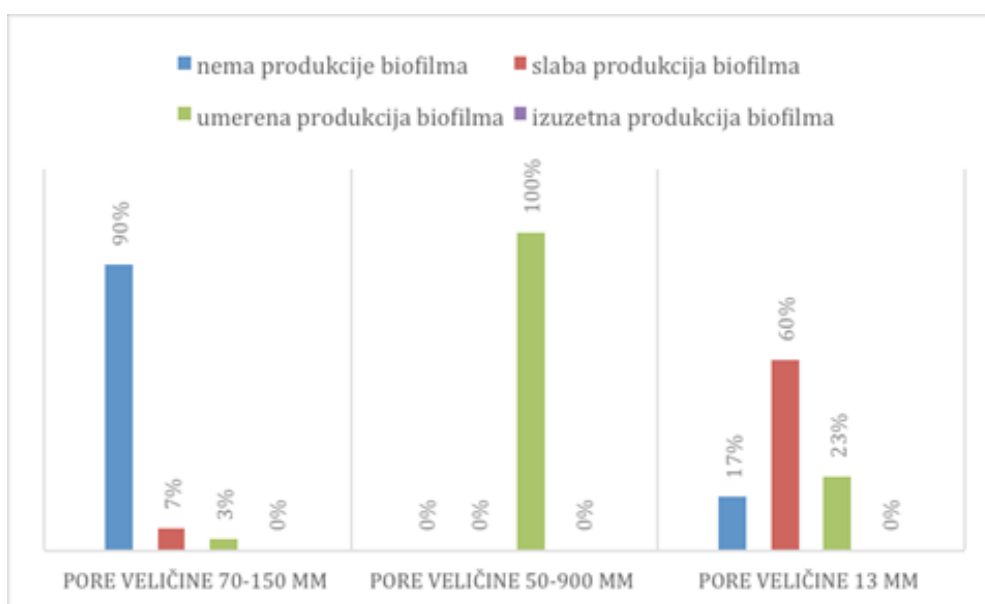


- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70–150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=930$, $p=0.700$).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus aureus* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=491$, $p=0.000$).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus aureus* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=1345.5$, $p=0.000$).

5.5.3.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* i teksture implantata nakon ispiranja antibiotikom ($\text{chi square}(4)=104.888$, $p=0.000$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 42. Rezultat je potvrđen i Kruskal Volis testom koji je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na trima različito teksturisanim implantatima ($\text{chi square}(2)=69.94$, $p=0.000$). Man Vitnijev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja antibiotikom.

Grafikon 42.: Frekvencije produkcije biofilma *Pseudomonas aeruginosa* nakon ispiranja antibiotikom u zavisnosti od teksture silikonskih implantata

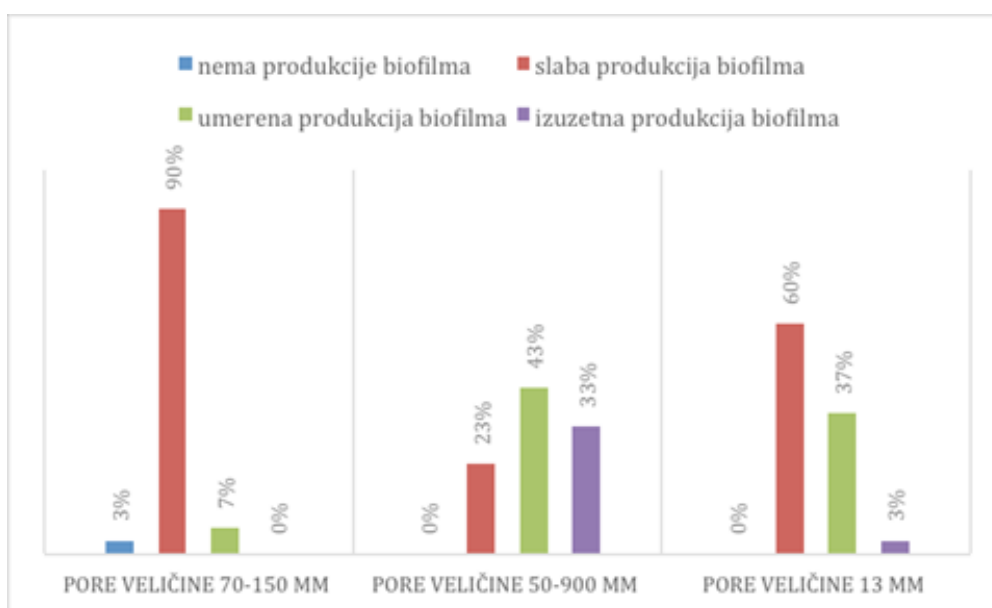


- Biofilm bakterije *Pseudomonas aeruginosa* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70–150 μm ($U=574$, $p=0.000$).
- Biofilm bakterije *Pseudomonas aeruginosa* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70–150 μm ($U=562$, $p=0.000$).
- Biofilm bakterije *Pseudomonas aeruginosa* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=569$, $p=0.000$).

5.5.3.4. *Ralstonia pickettii*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* i vrste implantata nakon ispiranja antibiotikom (chi square(6)=38.045, $p=0.000$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 43. Rezultat je potvrđen i Kruskal Volis testom koji je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na različito teksturisanim implantatima (chi square(2)=33.64, $p=0.000$). Man Vitnijev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja antibiotikom.

Grafikon 43.: Frekvencije produkcije biofilma *Ralstonia pickettii* nakon ispiranja antibiotikom u zavisnosti od teksture silikonskih implantata



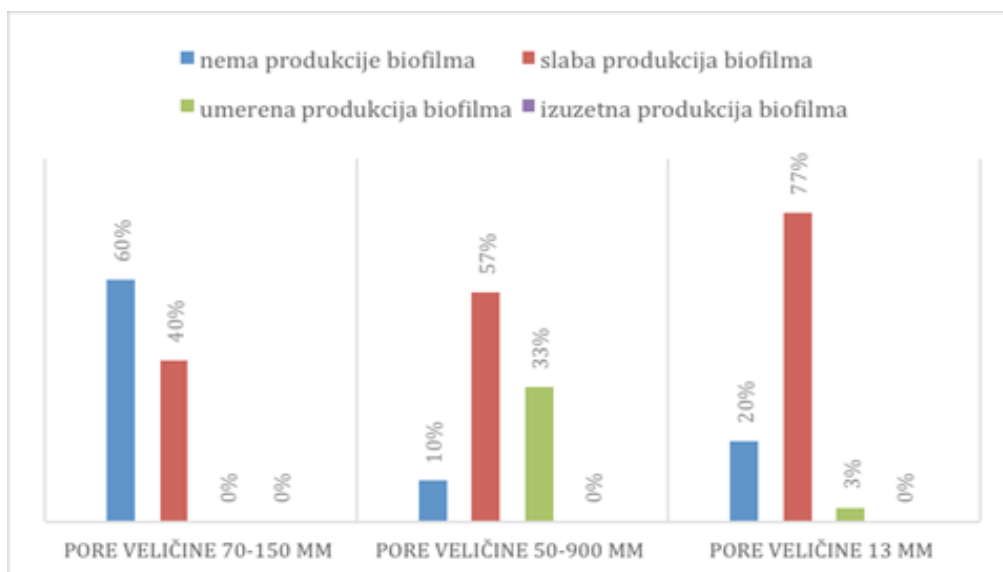
- Biofilm bakterije *Ralstonia pickettii* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70–150 μm ($U=755$, $p=0.002$).
- Biofilm bakterije *Ralstonia pickettii* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=1128.5$, $p=0.001$).
- Biofilm bakterije *Ralstonia pickettii* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=586$, $p=0.000$).

5.5.4. Ispiranje kombinacijom povidon joda i dva antibiotika

5.5.4.1. *Staphylococcus epidermidis*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* i vrste implantata nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika ($\chi^2(4)=28.405$, $p=0.000$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 44. Rezultat je potvrđen i Kruskal Volis testom koji je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus epidermidis* na različito teksturisanim implantatima ($\chi^2(2)=21.45$, $p=0.000$). Man Vitnjev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika.

Grafikon 44.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus epidermidis* nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika u zavisnosti od teksture silikonskih implantata

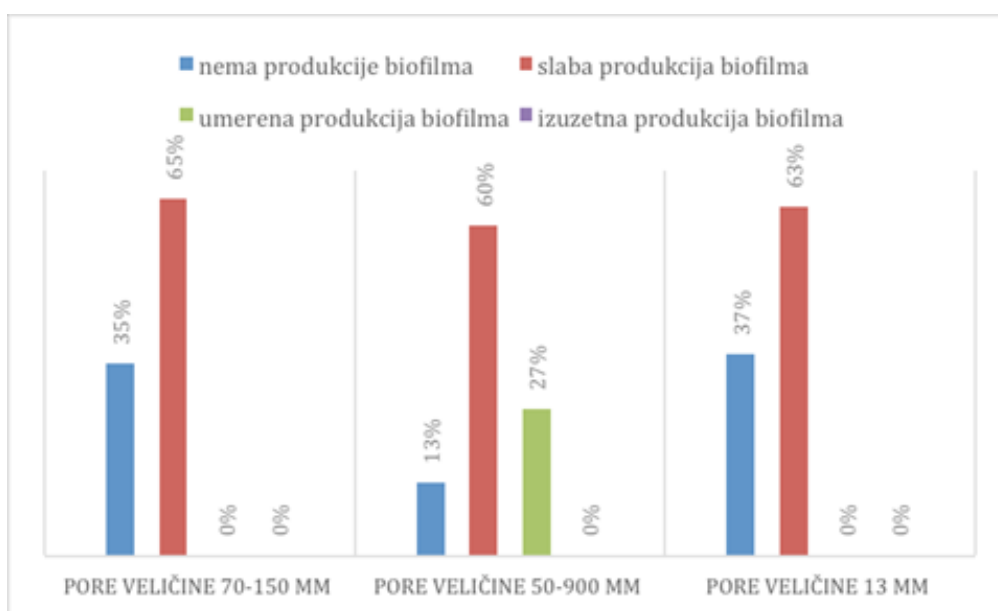


- Biofilm bakterije *Staphylococcus epidermidis* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 13 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=386$, $p=0.004$).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus epidermidis* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=1066.5$, $p=0.007$).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus epidermidis* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=320$, $p=0.000$).

5.5.4.2. *Staphylococcus aureus*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* i teksture implantata nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika ($\chi^2(4)=16.902$, $p=0.001$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 45. Rezultat je potvrđen i Kruskal Volis testom koji je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na tri različito teksturisana implantata ($\chi^2(2)=11.96$, $p=0.003$). Man Vitnijev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika.

Grafikon 45.: Frekvencije produkcije biofilma *Staphylococcus aureus* nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika u zavisnosti od teksture silikonskih implantata

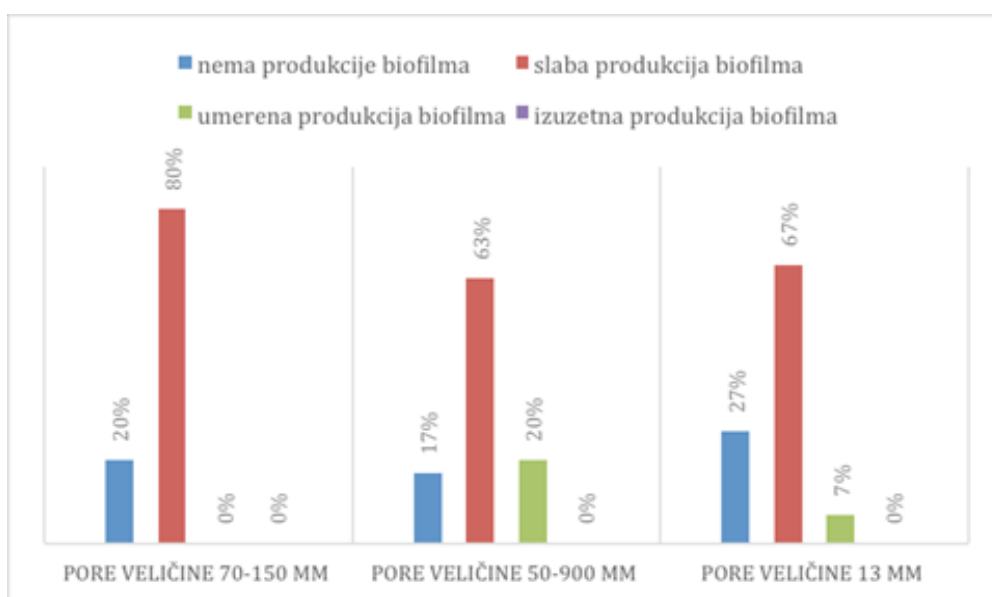


- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Staphylococcus aureus* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70–150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=515$, $p=0.915$).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus aureus* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=1096$, $p=0.008$).
- Biofilm bakterije *Staphylococcus aureus* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=393$, $p=0.008$).

5.5.4.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Hi kvadrat test nezavisnosti nije otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* i vrste implantata nakon ispiranja kombinacijom ($\text{chi square}(4)=6.574$, $p=0.160$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 46. Kruskal Volis test nije otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* tri različite vrste implantata ($\text{chi square}(2)=3.08$, $p=0.214$). Man Vitnijev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika.

Grafikon 46.: Frekvencije produkcije biofilma *Pseudomonas aeruginosa* nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika u zavisnosti od teksture silikonskih implantata

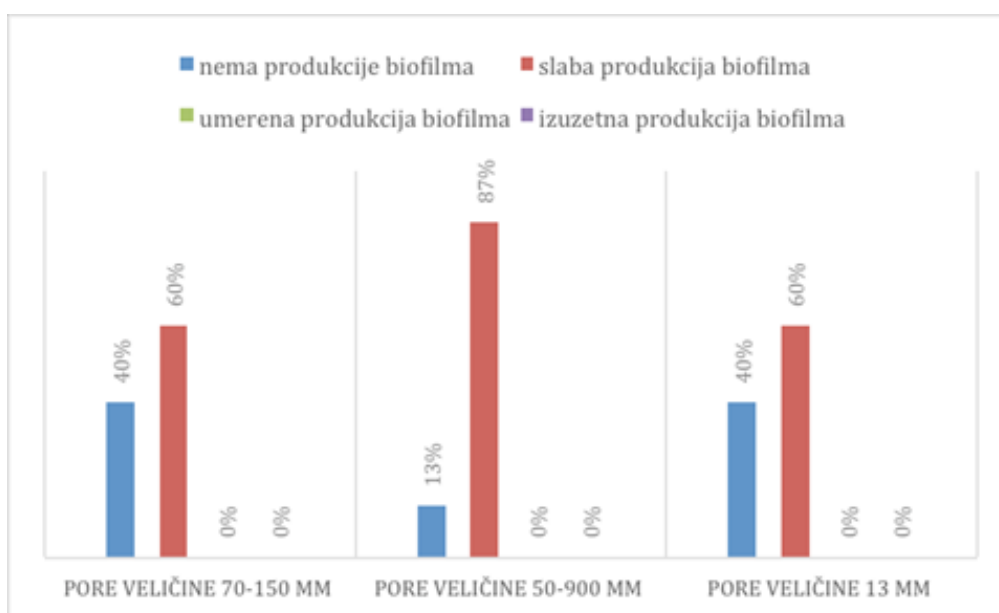


- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70–150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=1001$, $p=0.134$).
- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50-900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=514$, $p=0.929$).
- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70-150 μm ($U=823$, $p=0.158$).

5.5.4.4. *Ralstonia pickettii*

Hi kvadrat test nezavisnosti je otkrio postojanje statistički značajne veze između produkcije biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* i teksture implantata nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika ($\chi^2(2)=6.349$, $p=0.042$). Rezultati su predstavljeni na Grafikonu 47. Rezultat je potvrđen i Kruskal Volis testom koji je otkrio statistički značajnu vezu u produkciji biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na tri različite vrste implantata ($\chi^2(2)=6.27$, $p=0.044$). Man Vitnijev U test je dao sledeće rezultate u međusobnim poređenjima nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika.

Grafikon 47.: Frekvencije produkcije biofilma *Ralstonia pickettii* nakon ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika u zavisnosti od teksture silikonskih implantata



- Ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma bakterije *Ralstonia pickettii* na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 70–150 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=510$, $p=1$).
- Biofilm bakterije *Ralstonia pickettii* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 13 μm ($U=1035$, $p=0.021$).
- Biofilm bakterije *Ralstonia pickettii* se statistički više stvara na teksturisanim silikonskim implantatima sa porama veličine 50–900 μm u odnosu na silikonske implantate sa porama veličine 70–150 μm ($U=845$, $p=0.033$).

5.6. Najbolji način ispiranja po vrstama implantata

Za svaku grupu implantata, svako ispiranje i svaku bakteriju, kategorije produkcije biofilma su kodirane na sledeći način. Ukoliko nema produkcije biofilma, dodeljena je vrednost 0, ako postoji slaba produkcija biofilma, dodeljena je vrednost 1. Umerenoj produkciji biofilma, dodeljena je vrednost 2, dok je izuzetnoj dodeljena vrednost 3. Potom su se za svaku grupu implantata, izračunate srednje vrednosti sve četiri bakterije. Na taj način za svaku grupu implantata i svaki način ispiranja, dobijena je nova varijabla koja predstavlja prosečnu produkciju biofilma. Da bi se utvrdio najbolji način ispiranja po vrstama implantata, poređene su medijane novih varijabli koje predstavljaju agregatno stanje po grupama. Niža vrednost medijane ukazuje na efikasniju sposobnost u prevenciji bakterijskog biofilma. Man Vitni U test je sproveden.

5.6.1. GRUPA 1 - silikonski implantati sa porama veličine 70-150 μm

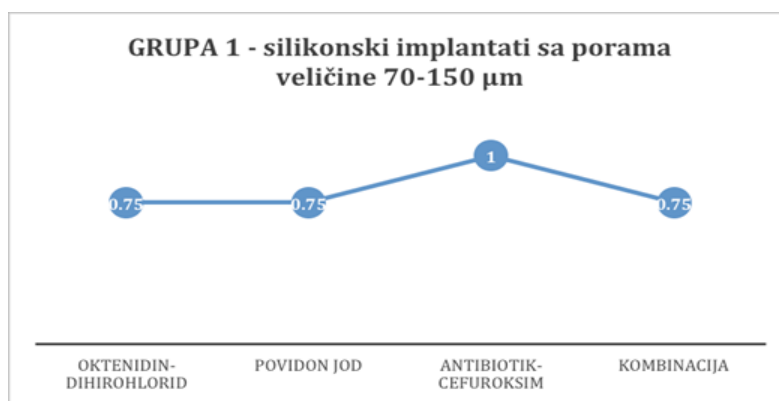
Kada su u pitanju silikonski implantati sa porama veličine 70–150 μm , pokazano je da su oktenidin-dihidroklorid, povidon jod kao i kombinacija povidon joda i dva antibiotika podjednako efikasni u prevenciji biofilma i da su svi ovi načini statistički značajno efikasniji od ispiranja antibiotikom cefuroksimom.

Medijane i srednja vrednost novih test agregatnih varijabli date su u Tabeli 4 i Grafikonu 48. Rezultati testiranja dati su u Tabeli 5.

Ispiranje	Srednja vrednost	Medijana
Oktenidin-dihidrohlorid	0.75	0.75
Povidon jod	0.83	0.75
Antibiotik-cefuroksim	1.09	1.00
Kombinacija povidon joda i dva antibiotika	0.61	0.75

Tabela 4.: Medijane i srednja vrednost novih test agregatnih varijabli za grupu 1

Grafikon 48.: Medijane novih test agregatnih varijabli za grupu 1



Poređenja G1	U	p
Oktenidin-dihidrohlorid i povidon jod	365.500	.188
Oktenidin-dihidrohlorid i antibiotik-cefuroksim	118.000	.000
Oktenidin-dihidrohlorid i kombinacija	210.000	.059
Povidon jod i antibiotik-cefuroksim	175.500	.000
Povidon jod i kombinacija	155.500	.003
Antibiotik-cefuroksim i kombinacija	16.000	.000

Tabela 5.: Testiranja za grupu 1

5.6.2. GRUPA 2 - silikonski implantati sa porama veličine 50-900 μm

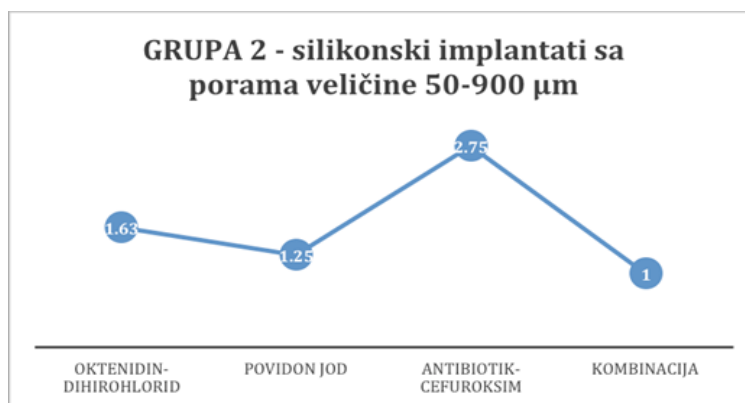
Kada su u pitanju silikonski implantati sa porama veličine 50-900 μm, pokazano je da su povidon jod i kombinacija povidon joda i dva antibiotika podjednako efikasni u prevenciji biofilma i da su svi ovi načini statistički značajno efikasniji od ispiranja antibiotikom cefuroksimom i oktenidin-dihidrohloridom. Takođe je pokazano da je oktenidin-dihidrohlorid statistički značajno efikasniji od antibiotika cefuroksima.

Medijane i srednja vrednost novih test agregatnih varijabli date su u Tabeli 6 i Grafiku 49. Rezultati testiranja dati su u Tabeli 7.

Ispiranje	Srednja vrednost	Medijana
Oktenidin-dihidrohlorid	1.63	1.63
Povidon jod	1.23	1.25
Antibiotik-cefuroksim	2.62	2.75
Kombinacija	1.07	1.00

Tabela 6.: Medijane i srednja vrednost novih test agregatnih varijabli za grupu 2

Grafikon 49.: Medijane novih test agregatnih varijabli za grupu 2



Poređenja G2	U	p
Oktenidin-dihlorid i povidon jod	226.500	.001
Oktenidin-dihlorid i antibiotik-cefuroksim	14.500	.000
Oktenidin-dihlorid i kombinacija	130.000	.000
Povidon jod i antibiotik-cefuroksim	0.000	.000
Povidon jod i kombinacija	350.000	.133
Antibiotik-cefuroksim i kombinacija	0.000	.000

Tabela 7.: Testiranja za grupu 2

5.6.3. GRUPA 3 - silikonski implantati sa porama veličine 13 µm

Kada su u pitanju silikonski implantati sa porama veličine 13 µm, opet je pokazano je da su povidon jod i kombinacija povidon joda i dva antibiotika podjednako efikasni u prevenciji biofilma, Takođe, svi ovi načini statistički značajno efikasniji od ispiranja antibiotikom

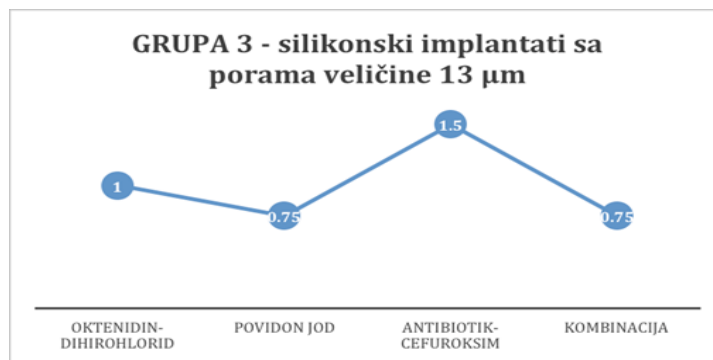
cefuroksimom i oktenidin-dihloridom dok je oktenidin-dihlorid statistički značajno efikasniji od antibiotika cefuroksima.

Medijane i srednja vrednost novih test agregatnih varijabli date su u Tabeli 8 i Grafiku 50. Rezultati testiranja dati su u Tabeli 9.

Ispiranje	Srednja vrednost	Medijana
Oktenidin-dihlorid	0.95	1.00
Povidon jod	0.65	0.75
Antibiotik-cefuroksim	1.46	1.50
Kombinacija	0.72	0.75

Tabela 8.: Medijane i srednja vrednost novih test agregatnih varijabli za grupu 3

Grafikon 50.: Medijane novih test agregatnih varijabli za grupu 3



Poređenja G3	U	p
Oktenidin-dihlorid i povidon jod	174.500	.000
Oktenidin-dihlorid i antibiotik-cefuroksim	53.500	.000
Oktenidin-dihlorid i kombinacija	247.000	.002
Povidon jod i antibiotik-cefuroksim	0.000	.000
Povidon jod i kombinacija	371.500	.225
Antibiotik-cefuroksim i kombinacija	0.000	.000

Tabela 9.: Testiranja za grupu 3

6. DISKUSIJA

Ugradnja silikonskih proteza za dojke spada u jednu od najčešće izvođenih procedura u plastičnoj i rekonstruktivnoj hirurgiji. Iako je praćena visokim stepenom zadovoljstva, moguće su i komplikacije nakon ovih operacija. Najčešća komplikacija je KK, dok je najozbiljnija komplikacija BIA-ALCL ([3,7,11,64](#)).

Objavljene incidence KK su raznolike, kreću se od 8 do 50% ([14,22,26-28](#)). Ova komplikacija je najčešći razlog za reoperaciju. O etiologiji KK objavljeni su brojni radovi. Berry i sar. su u svom preglednom članku podelili hipoteze za nastanak KK na osnovu endogenih i egzogenih faktora. U endogene hipoteze svrstali su: modifikovano zarastanje, sastav i površinu elastomera, punjenje implantata, prisustvo poliuretanske pene, anatomski sloj za implantaciju i hiruršku tehniku; dok egzogenu hipotezu čini infekcija kao glavni faktor za nastanak KK ([162](#)). Prema Del Pozo i sar. bakterije su češće dijagnostikovane na izvađenim implantatima zbog KK nego kod onih kod kojih su izvađene iz nekog drugog razloga ([133](#)). Tamboto i sar. su dokazali u svom in vivo eksperimentu da inokulacija džepa *Staphylococcus epidermidis* u koji će se plasirati proteza povećava rizik za nastanak KK četiri puta ([13](#)). Inokulacija džepa *Staphylococcus epidermidis* izaziva KK kod 80% implantata, a kontrahovane kapsule imaju 250% više bakterija u odnosu na nekontrahovane prema Jacombs i sar. ([63](#)). Bergaman i sar. su ustanovili da je kapsula deblja oko onih proteza koje su kontaminirane *S. epidermidis* ([164](#)).

Hu i sar. sugerišu da BIA-ALCL može da nastane kao posledica hronične infekcije, kao što hronična infekcija može biti uzrok za razvoj limfoma želuca kod ljudi sa prisustvom *Helicobacter pylori* ([64,139](#)). Oni su na eksperimentalnom modelu (ugrađivali su implantate svinjama) dokazali da ima više limfocitarnog infiltrata na implantatima sa teksturisanim površinom u odnosu na glatke. Takođe, u limfocitarnom infiltratu su predominirali T limfociti u odnosu na B limfocite, dok su poliuretanski implantati imali signifikantno više bakterija u odnosu na druge teksturisane implantate. Ispitujući kapsule kod BIA-ALCL utvrdili su da se *Ralstonia* spp. nalazi kod 80% dijagnostikovanih BIA-ALCL ([64](#)).

U ovoj studiji je ispitivana mogućnost formiranja biofilma četiri različite bakterije i to *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Ralstonie pickettii* na silikonskim implantatima za dojku. Bakterije *S. epidermidis* i *S. aureus* su najčešće izolovane bakterije u

kapsuli tkiva dojke i one su stvorile mehanizme da izmene odgovor keratinocita domaćina. *S. epidermidis* je posmatran iz razloga što je najčešće izolovana bakterija iz kontrahovanih kapsula, kao i sa samih implantata oko kojih je došlo do KK (114). *Staphylococcus aureus* je ispitan kao virulentan uzročnik, ali i čest saprofit ljudske mukoze koji može dovesti do ozbiljnih infekcija implantata. Kao ređi izazivači infekcija implantata javljaju se Gram-negativne bakterije (116,163). Prema Sengu i sar. *Pseudomonas aeruginosa* je drugi po učestalosti izazivač infekcija nakon ugradnje implantata te je kao predstavnik Gram negativnih bakterija posmatran u ovoj studiji (116). Kao četvrta bakterija ispitivana je *Ralstonia pickettii*, koja je izolovana kod 80% kapsula kod pacijentkinja kojima je dijagnostikovano BIA-ALCL (64).

Cheesa i sar. su u svom eksperimentu ispitali virulenciju i mogućnost formiranja biofilma bakterija *S. epidermidis* i *S. aureus* uzetih sa implantata za dojkicu prilikom rutinske zamene proteza ili zamene usled neke od komplikacija. Ustanovili su da su ti sojevi *S. epidermidis* i *S. aureus*, značajno jači proizvođači biofilma od njihovih kontrolnih sojeva (114). Duža inkubacija i produkcija biofilma im omogućava dugotrajnije preživljavanje tokom vremena.

Bakterija *S. epidermidis* ima mogućnost sekrecije sluzi koja joj omogućava pričvršćivanje na neku površinu, a koja deluje kao cement i za ostale bakterije (143). *S. epidermidis* je odgovoran i za stafilokokne koagulaza negativne nozokomijalne infekcije, posebno bakterijemije i infekcije ugrađenih medicinskih proteza (143). Prisustvo bakterija bez znakova infekcije izaziva blaži oblik inflamatornog odgovora domaćina i zove se subklinička infekcija (163).

S obzirom da su bakterije u biofilmu uronjene u matriks, uobičajeni brisevi sa inficiranih površina nisu dovoljni za njihovu detekciju. Takvi brisevi su često negativni. Za utvrđivanje biofilma na različitim površinama u upotrebi je nekoliko dijagnostičkih metoda (103,111,112,113). Najrasprostranjenija je i dalje tradicionalna metoda za utvrđivanje biofilma, odnosno proces sonifikacije. Iako precizna, ova metoda sem utvrđivanja postojanja i intenziteta biofilma, ne daje druge informacije o biofilmu (npr. o broju bakterija) (103). Pored sonifikacije za detekciju biofilma koriste se i elektronska mikroskopija, PCR (*eng. polimerase chain reaction*) i fluorescentna in situ hibridizacija (111,113). Ipak, većina ovih metoda nije lako dostupna jer se nalaze u specijalizovanim laboratorijama za ispitivanje biofilma.

Sonifikaciju celih proteza su radili Rieger i sar (117). Pajkos i sar. su radili sonifikaciju delova proteza (2x2cm) kao što je rađeno i u ovoj studiji, ali su uzorke gledali i elektronskim mikroskopom. Prema njihovom eksperimentu, procesom sonifikacije pronašli su samo jedan

uzorak koji je bio negativan na biofilm dok su, na istom uzorku bakterije detektovali elektronskim mikroskopom (115). U eksperimentu koji su sproveli Jacombs i sar, na 4 od 6 mini silikonskih implantata za dojku ugrađenih svinjama, nisu videli biofilm elektronskim mikroskopom iako su sonifikacija i kultivisanje pokazali njegovo prisustvo na površini implantata (63). Tambto i sar. su u svom eksperimentu računali samo onaj biofilm koji je bio potvrđen ne samo elektronskom mikroskopijom, nego i tradicionalnom metodom (44). U ovoj studiji za detekciju biofilma korišćena je tradicionalna metoda, odnosno proces sonifikacije, kultivisanje bakterija u bujonima i njihova identifikacija standardnim mikrobiološkim procedurama.

U sprovedenom istraživanju posmatrana su tri različito teksturisana implantata čije su veličine pora iznosile: 70-150 μ m, 50-900 μ m i 13 μ m. Eksperiment je rađen na uzorcima ovih implantata koji su dobijeni sečenjem kapsule implantata na komadiće veličine 1x1cm. O mogućnosti rada sa ovakvim modelom pisao je Virden i sar. 1992. Oni su izvađene proteze sekli na komadiće veličine 1x1cm i potom sproveli bakterijsku analizu. Pojedine komadiće su usitnjavali iz praktičnih razloga na veličine 4-5mm u prečniku (23). Pajkos i sar. su koristili delove proteze veličine 2x2cm (115), dok su Van Heerden i sar. 2007. ispitivali efekat topikalnih antibiotika na uzorcima prečnika oko 5mm (132).

Do sada su objavljene brojne studije koje ispituju mogućnost formiranja biofilma na raznim površinama različite teksture (104,105). Ne tako veliki broj radova ispituje formiranje biofilma na silikonskim implantatima za dojku. Većina radova je retrospektivna, a svega nekolicina je prospektivna ili rađena na eksperimentalnim modelima. Najčešće je komparirana mogućnost formiranja biofilma na teksturisanim u odnosu na glatke implantate. Još su Sanger i sar. 1989. elektronskom mikroskopijom otkrili bakterije ne samo u porama poliuretanskih implantata nego i u neravninama na površini glatkih implantata izvađenih iz različitih razloga (163). U svojoj studiji Jacombs i sar. su ustanovili 20 puta više bakterija in vivo i do 72 puta više bakterija in vitro, pričvršćenih na teksturisane u odnosu na glatke implantate. Nisu naveli koju vrstu teksturisanih implantata su koristili (63). Del Pozo je posmatrao bakterijske kulture kod kontrahovanih kapsula i na samim implantatima. Posmatrani su eksplantirani implantati iz bilo kog razloga. Većina implantata su bili teksturisani silikonski implantati. Ustanovio je da je kod više od polovine pozitivnih KK pocom sonifikacije dobijena i pozitivna kultura na implantatu (133).

Kako postoje brojni proizvođači implantata, pa i tehnologije proizvodnje, danas nije dovoljno samo reći "teksturisani implantati" nego je potrebno i precizirati o kakvoj teksturi je reč.

Atlan i sar. 2016 su elektronskom mikroskopijom, mikrotomografijom X zracima i mehaničkom mikroskopijom upoređivali karakteristike tri teksturisana implantata od različitih proizvođača (Siltex, Mentor; BioCell Allergan; i Sebbin) i ustanovili velike razlike u neravninama površina implantata što se može odraziti na klinički tok (168). Abramo i sar. su podelili teksturisane implantate na makroteksturisane (Biocell®, McGhan) sa otvorenim porama velikog dijametra (600-800µm) i dubine (150-200µm), i mikroteksturisane (Siltex®, Mentor) koji imaju ravnomerno raspoređene talasaste površine sa otvorenim porama manjeg dijametra (70-150µm) i dubine (40-100µm) (90). Od pre nekoliko godina su proizvedeni implantati sa površinom čija veličina pora iznosi oko 13 µm, koja bi se prema Barr i sar. nazvala mesotekstura, a prema Maxwell i sar. intermedijerna tekstura (1,74). Maxwell je u svojim studijama posmatrao prednosti i mane makroteksturisanih implantata (BioCell) u odnosu na mikroteksturisane (Siltex) i intermedijerno teksturisane (True Texture). Ustanovio je da su makroteksturisani implantati fiksirani za fibroznu kapsulu čiji reljef je direktno otisak reljefa sa implantata (eng. “*Velcro effect*”). Takođe je ustanovio da makroteksturisani izazivaju manju incidencu bućkanja (eng. *ripling*) i malpozicije implantata, manju incidencu KK, ali imaju veću mogućnost za pojavu duple kapsule i kasnog seroma (73). Ova studija je sponzorisan od strane Allergana, koji su proizvođači Biocella.

Postojanje teksturisane površine je ključalno kod anatomskih implantata, jer ovakva površina olakšava srastanje okolnog tkiva za implantat, smanjujući mogućnost rotacije implantata, do koje može doći kao moguće komplikacije. Histološke studije kapsula nastalih oko teksturisanih implantata su pokazale drugačije orjentisana kolagena vlakna za razliku od kapsula stvorenih oko glatkih implantata (164). Ova ukrštena kolagena vlakna oko teksturisanih implantata, smanjuju mogućnost KK što su pokazali Stevens i sar. u svojoj retrospektivnoj analizi sprovedenoj na preko 5000 pacijentkinja (21). Iz tog razloga se u današnje vreme i okrugli silikonski implantati za dojkiju izrađuju sa teksturisanim površinom. Značaj teksturisanih implantata je u tome što tekstura utiče na formiranje drugačije fibrozne kapsule, smanjenu KK i smanjuje mogućnost rotacije anatomskih implantata, ali s druge strane ima veću mogućnost za kolonizaciju bakterija i stvaranje biofilma. Da makroteksturisani implantati zadržavaju više bakterija od glatkih, dokazali su Scheuerman i sar. 1998. i Hu i sar. 2015. (64,170). Razlog ovome je veća površina hrapavijih implantata u odnosu na glatke, odnosno veća površina za pričvršćivanje bakterija. Danino i sar. su primetili kvantitativan porast u produkciji biofilma kada broj bakterija pređe 2000 ćelija po mm² implantata, što u potpunosti odgovara stavu da makrotekstura, zadržavajući više

bakterija, pogoduje formiranju biofilma (143). Nije samo tekstura odgovorna za ovaj fenomen, nego i sastav kapsule, odnosno elastomera. Bakterije lakše adheriraju na hidrofobne površine što je slučaj sa elastomerom. Hidrofilne površine smanjuju broj bakterija na površini i potpomažu apoptozu adheriranih inflamatornih ćelija. Hrapavost površine implantata povećava kontaktni ugao sa bakterijama i smanjuje stepen nakvašenosti hidrofobnih površina čime se olakšava adhezija bakterija (171).

S druge strane, studije in vivo ukazuju na različite efekte bakterijske kontaminacije makroteksturiranih implantata i efekat teksture uopšte. Iako su u svojoj in vivo studiji Jacombs i sar. ustanovili više bakterija kod teksturisanih u odnosu na glatke implanatate, nisu dobili statistički značajnu razliku u incidenci KK između glatkih i teksturisanih implantata. Interesantna je njihova hipoteza da postoji kritično opterećenje biofilmom, koje kada se prekorači dovodi do kontrahovanja kapsule. Smatraju da ova kritična vrednost ne zavisi od toga da li su implantati teksturisani ili glatki (63). Bergmann i sar. su napravili eksperimentalni model na pacovima, kojima su ugrađivali teksturisane implantate i one presvučene poliuretanskom penom, te polovinu kontaminirali sa *S. epidermidisom*, a zatim ispitivali KK, histološki sastav kapsule kao i pojavu infekcije. Iako su ustanovili statistički značajno više inflamatornih ćelija u kapsulama oko poliuretanskih implantata u odnosu na teksturisane, ovaj povećan broj ćelija nije korelirao sa bakterijskom kontaminacijom. Rezultat njihovog eksperimenta pokazuje da je kapsula deblja oko onih implantata (i teksturisanih i poliuretanskih) kod kojih je postojala bakterijska kontaminacija. Takođe, ustanovili su statistički značajno više T- limfocita i kod kontaminiranih i nekontaminiranih poliuretanskih implantata u odnosu na teksturisane (164). Ovo znači da tekstura sama po sebi stimuliše inflamatorni odgovor domaćina, što prema Hu i sar. može biti jedan od razloga za nastanak BIA-ALCL (64). Rieger i sar. su u multicentričnoj studiji posmatrali kapsule i implantate koji su iz bilo kod razloga eksplantirani. Ustanovili su da bakterijska kontaminacija utvrđena metodom sonifikacije doprinosi intenzitetu KK, ali ne korelira sa teksturom implantata (117). Tekstura ima veći uticaj na histološki sastav kapsule (164). Pretpostavlja se da makroteksturirani implantati, koji uglavnom imaju pore veće od veličine ćelija time diktiraju reakciju oko stranog tela, a samim tim potpomažu urastanje tkiva na svoju površinu i doprinose pojavi duple kapsule i kasnih seroma. Ovo nije slučaj sa mikro i mezo teksturisanim implantatima (75).

Za ovo istraživanje odabrana su tri različito teksturisana implantata (70-150 µm (SILTEX, MemoryGel®, Mentor, California, USA); 50–900 µm (MESMO®sensitive, Polytech Health

& Aesthetics GmbH, Dieburg, Germany); i 13 μm (SilkSurface, TrueMonobloc®, Motiva, Establishment Labs SA, Coyol de Alajuela, Costa Rica). Ovi implantati se mogu naći na tržištu u našoj zemlji i trenutno se najčešće ugrađuju. Posmatrana je mogućnost formiranja bakterijskog biofilma četiri različite bakterije na ovim, različito teksturisanim implantatima. Rezultat iztraživanja je takav da sve četiri ispitivane bakterije *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* i *Ralstonia pickettii* statistički značajno više stvaraju biofilm na implantatima sa porama veličine 50–900 μm u odnosu na pore 70-150 μm i u odnosu na pore veličine 13 μm , kao i da se biofilm stvara više na porama veličine 70-150 μm u odnosu na pore 13 μm ($p=0.000$). Jedini izuzetak je *Pseudomonas aeruginosa* kod kojeg ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma na teksturisanim implantatima sa porama veličine 70-150 μm u odnosu na one sa porama 13 μm ($p=0.694$).

U literaturi nisu pronađeni objavljeni radovi koji upoređuju mogućnost formiranja biofilma na implantatima različite teksture, nego samo oni koji kompariraju mogućnost formiranja biofilma na teksturisanim u odnosu na glatke implantate. U ovom eksperimentu je dokazano da tekstura implantata za dojkicu utiče na različit potencijal za formiranje biofilma ispitivanih bakterija.

Višestruko je dokazano da bakterijska kontaminacija i sledstveno formiranje biofilma, u značajnoj meri doprinosi ne samo nastanku nego i intenzitetu kontrakture kapsule ([13,62,164](#)). Danino i sar. 2016. su radili studiju na kapsulama eksplantiranih Biocell implantata i dokazali da se bakterijska kontaminacija događa tokom implementacije ([143](#)). Sanger i sar. su dokazali da i kratka ekspozicija proteza (u trajanju od 2min) svega nekolicini bakterija tokom implantacije (posebno Gram pozitivnih) može biti dovoljna za adheziju bakterija na površinu proteze ([163](#)). Iz navedenog sledi da bi ultimativni cilj bio sprečiti pričvršćivanje bakterija za implantat, što nije lako s obzirom da bakterije stalno stvaraju nove mehanizme za preživljavanje (formiranje biofilma, ćelijski mehanizmi za rezistenciju na antibiotike, menjaju odgovor ćelija domaćina...). U ovoj studiji, i mnogim drugim studijama je dokazano da se bakterije više pričvršćuju za makroteksturisane implantate, odnosno one sa agresivnijim neravninama. U cilju sprečavanja adhezije bakterija i formiranja biofilma radi smanjenja komplikacija, dosadašnja praksa je bila ta da se ispira džep u koji će se plasirati proteza. Tek pojedini autori savetuju ispiranje same proteze. Retrospektivne studije su pokazale efekte ovih ispiranja kroz pojavu KK ili infekcije ([9,10,32](#)).

Neki autori nisu utvrdili statistički značajnu razliku u incidenciji KK i infekcije nakon ispiranja džepa antibioticima ([146,150](#)) ili i antisepticima ([21](#)). Drinane i saradnici su napravili

komparativnu studiju u kojoj su kod jednog broja pacijenata ispirali džep sa tri antibiotika dok su kod drugih ispirali fiziološkim rastvorom, što je služilo kao kontrolna grupa. Svim pacijentkinjama su ugrađivani teksturisani implantati. U njihovoj analizi nisu našli statistički značajno manju incidencu KK kod pacijenata kod kojih je džep ispiran sa tri antibiotika. Mana ove studije je ta što je rađena na ukupno 55 pacijenata (149). Pfeiffer je posmatrao pojavu infekcije na 436 žena kojima su ugrađeni implantati za dojku periareolarnim pristupom. Kod polovine je džep ispiran kombinacijom antibiotika (cefalotin), fiziološkog rastvora i epinefrina, dok kod druge polovine su džepovi ispirani samo fiziološkim rastvorom i epinefrinom. Pfeiffer je koristio teksturisane silikonske implantate (Polytech), plasirao je dren kod svih pacijenata i dobio viši procenat postoperativnih infekcija u odnosu na ostale navode u literaturi. Ipak, skoro duplo više infekcija je registrovao kod pacijentkinja kod kojih džep nije ispiran antibiotikom (146). Visok procenat infekcija u studiji Pfeiffer i sar. može biti posledica upotrebe drenova kao i ugradnja proteza periareolarnim pristupom, koji su povezani sa većim procentom komplikacija prema literaturnim podacima. Jedna od najobimnijih studija je sprovedena od strane Stevens i sar. koji su u petogodišnjem periodu posmatrali pacijentkinje sa ugrađenim implantatima u svrhu uvećanja dojke, mastopeksije ili rekonstrukcije dojke, što je ukupno činilo 5109 proteza. Posmatrani su brojni rizikofaktori za nastanak KK, a između ostalih i tekstura implantata i ispiranje džepa. Rezultati studije su pokazali da se niža incidenca KK javlja kod teksturisanih implantata bez obzira na lokalizaciju džepa (da li se nalazi subglandularno ili submuskularno). Studija nije pokazala da je ispiranje džepa nekim od antibiotika ili antiseptika uticalo na nižu incidencu nastanka kontrakture kapsule (21). U studiji Stevens i sar. nije navedeno kod kojeg broja pacijenata je ispiranje rađeno antibiotikom u odnosu na druge načine ispiranja. Činjenica je da ni u jednoj od ove tri navedene studije nije ispiran implantat nego samo džep, kao i da je ispiranje rađeno pretežno antibioticima.

Jedna od hipoteza sprovedenog istraživanja je bila ta da uprkos ispiranju džepa u koji će se plasirati proteza, blizina žlezdanog tkiva dojke koje je naseljeno bakterijama omogućava lak kontakt proteze i bakterija, te bi iz tog razloga neophodno bilo ispiranje ne samo džepa nego i proteze. Iako sterilna, svojom hidrofobnom površinom, proteza olakšava adheziju bakterija. Ispiranjem se povećava navlaženost, a time i smanjuje mogućnost adhezije bakterija. U ovoj studiji je ispitivano da li ispiranje implantata antiseptičkim ili antibiotskim rastvorima smanjuje mogućnost formiranja biofilma u odnosu na neispiranje. Posmatrana antiseptička sredstva su bila povidon jod i oktenidin dihidrohlorid, odabran antibiotik je bio cefuroksim, a

ispitan je i efekat ispiranja kombinacijom povidon joda i dva antibiotika (cefuroksim i gentamicin).

Povidon jod je odabran kao antiseptik, jer je dugo u upotrebi, višestruka mu je primena u hirurgiji (dezinfekcija ruku, čišćenje operativnog polja, ispiranje traumatskih rana...), a opisana je i njegova primena kod ispiranja implantata pre ugradnje. Oktenidin dihidrohlorid je prisutan kod nas na tržištu i u širokoj je primeni za ispiranje rana i za pripremu operativnog polja. Ipak, znatno je skuplji od povidon joda. Rezultat studije je da je ispiranje implantata antisepticima (oktenidin dihidrohloridom i povidon jodom) i mešavinom povidon joda i dva antibiotika (cefuroksim i gentamicin) efikasnije u prevenciji formiranja biofilma svih ispitivanih bakterija, na sve tri grupe implantata od neispiranja uopšte. Izuzetak je *S. epidermidis* u grupi 3 (pore veličine $\approx 13 \mu\text{m}$) kod kojeg nije utvrđeno statistički manje formiranje biofilma nakon ispiranja oktenidin dihidrohloridom u odnosu na neispiranje ($p=0.574$). Cefuroksim je bio efikasniji u sprečavanju formiranja biofilma sve četiri ispitivane bakterije, u odnosu na neispiranje u Grupi 1 ($p=0.000$), kao i za *S. epidermidis* i *Ralstonia pickettii* u Grupi 2. Cefuroksim se nije pokazao efikasnim u sprečavanju formiranja biofilma *S.aureus* ($p=0,608$) i *P. aeruginosa* ($p=1$) u Grupi 2 kao ni kod jedne bakterije u Grupi 3: *S. epidermidis* ($p=0.537$), *S. aureus* ($p=1$), *P. aeruginosa* ($p=0.212$) i *Ralstonia pickettii* ($p=0.248$).

Literaturni podaci navode primenu i drugih antibiotika u svrhu ispiranja džepa, a pojedini autori ih kombinuju i sa povidon jodom. Adams u prospektivnoj studiji na 335 pacijenata primenjuje rezultate svojih in vitro eksperimenata. Pacijentkinjama kojima ugrađuje implantate, prethodno ispira džep i samu protezu sa betadinom i dva antibiotika (cefazolin i gentamicin rastvorenih u 500ml fiziološkog rastvora). Ovaj režim je koristio do 2000. godine, a posle 2000, kada je FDA zabranila upotrebu betadina za ispiranje proteza zbog sumnje da dovodi do izduvavanja implantata, Adams je upotrebljavao samo tri antibiotika: 1g cefazolina, 80m gentamicina i 50000U bacitracina, rastvorenih u 500ml fiziološkog rastvora. Većina ugrađenih implantata je bila glatke površine. Rezultati ovog, in vivo prospektivnog istraživanja su pokazali nisku incidencu KK bilo kod ispiranja sa tri antibiotika bilo kod ispiranja kombinacijom povidon jod i tri antibiotika (32). Mana ovog istraživanja je što nije double blinde studija. Takođe, autori nisu uradili komparaciju incidence KK između ove dve vrste ispiranja. Araco je u svojoj velikoj retrospektivnoj analizi, na preko 3000 pacijenata kod kojih je urađena augmentaciona mamoplastika, analizirao faktore koji doprinose pojavi postoperativne infekcije. Ustanovljeno je da pored upotrebe teksturisanih implantata i

drenova, na pojavu infekcije utiče i irigacija džepa i implantata. Naime, kod svih pacijentkinja je implantat ispiran povidon jodom pre ugradnje, dok je kod pojedinih džep za plasiranje proteze ispiran antibiotikom. Kod pacijenata kod kojih je i džep ispiran antibiotikom je ustanovljen 4 puta manji rizik za nastanak infekcije (10). Interesantno bi bilo da su naveli efekte ispiranja samo implantata betadinom u odnosu na neispiranje uopšte. Blount je pokazao nižu incidencu KK nakon irigacije džepa antibioticima. Kroz retrospektivnu studiju analizirao je faktore koji utiču na stvaranje KK (III i IV stepena po Bakeru) kod 856 niskorizičnih pacijentkinja tj. onima kojima su ugrađeni implantati u cilju augmentacije. Pacijentkinje su operisane od strane 6 hirurga od kojih je svaki, prema individualnoj naklonosti, birao sredstvo za ispiranje džepa. Jedni su ispirali samo antibiotikom - bacitracinom, drugi sa tri antibiotika (bacitracin, cefazolin i gentamicin), a treći povidon jodom. Samo poneki su ispirali implantat i to antibiotikom, neposredno po otvaranju pakovanja. U studiji nisu navedeni efekti povidon joda, verovatno iz razloga što je svega 0,6%, tj. 5 pacijenata bilo ispirano ovim režimom (9).

Možda bi antibiotici imali još bolji rezultat ukoliko ne bi bili rastvorljivi u vodi nego se nanosili na protezu u vidu masti. Van Heerden je u in vitro eksperimentu posmatrao efekat topikalnih antibiotika na prevenciju biofilma. Pouzdanim su se pokazali fusidinska kiselina, hloramfenikol i oksitetraciklin. Autori se pitaju da li je efekat postignut zbog samog nosača leka (mast), s obzirom da oni koji se rastvaraju u vodi imaju kraće dejstvo (132). Rastuća rezistencija *Staphylococcus epidermidis* na meticilin, aminoglikozide, makrolide, intermedijerna rezistencija na vankomicin i od skoro na linezolid, povećava patogenost ove bakterije što dodatno komplikuje rešavanje infekcije koju izaziva (160). S tim u vezi dovodi se u pitanje i efekat profilaktičkog ispiranja implantata gentamicinom pre ugradnje. Uopšte kod primene antibiotika se mora misliti i o mogućim alergijama. Burnett i sar. su ove 2018. godine objavili slučaj anafilakse na bacitracin kod ispiranja proteza dojke prilikom zamene istih (161).

Kako bakterije stalno menjaju svoje mogućnosti preživljavanja i povećavaju rezistentnost prema antibioticima pretpostavka ove studije je da bi antiseptici bili efikasniji u prevenciji stvaranja biofilma. To je delimično i dokazano. U ovom ispitivanju, u Grupi 1, tj. na implantatima sa porama veličine 70-150 µm ispiranje oktenidin-dihidrohloridom se pokazalo efikasnijim u prevenciji formiranja bakterijskog biofilma u odnosu na ispiranje antibiotikom kod svih bakterija sem kod *Ralstonia pickettii*. Ispiranje povidon jodom je bilo efikasnije u prevenciji formiranja bakterijskog biofilma u odnosu na ispiranje antibiotikom kod *Staphylococcus aureus* i *Ralstonia pickettii* bakterija. Ispiranje kombinacijom (povidon jod i 2

antibiotika) je efikasnije u prevenciji formiranja bakterijskog biofilma u odnosu na ispiranje samo antibiotikom kod svih bakterija. U Grupi 2, odnosno na implantatima sa porama veličine 50–900 μm , ispiranje oktenidin-dihidrohlidom, povidon jodom ili mešavinom (povidon joda i dva antibiotika) je efikasnije u prevenciji formiranja bakterijskog biofilma u odnosu na ispiranje samo antibiotikom kod svih bakterija. U Grupi 3, odnosno na implantatima sa porama veličine $\approx 13 \mu\text{m}$, ispiranje oktenidin-dihidrohlidom je efikasnije u prevenciji formiranja bakterijskog biofilma u odnosu na ispiranje antibiotikom kod svih bakterija sem kod *Staphylococcus epidermidis*, dok se ispiranje povidon jodom i kombinacijom povidon joda i dva antibiotika, pokazalo efikasnijim u odnosu na ispiranje samo antibiotikom kod svih bakterija. Ovakav rezultat i nije toliko iznenađujući, s obzirom da bakterije ne stvaraju rezistenciju na antiseptike. Dalje se postavlja pitanje koji antiseptik odabrati.

Prema ovoj studiji, statistički značajno efikasnijim se pokazao povidon jod u odnosu na oktenidin dihidrohlid sem kod *Staphylococcus aureus* u Grupi 1 i kod *Staphylococcus aureus* i *Ralstonia pickettii* u Grupi 2. Nisu pronađeni literaturni podaci koji bi potkrepili ili opovrgli ovakve rezultate, jer nisu objavljeni radovi koji su koristili oktenidin dihidrohlid u svrhu ispiranja implantata. Junka i sar. su ispitivali efikasnost oktenidin-dihidrohlida i povidon joda na eradikaciju biofilma na polistirenskim mikrotitar pločama i dokazali da je oktenidin dihidrohlid bio efikasniji od povidon joda u eradikaciji bakterijskog biofilma *Pseudomonas aeruginosa*, dok su oba antiseptika podjednako bila efikasna za eradikaciju biofilma *S. aureus* (167). Važno je istaknuti da su kulture navedenih bakterija ispitanih u eksperimentu izolovane iz hroničnih ulkusa potkolenice, te samim tim ti sojevi mogu biti virulentniji od saprofitnih sojeva na koži za koje se smatra da su izazivači kontaminacije implantata.

O efikasnosti ispiranja povidon jodom najznačajniji doprinos dao je Wiener i sar. koji su u retrospektivnoj analizi na 1244 pacijenata posmatrali pojavu KK nakon toalete džepa betadinom prilikom ugradnje silikonskih implantata za dojku glatke površine. Došli su do zaključka da je incidenca KK snižena nakon ispiranja betadinom, kao i da se KK češće javlja ukoliko je nakon toalete betadinom džep ispran fiziološkim rastvorom. U njihovoj analizi savetuje se postavljanje gaza natopljenih betadinom na bradavicu, jer je bradavica sa izvodima duktalnih kanala mogući uzrok kontaminacije (30). Giordano i sar. su kroz svoju retrospektivnu analizu sprovedenu na 330 primarnih augmentacija utvrdio nižu incidencu KK kod pacijentkinja kojima su džep i proteza ispirani betadinom i kombinacijom dva antibiotika (cefuroksim i gentamicin) u poređenju sa onim pacijentima kod kojih nije rađeno ispiranje ni sa čim. Period praćenja je relativno kratak, 24 meseca (142). Devedestih godina prošlog veka

ustanovljena je visoka incidenca izduvavanja implantata ispunjenih fiziološkim rastovrom jer su pojedini hirurzi ubrizgavali povidon jod u sam lumen implantata u cilju prevencije potencijalne kontaminacije preko "porozne" kapsule. Iz tog razloga je FDA zabranio primenu povidon joda za ispiranje proteza. Brojni hirurzi su optuživani od strane farmaceutskih kuća da oni ispiranjem implantata menjaju svojstva silikona i time doprinose nastanku većeg procenta komplikacija. Schmitz i sar. su 2019. u svom eksperimentu dokazali da kratkotrajno ispiranje implantata u trajanju od 2 minuta, sa različitim antiseptičkim sredstvima (uključujući povidon jod i oktenidin dihidrohlorid) ne menja fizička svojstva ni zateznu čvrstoću implantata (169).

U ovom istraživanju je posmatrano i da li postoje razlike u vrsti ispiranja na različito teksturisanim implantatima, odnosno, koje bi bilo najefikasnije sredstvo za ispiranje za svaki ispitivani implantat i sve četiri bakterije. Ovo je postignuto kodiranjem kategorija produkcije biofilma, a potom je za svaku grupu implantata izračunata srednja vrednost za sve četiri bakterije. Na taj način za svaku grupu implantata i svaki način ispiranja, dobijena je nova varijabla koja predstavlja prosečnu produkciju biofilma. Da bi se utvrdio najbolji način ispiranja po vrstama implantata, poređene su medijane novih varijabli koje predstavljaju agregatno stanje po grupama. Niža vrednost medijane ukazuje na efikasniju prevenciju stvaranja bakterijskog biofilma. Kao rezultat, u Grupi 1 (pore veličine 70-150 μm) podjednako su bili efikasni oktenidin-dihidrohlorid, povidon jod kao i kombinacija (povidon joda i dva antibiotika) u prevenciji biofilma i da su svi ovi načini statistički značajno efikasniji od ispiranja antibiotikom cefuroksimom. U Grupi 2 (pore veličine 50-900 μm) i Grupi 3 (porama veličine 13 μm) pokazano je da su povidon jod i kombinacija povidon joda i dva antibiotika podjednako efikasni u prevenciji biofilma i da su svi ovi načini statistički značajno efikasniji od ispiranja antibiotikom cefuroksimom i oktenidin-dihidrohloridom. Mešavina povidon joda i dva antibiotika (cefazolin i gentamicin) bila je blago superiornija (Tabela 8.) od ispiranja samo povidon jodom te se postavlja pitanje da li je potrebno povidon jodu dodavati antibiotike, uzimajući u obzir i ekonomsku isplativost ove kombinacije.

Dobijeni rezultati ovog istraživanja pokazuju da bi odabir mirkoteksturisanih silikonskih implantata za dojkicu kao i njihovo ispiranje povidon jodom ili kombinacijom povidon joda i dva antibiotika (cefuroksima i gentamicina) neposredno pre ugradnje smanjilo mogućnost formiranja biofilma na implantatima, kao jednog od najverovatnijih uzročnika i glavnog faktora rizika za nastanak KK i BIA-ALCL. S obzirom da teksturisani implantati signifikantno potenciraju formiranje biofilma, hirurzi koji ugrađuju ove implantate bi trebalo

da budu svesni ove činjenice i preduzmu mere koje bi uticale na smanjenje mogućnosti bakterijske kontaminacije. Za proizvođače implantata i dalje ostaje izazov da se proizvedu onakve površine koje se opiru ili ograničavaju adheziju bakterija i formiranje biofilma. Radi se ne samo na različitim teksturama nego i različitom sastavu koji može sadržati i antibiotik, antiadheziv, antiseptik, biološke membrane ili da su implantati presvučeni supstancama koje sprečavaju adheziju bakterija...([23](#),[165](#),[166](#)).

6.1.LIMIT STUDIJE

Kompleksnost fiziološkog okruženja, otežava pravljenje adekvatnog in vitro modela, npr. većina izolovanog biofilma je polimikrobna, a različit je i imunološki odgovor domaćina. Studije in vivo su mnogo relevantnije, ali njihov period praćenja bi trebalo da bude znatno duži, bar 10 godina, da bi se pokazao pravi efekat preduzetih mera za sprečavanje kontaminacije. Neophodno je in vitro studijama pokazati najoptimalnije načine za sprečavanje kontaminacije, koji bi se kroz kliničku praksu i dugoročno praćanje pokazali što efikasnijim. Svakako, ovo istraživanje može služiti kao baza za dalja klinička istraživanja.

7. ZAKLJUČCI

Zaključak 1.

Sve četiri ispitivane bakterije *S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* i *Ralstonia picketti* statistički značajno više stvaraju biofilm na implantatima sa porama veličine 50–900 μm u odnosu na pore 70-150 μm i u odnosu na pore veličine 13 μm . Biofilm se statistički značajno više stvara na porama veličine 70-150 μm u odnosu na pore 13 μm . Jedini izuzetak je *Pseudomonas aeruginosa* kod kojeg ne postoji statistički značajna razlika u produkciji biofilma na teksturisanim implantatima sa porama veličine 70-150 μm u odnosu na one sa porama 13 μm .

Zaključak 2.

Sve četiri ispitivane bakterije statistički značajno manje stvaraju biofilm nakon ispiranja povidon jodom, oktenidin-dihidrohloridom ili rastvorom antibiotika u sve tri grupe implantata, u odnosu na površine koje nisu ispirane. Izuzetak je *S. epidermidis* u Grupi 3 kod kojeg nije utvrđeno statistički značajno manje formiranje biofilma nakon ispiranja oktenidin dihidrohloridom u odnosu na neispiranje.

Cefuroksim je bio efikasniji u sprečavanju formiranja biofilma sve četiri ispitivane bakterije u odnosu na neispiranje u Grupi 1, kao i za *S. epidermidis* i *Ralstoniu pickettii* u Grupi 2. Cefuroksim se nije pokazao statistički značajno efikasnim u sprečavanju formiranja biofilma *S. aureus* i *P. aeruginosa* u Grupi2, kao ni kod jedne bakterije u Grupi 3.

Zaključak 3.

Kod sva tri ispitivana, različito teksturisana silikonska implantata pokazano je da su oktenidin-dihirohlorid i povidon jod statistički značajno efikasniji u smanjenju formiranja bakterijskog biofilma sve četiri ispitivane bakterije od ispiranja antibiotikom cefuroksimom.

Zaključak 4.

Ispiranje mešavinom povidon joda i dva antibiotika (cefuroksim i gentamicin) se pokazalo efikasnijim u prevenciji formiranja biofilma sve četiri ispitivane bakterije na sva tri različito teksturisana silikonska implantata za dojku u odnosu na ispiranje samo antibiotikom-cefuroksimom.

Zaključak 5.

Ispiranje povidon jodom se pokazalo statistički značajno efikasnijim u prevenciji stvaranja biofilma kod skoro svih ispitivanih bakterija od ispiranja oktenidin- dihidrohloridom u sve tri grupe implantata. Statistički značajna razlika nije utvrđena prilikom ispiranja povidon jodom u odnosu na oktenidin - dihidrohlorid u prevenciji stvaranja biofilma *Staphylococcus aureus* kod sve tri grupe implantata, kao i kod *Ralsotnia pickettii* u grupi 2.

Zaključak 6.

Na osnovu rezultata ove studije, u cilju prevencije stvaranja biofilma, preporuka je da se koriste mikroteksturisasi implantati kao i da se oni, pre ugradnje isperu povidon jodom ili mešavinom povidon joda i dva antibiotika (cefuroksim i gentamicin).

8. LITERATURA

1. Maxwell GP, Baker MB. Augmentation mammoplasty: General considerations. In: Spear SL, editor. *Surgery of the breast*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 1237-60.
2. Czerny V. Plastischer ersatz der brusthus durch ein lipoma. *Zentralbl Chir*. 1895;27:72.
3. Nikolić J. Estetska hirurgija. In: Janjić Z, Jeremić P, Obradović-Tomašev M, Gvozdenović Lj, Jovanović M, Komarčević A, editors. *Plastična, rekonstruktivna i estetska hirurgija*. Novi Sad: Medicinski fakultet; 2014. p. 225-44.
4. Bondurant S, Ernster V, Herdman R. *Safety of silicone breast implants*. Washington, DC: National Academy Press; 1999.
5. Boo-Chai K. The complications of augmentation mammoplasty by silicone injection. *Br J Plast Surg*. 1969;22(3):281-5.
6. Ortiz-Monasterio F, Trigoso I. Management of patients with complications from injections of foreign materials into the breast. *Plast Reconstr Surg*. 1972;50(1):42-7.
7. Longacre JJ. Correction of the hypoplastic breast with special reference to reconstruction of the "nipple type breast" with local dermo-fat pedicle flaps. *Plast Reconstr Surg*. 1954;14(6):431-41.
8. Cronin TD, Gerow FJ, editors. *Augmentation mammoplasty: a new "natural feel" prosthesis*. In: 3rd International Congress of Plastic Surgery; 1963 Oct 13-18; Amsterdam: Excerpta Medica Foundation; 1963.
9. Blount A, Martin M, Lindberry K, Kyle D, Kettaneh N, Alfonso D. Capsular contracture rate in low-risk population after primary augmentation mammoplasty. *Aesthetic Surg J*. 2013;33(4):516-21.
10. Araco A, Gravante G, Araco F, Delogu D, Cervelli V, Walgenbach K. A retrospective analysis of 3000 primary aesthetic breast augmentations: postoperative complications and associated factors. *Aesthetic Plast Surg*. 2007;31(5):532-9.
11. Handel N, Cordray T, Gutierrez J, Jensen JA. A long term study of outcomes, complications and patient satisfaction with breast implants. *Plast Reconstr Surg*. 2006;117(3):757-67.
12. Deva AK, Adams WP Jr, Vickery K. The role of bacterial biofilms in device-associated infection. *Plast Reconstr Surg*. 2013;132(5):1319-28.
13. Vickery K, Hu H, Jacombs AS, Bradshaw DA, Deva AK. A review of bacterial biofilms and their role in device-associated infection. *Healthc Infect*. 2013;18(2):61-6.

14. Horsnell JD, Searle AE, Harris PA. Intra-operative techniques to reduce the risk of capsular contracture in patients undergoing aesthetic breast augmentation: a review. *Surgeon*. 2017;15(5):282-9.
15. Incidencija i mortalitet od raka u centralnoj Srbiji 2004. Registar za rak u centralnoj Srbiji. Beograd: Insititut za zaštitu zdravlja Srbije "Milan Jovanović Batut"; 2008.
16. Bland K, Klimberg S, Copeland EM. Halsted radical mastectomy. *Breast*. 2018;2:422-42.
17. Toth BA, Lappert P. Modified skin incisions for mastectomy: the need for plastic surgical input in preoperative planning. *Plast Reconstr Surg*. 1991;87(6):1048-53.
18. Jones C, Lancaster R. Evolution of operative technique for mastectomy. *Surg Clin North Am*. 2018;98(4):835-44.
19. Prantl L, Schreml S, Fichtner-Feigl S, Pöppel N, Eisenmann-Klein M, Schwarze H, et al. Clinical and morphological condition in capsular contracture formed around silicone breast implants. *Plast Reconstr Surg*. 2007;120(1):275-84.
20. Baker JL, Chandler ML, LeVier RR. Occurrence and the activity of myofibroblasts in human capsular tissue surrounding mammary implants. *Plast Reconstr Surg*. 1981;68(6):905-12.
21. Stevens WG, Nahabedian MY, Calobrace MB, Harrington JL, Capizzi PJ, Cohen R, et al. Risk factor analysis for capsular contracture: a 5 year Sientra study analysis using round, smooth and textured implants for breast augmentation. *Plast Reconstr Surg*. 2013;132(5):1115-23.
22. Dancy A, Nassimizadeh A, Levick P. Capsular contracture - what are the risk factors? A 14 year series of 1400 consecutive augmentations. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2012;65(2):213-8.
23. Virden CP, Dobke MK, Stein P, Parsons CL, Frank DH. Subclinical infection of the silicone breast implant surface as a possible cause of capsular contracture. *Aesthetic Plast Surg*. 1992;16(2):173-9.
24. Lossing C, Hansson HA. Peptide growth factors and myofibroblasts in capsules around human breast implants. *Plast Reconstr Surg*. 1993;91(7):1277-86.
25. Segreto F, Carotti S, Marangi GF, Tosi D, Ziganriello M, Pendolino AL, et al. The role of angiogenesis, inflammation and estrogen receptors in breast implant capsules development and remodeling. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2018;71(5):637-43.
26. Headon H, Kasem A, Mokbel K. Capsular contracture after breast augmentation: an update for clinical practice. *Arch Plast Surg*. 2015;42(5):532-43.
27. Dempsy WC, Latham WD. Subpectoral implants in augmentation mammoplasty. *Plast Reconstr Surg*. 1968;42(6):515-21.
28. Henriksen TF, Fryzek JP, Hölmich LR, McLaughlin JK, Kjølner K, Høyer AP, et al. Surgical intervention and capsular contracture after breast augmentation: a prospective study of risk factors. *Ann Plast Surg*. 2005;54(4):343-51.

29. Collis N, Coleman D, Foo IT, Sharpe DT. Ten-year review of a prospective randomized controlled trial of the textured versus smooth subglandular silicone gel breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 2000;106(4):786-91.
30. Wiener TC. Relationship of incision choice to capsular contracture. *Aesthetic Plast Surg.* 2008;32(2):303-6.
31. Heden P, Jernbeck J, Hober M. Breast augmentation with anatomical cohesive gel implants. *Clin Plast Surg.* 2001;28(3):531-52.
32. Adams WP, Rios JL, Smith SJ. Enhancing patients outcomes in aesthetic and reconstructive breast surgery using triple antibiotic breast irrigation: six-year prospective clinical study. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(1):30-6.
33. Cunningham B. The mentor core study on silicone MemoryGel breast implants. *Plast Reconstr Surg.* 2007;120(7 Suppl 1):S19-29.
34. Shin D, Minn KW. The effect of myofibroblast on contracture of hypertrophic scar. *Plast Reconstr Surg.* 2004;113(2):633-40.
35. El-Diwany M, Giot JP, Hebert MJ, Danino AM. Delaying implant-based mammary reconstruction after radiotherapy does not decrease capsular contracture: an in vitro study. *J Plast Reconstr Aesth Surg.* 2017;70(9):1210-7.
36. Berbers J, van Baardwijk A, Houben R, Heuts E, Smidt M, Keymeulen K, et al. Reconstruction: before or after postmastectomy radiotherapy? A systemic review of the literature. *Eur J Cancer.* 2014;50(16):2752-62.
37. Persichetti P, Segreto F, Carotti S, Marangi GF, Tosi D, Morini S. Oestrogen receptor- alpha and – beta expression in breast implant capsules: experimental findings and clinical correlates. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2014;67(3):308-15.
38. Baker JL Jr, Bartels RJ, Douglas WM. Closed compression technique for rupturing a contracted capsule around breast implant. *Plast Reconstr Surg.* 1976;58(2):137-41.
39. Spear SL, Baker JL Jr. Classification of capsular contracture after prosthetic breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 1995;96(5):1119-23.
40. Malahias M, Jordan DJ, Hughues LC, Hindocha S, Juma A. A literature review and summary of capsular contracture: an ongoing challenge to breast surgeons and their patients. *Inter J Surg Open.* 2016;3:1-7.
41. Groczyca DP. MR imaging of breast implants. *Magn Reson Imaging Clin N Am.* 1994;2(4):659-72.
42. Paetau AA, McLaughlin SA, Mc Neil RB, Sternberg E, TerKonda SP, Waldarf JC, et al. Capsular contracture and possible implant rupture: is magnetic resonance imaging useful? *Plast Reconstr Surg.* 2010;125(3):830-5.
43. Araco A, Caruso R, Araco F, Overton J, Gravante G. Capsular contractures: a systematic review. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124(6):1808-19.

44. Tamboto H, Vickery K, Deva AK. Subclinical (biofilm) infection causes capsular contracture in a porcine model following augmentation mammoplasty. *Plast Reconstr Surg.* 2010;126(3):835-42.
45. Gancedo M, Ruiz Corro L, Salazar-Montres A, Rincon AR, Armendariz-Borunda. Pirfenidone prevents capsular contracture after mammary implantation. *Aesthetic Plast Surg.* 2008;32(1):32-40.
46. Schlesinger SL, Ellenbogen R, Desvigne MN, Svehlak S, Heck R. Zafirlukast (Accolate): a new treatment for capsular contracture. *Aesth Surg J.* 2002;22(4):329-36.
47. Caffee HH, Rotatori DS. Intracapsular injection of triamcinolone for prevention of contracture. *Plast Reconstr Surg.* 1993;92(6):1073-7.
48. Caffee HH. Capsule injection for the prevention of contracture. *Plast Reconstr Surg.* 2002;110(5):1325-8.
49. Oneal RM, Argenta LC. Late side effects related to inflatable breast prostheses containing soluble steroids. *Plast Reconstr Surg.* 1982;69(4):641-5.
50. Embrey M, Adams EE, Cunningham B, Peters W, Young VL, Carlo GL. A review of literature on the etiology of capsular contracture and a pilot study to determine the outcome of capsular contracture internotions. *Aesthetic Plast Surg.* 1999;23(3):197-206.
51. Ye X, Shokrollahi K, Rozen WM, Conyers R, Wright P, Kenner L, et al. Anaplastic large cell lymphoma (ALCL) and breast implants: breaking down the evidence. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2014;762:123-32.
52. National Cancer Institute [homepage on the Internet]. General Information about Adult Non-Hodgkin Lymphoma [cited 2014 Jul 5]. Available from: <https://www.cancer.gov/types/lymphoma/patient/adult-nhl-treatment-pdq>
53. Validire P, Capovilla M, Asselain B, Kirova Y, Goudefroye R, Plancher C, et al. Primary breast non-Hodgkins lymphoma: a large single center study of initial characteristics, natural history and prognostic factors. *Am J Hematol.* 2009;84(3):133-9.
54. de Jong D, Vasmel WL, de Boer JP, Verhave G, Barbé E, Casparie MK, et al. Anaplastic large-cell lymphoma in women with breast implants. *JAMA.* 2008;300(17):2030-5.
55. Doren EL, Miranda RN, Selber JC, Garvey PB, Liu J, Medeiros LJ, et al. United States epidemiology of breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma. *Plast Reconstr Surg.* 2017;139(5):1042-50.
56. Miranda RN, Aladily TN, Prince HM, Kanagal-Shamanna R, de Jong D, Fayad LE, et al. Breast implant associated anaplastic large cell lymphoma: long-term follow-up of 60 patients. *J Clin Oncol.* 2014;32(2):114-20.
57. Keech JA Jr, Creech BJ. Anaplastic T-cell lymphoma in proximity to a saline-filled breast implant. *Plast Reconstr Surg.* 1997;100(2):554-5.

-
58. Lazzeri D, Adostino T, Bocci G, Giannotti G, Fanelli G, Naccarato AG, et al. ALK-1-negative anaplastic large cell lymphoma associated with breast implants: a new clinical entity. *Clin Breast Cancer*. 2011;11(5):283-96.
59. Brody GS, Deapen D, Taylor CR, Pinter-Brown L, House-Lightner SR, Andersen JS, et al. Anaplastic large cell lymphoma occurring in women with breast implants: analysis of 173 cases. *Plast Reconstr Surg*. 2015;135(3):695-705.
60. Srinivasa DR, Miranda RN, Kaura A, Francis AM, Campanale A, Boldrini R, et al. Global adverse event reports of breast implant-associated ALCL: An International Review of 40 Government Authority Databases. *Plast Reconstr Surg*. 2017;139(5):1029-39.
61. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C. 7th ed. TNM classification of malignant tumours. Chichester, West Sussex, UK: Wiley-Blackwell; 2010. p. 309.
62. Kaartinen I, Sunela K, Alanko J, Hukkinen K, Karjalainen-Lindsberg ML, Svarar C. Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma-from diagnosis to treatment. *Eur J Surg Oncol*. 2017;43(8):1385-92.
63. Jacombs A, Tahir S, Hu H, Deva AK, Almatroudi A, Wessels WL, et al. In vitro and in vivo investigation of the influence of implant surface on the formation of bacterial biofilm in mammary implants. *Plast Reconstr Surg*. 2014;133(4):471-80.
64. Hu H, Johani K, Almatroudi A, Vickery K, van Natta B, Kadin ME, et al. Bacterial biofilm infection detected in breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma. *Plast Reconstr Surg*. 2016;137(6):1659-69.
65. Laurent C, Delas A, Gaulard P. Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma: two distinct clinicopathological variants with different outcomes. *Ann Oncol*. 2016;27(2):306-14.
66. Gidengil CA, Predmore Z, Mattke S, van Busun K, Kim B. Breast-implant associated anaplastic large cell lymphoma: a systemic review. *Plast Reconstr Surg*. 2015;135(3):713-20.
67. Ferreri AJ, Govi S, Pileri SA, Savage KJ. Anaplastic large cell lymphoma, ALK negative. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013;85(2):206-15.
68. Kim B, Roth C, Chung KC, Young VL, van Busum K, Schnyer C, et al. Anaplastic large cell lymphoma and the breast implants: a systemic review. *Plast Reconstr Surg*. 2011;127(6):2141-50.
69. Clemens MW, Miranda RN. Coming of age: breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma after 18 years of investigation. *Clin Plast Surg*. 2015;42(4):605-13.
70. Brody GS. Silicone technology for the plastic surgeon. *Clin Plast Surg*. 1988;15(4):517-20.
71. Thomsen JL, Christensen L, Nielsen M, Brandt B, Breiting VB, Felby S, et al. Histologic changes and silicone concentrations in human breast tissue surrounding silicon breast prostheses. *Plast Reconstr Surg*. 1990;85(1):38-41.

-
72. Baeke JL. Breast deformity caused by anatomical or teardrop implant rotation. *Plast Reconstr Surg.* 2002;109(7):2555-67.
73. Maxwell GP, Scheflan M, Spear S, Nava MB, Heden P. Benefits and limitations of macrot textured breast implants and consensus recommendations for optimizing their effectiveness. *Aesthet Surg J.* 2014;34(6):876-81.
74. Barr S, Hill EW, Bayat A. Development, fabrication and evaluation of a novel biomimetic human breast tissue derived breast implant surface. *Acta Biomater.* 2017;49:260-71.
75. Barr S, Hill EW, Bayat A. Functional biocompatibility testing of silicone breast implants and a novel classification system based on surface roughness. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2017;75:75-81.
76. Ashley FL. A new type of breast prosthesis. Preliminary report. *Plast Reconstr Surg.* 1970;45(5):421-4.
77. Vasques G, Pellon A. Polyurethane-coated silicone gel breast implants used for 18 years. *Aesthetic Plast Surg.* 2007;31(4):330-6.
78. Hester TR Jr, Cukic J. Use of stacked polyurethane-covered mammary implants in aesthetic and reconstructive breast surgery. *Plast Reconstr Surg.* 1991;88(3):503-9.
79. Hester Tr Jr, Nahai F, Bostwick J, Cukic J. A 5-year experience with polyurethane-covered mammary prostheses for treatment of capsular contracture, primary augmentation mammoplasty and breast reconstruction. *Clin Plast Surg.* 1988;15(4):569-85.
80. Middleton MS. Magnetic resonance evaluation of breast implants and soft tissue silicone. *Top Magn Reson Imaging.* 1998;9(2):92-137.
81. Bondurant S, Ernster V, Herdman R. Safety of silicone breast implants. Washington, DC: National Academy Press; 1999.
82. Arion HG. Presentation d'une prothese retro mammaire. *J Soc Fr Gynecol.* 1965;2:5-9.
83. Williams JE. Experiences with Arion' simaplast inflatable prosthesis. *Southern Med J.* 1969;49:253-60.
84. Peters W. The history of biomaterials used for breast augmentation. In: Peters W, Brandon H, Jerina KL, Wolf C, Young VL, editors. *Biomaterials in plastic surgery.* Philadelphia PA, USA: Woodhead Publishing; 2012. p. 1-39.
85. Siggelkow W, Faridi A, Spiritus K, Klinge U, Rath W, Klosterhalfen B. Histological analysis of silicone breast implant capsules and correlation with capsular contracture. *Biomaterials.* 2003;24(6):1101-9.
86. Copeland D, Choi M, Bleiweiss IJ. Silicone breakdown and capsular synovial metaplasia in textured-wall saline breast prostheses. *Plast Reconstr Surg.* 1994;94(5):628-33.
87. Yoshida SH, Swan S, Teuber SS, Gershwin ME. Silicone breast implants: immunotoxic and epidemiologic issues. *Life Sci.* 1995;56(16):1299-310.

88. Wolfram D, Rabensteiner E, Grundtman C, Böck G, Mayerl C, Parson W, et al. T regulatory cells and TH17 cells in peri-silicone implant capsular fibrosis. *Plast Reconstr Surg.* 2012;129(2):e327-37.
89. Fenoglio I, Fubini B, Ghibaudi EM, Turci F. Multiple aspects of the interaction of biomacromolecules with inorganic surfaces. *Adv Drug Deliv Rev.* 2011;63(13):1186-209.
90. Abramo AC, De Oliveira VR, Ledo-Silva MC, De Oliveira EL. How texture-inducing contraction vectors affect the fibrous capsule shrinkage around breast implants? *Aesthetic Plast Surg.* 2010;34(5):555-60.
91. Barsnley GP, Sigurdson LJ, Barnsley SE. Textured surface breast implants in the prevention of capsular contracture among breast augmentation patients: a meta analysis of randomized controlled trials. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(7):2182-90.
92. Wong CH, Samuel M, Tan BK, Song C. Capsular contracture in subglandular breast augmentation with textured versus smooth breast implants: a systemic review. *Plast Reconstr Surg.* 2006;118(5):1224-36.
93. Hakelius L, Ohlsen L. A clinical comparison of the tendency to capsular contracture between smooth and textured gel-filled silicon mammary implants. *Plast Reconstr Surg.* 1992;90(2):247-54.
94. Bucky LP, Ehrlich HP, Sohoni S, May JW Jr. The capsule quality of saline filled smooth silicone, textured silicone and polyurethane implants in rabbits: a long-term study. *Plast Reconstr Surg.* 1994;93(6):1123-31.
95. Maxwell GP, Brown MH, Oefelein MG, Kaplan HM, Heden P. Clinical considerations regarding the risks and the benefits of textured surface implants and double capsule. *Plast Reconstr Surg.* 2011;128(2):593-5.
96. Neethirajan S, Clond MA, Vogt A. Medical biofilms: nanotechnology approaches. *J Biomed Nanotechnol.* 2014;10(10):2806-27.
97. Ledwoch K, Dancer SJ, Otter JA, Kerr K, Roposte D, Rushton L, et al. Beware biofilm! Dry biofilms containing bacterial pathogens on multiple healthcare surfaces; a multi-centre study. *J Hosp Infect.* 2018;100(3):e47-56.
98. Kumar A, Alam A, Rani M, Ehtesham NZ, Hasnian SE. Biofilms: survival and defence strategy for pathogens. *Int J Med Microbiol.* 2017;307(8):481-9.
99. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol.* 1995;49:711-45.
100. Jamal M, Ahmad W, Andleeb S, Jalil F, Imran M, Nawaz MA, et al. Bacterial biofilm and associated infections. *J Chin Med Assoc.* 2018;81(1):7-11.
101. Wi YM, Patel R. Understanding biofilms and novel approaches to the diagnosis, prevention and treatment of medical device-associated infections. *Infect Dis Clin North Am.* 2018;32(4):915-29.
102. Koo H, Allan RN, Howlin RP. Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies. *Nat Rev Microbiol.* 2017;15(12):740-55.

-
103. Vergidis P, Greenwood-Quaintance KE, Sanchez-Sotelo J, Morrey BF, Steinmann SP, Karau MJ, et al. Implant sonication for the diagnosis of prosthetic elbow infection. *J Shoulder Elbow Surg.* 2011;20(8):1275-81.
104. Arnold JW, Baily GW. Surface finishes on stainless steel reduce bacterial attachment and early biofilm formation: Scanning electron and atomic force microscopy study. *Poult Sci.* 2000;79(12):1839-45.
105. Myint AA, Lee W, Mun S, Ahn CH, Lee S, Yoon J. Influence of membrane surface properties on the behavior of initial bacterial adhesion and biofilm development onto nanofiltration membranes. *Biofouling.* 2010;26(3):313-21.
106. Khoury AE, Lam K, Ellis B, Costerton JW. Prevention and control of bacterial infections associated with medical devices. *ASAIO J.* 1992;38(3):M174-8.
107. Thuptimdang P, Limpiyakorn T, McEvoy J, Prüß BM, Khan E. Effect of silver nanoparticles on *Pseudomonas putida* biofilms at the different stages of maturity. *J Hazard Mater.* 2015;290:127-33.
108. Høiby N. A personal history or research on microbial biofilms and biofilm infections. *Pathog Dis.* 2014;70(3):205-11.
109. Macià MD, Del Pozo JL, Díez-Aguilar M, Guinea J. Microbiological diagnosis of biofilm-related infections. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2018;36(6):375-81.
110. Lebaux D, Chauhan A, Rendueles O, Beloin C. From in vitro to in vivo models of bacterial biofilm-related infections. *Pathogens.* 2013;2(2):288-356.
111. Gomez E, Cazanave C, Cunningham SA, Greenwood-Quaintance KE, Steckelberg JM, Uhl JR, et al. Prosthetic joint infection diagnosis using broad-range PCR of biofilms dislodged from knee and hip arthroplasty surfaces using sonication. *J Clin Microbiol.* 2012;50(11):3501-8.
112. Osmani Bojd M, Kamaladini H, Haddadi F, Vaseghi A. Thiolated AuNP probes and multiplex PCR for molecular detection of *Staphylococcus epidermidis*. *Mol Cell Probes.* 2017;34:30-6.
113. Stoodley P, Kathju S, Hu FZ, Erdos G, Levenson JE, Mehta N, et al. Molecular and imaging techniques for bacterial biofilms in joint arthroplasty infections. *Clin Orthop Relat Res.* 2005;(437):31-40.
114. Cheesa D, Ganau G, Spiga L, Bulla A, Mazzarello V, Campus GV, et al. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* virulence strains as causative agents of persistent infection in breast implants. *PloS One.* 2016;11(1):e0146668.
115. Pajkos A, Deva AK, Vickery K, Cope C, Chang L, Cossart YE. Detection of subclinical infection in significant breast implant capsules. *Plast Reconstr Surg.* 2003;111(5):1605-11.
116. Seng P, Bayle S, Alliez A, Romain F, Casanova D, Stein A. The microbial epidemiology of breast implant infections in regional referral centre for plastic and reconstructive surgery in the south of France. *Int J Infect Dis.* 2015;35:62-6.

117. Rieger UM, Mesina J, Kalbermatten DF, Haug M, Frey HP, Pico R, et al. Bacterial biofilms and capsular contracture in patients with breast implants. *Br J Surg.* 2013;100(6):768-74.
118. Otto M. Staphylococcal biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2008;322:207-28.
119. Thornton JW, Argenta LC, McClatchey KD, Marks MW. Studies on the endogenous flora of the human breast. *Ann Plast Surg.* 1988;20(1):39-42.
120. Fey PD, Olson ME. Current concepts in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. *Future Microbiol.* 2010;5(6):917-33.
121. Beenken KE, Specer H, Griffin LM, Smeltzer MS. Impact of extracellular nuclease production on the biofilm phenotype of *Staphylococcus aureus* under in vitro and in vivo conditions. *Infect Immun.* 2012;80(5):1634-8.
122. Zago CE, Silva S, Sanitá PV, Barbugli PA, Dias CM, Lordello VB, et al. Dynamics of biofilm formation and the interaction between *Candida albicans* and methicillin-susceptible (MSSA) and -resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *PLoS One.* 2015;10(4):e0123206.
123. Ziebuhr W. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*: emerging pathogens in nosocomial infections. *Contrib Microbiol.* 2001;8:102-7.
124. Achermann Y, Goldstein EJC, Coenye T, Shirtliff ME. *Propionibacterium acnes*: from commensal to opportunistic biofilm-associated implant pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27(3):419-40.
125. Johnston DH, Fairclough JA, Brown EM, Morris R. Rate of bacterial recolonization of the skin after preparation: four methods compared. *Br J Surg.* 1987;74(1):64.
126. Azam MW, Khan AU. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug Discov Today.* In press. DOI: 10.1016/j.drudis.2018.07.003.
127. Pang Z, Raudonis R, Glick B, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv.* 2019;37(1):177-92.
128. Zhang Y, Qiu S. Phylogenomic analysis of the genus *Ralstonia* based on 686 single-copy genes. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2016;109(1):71-82.
129. Stelzmueller I, Biebl M, Wiesmayr S, Eller M, Hoeller E, Fille M, et al. *Ralstonia pickettii* - innocent bystander or a potential threat? *Clin Microbiol Infect.* 2006;12(2):99-101.
130. Moreira BM, Leobons MB, Pellegrino FL, Santos M, Teixeira LM, de Andrade Marques E, et al. *Ralstonia pickettii* and *Burkholderia cepacia* complex bloodstream infections related to infusion of contaminated water for injection. *J Hosp Infect.* 2005;60(1):51-5.
131. Burkhardt BR, Fried M, Schnur PL, Tofield JJ. Capsules, infection and intraluminal antibiotics. *Plast Reconstr Surg.* 1981;68(1):43-9.

-
132. Van Heerden J, Turner M, Hoffmann D, Moolman J. Antimicrobial coating agents: can biofilm formation on a breast implant be prevented? *J Plast Reconstr Aesth Surg.* 2009;62(5):610-7.
133. Del Pozo JL, Tran NV, Petty PM. Pilot study of association of bacteria on breast implants with capsular contracture. *J Clin Microbiol.* 2009;47(5):1333-7.
134. Dobke M, Svahn J, Vastine V, Landon B, Stein P, Parsons C. Characterisation of microbial presence at the surface of the silicone mammary implants. *Ann Plast Surg.* 1995;34(6):563-9.
135. Netscher DT. Subclinical infection as a possible cause of significant breast capsules. *Plast Reconstr Surg.* 2004;113(7):2229-30.
136. Kyle DJ, Harvey AG, Shih B, Tan KT, Chaudhry IH, Bayat A. Identification of molecular phenotypic descriptors of breast capsular contracture formation using informatics analysis of the whole genome transcriptome. *Wound Repair Regen.* 2013;21(5):762-9.
137. Bachour Y, Verweij SP, Gibbs S, Ket JCF, Ritt MJPF, Niesses FB, et al. The aetiopathogenesis of capsular contracture: a systematic review of the literature. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2018;71(3):307-17.
138. Wixtrom RN, Stutman RL, Burke RM, Mahoney AK, Codner MA. Risk of breast implant bacterial contamination from endogenous breast flora, prevention with nipple shields and implications for biofilm formation. *Aesthet Surg J.* 2012;32(8):956-63.
139. Wang HP, Zhu YL, Shao W. Role of *Helicobacter pylori* virulence factor cytotoxin-associated gene A in gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *World J Gastroenterol.* 2013;19(45):8219-26.
140. George EV, Pharm J, Houston C, Al-Quran S, Brian G, Dong H, et al. Breast implant-associated ALK-negative anaplastic large cell lymphoma: a case report and discussion of possible pathogenesis. *Int J Clin Exp Pathol.* 2013;6(8):1631-42.
141. Taylor CR, Siddiqi IN, Brody GS. Anaplastic large cell lymphoma occurring in association with breast implants: Review of pathologic and immunohistochemical features in 103 cases. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2013;21(1):13-20.
142. Adams WP. Discussion: Subclinical (biofilm) infection causes capsular contracture in a porcine model following augmentation mammoplasty. *Plast Reconstr Surg.* 2010;126(3):843-4.
143. Danino MA, Nizard N, Paek LS, Govshievich A, Giot JP. Do bacteria and biofilm play a role in double capsule formation around macrot textured implants? *Plast Reconstr Surg.* 2017;140(5):878-83.
144. Deva AK, Adams WP Jr, Vickery K. The role of bacterial biofilms in device-associated infection. *Plast Reconstr Surg.* 2013;132(5):1319-28.
145. Wiener TC. The role of betadine irrigation in breast augmentation. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119(1):12-5.

-
146. Pfeiffer P, Jørgensen S, Kristiansen TB, Jørgensen A, Holmich LR. Protective effect of topical antibiotics in breast augmentation. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124(2):629-34.
147. Blount AL, Martin MD, Lineberry KD, Kettaneh N, Alfonso DR. Capsular contracture rate in low-risk population after primary augmentation mammoplasty. *Aesthet Surg J.* 2013;33(4):516-21.
148. Giordano S, Peltoniemi H, Lillius P, Salmi A. Povidone-iodine combined with antibiotic topical irrigation to reduce capsular contracture in cosmetic breast augmentation: a comparative study. *Aesthet Surg J.* 2013;33(5):675-80.
149. Adams WP Jr, Rios JL, Smith SJ. Enhancing patient outcomes in aesthetic and reconstructive breast surgery using triple antibiotic breast irrigation: six-year prospective clinical study. *Plast Reconstr Surg.* 2006;118(7 Suppl):S46-52.
150. Drinane JJ, Bergman RS, Folkers BL, Kortes MJ. Revisiting triple antibiotic irrigation of the breast implant pockets: a placebo-controlled single practice cohort study. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2013;1(7):e55.
151. Houang ET, Gilmore OJ, Reid C. Absence of bacterial resistance to povidone iodine. *J Clin Pathol.* 1976;29(8):752-5.
152. Furukawa K, Ogawa R, Norose Y, Tajiri T. A new surgical handwashing and hand antisepsis from scrubbing to rubbing. *J Nippon Med Sch.* 2004;71(3):190-7.
153. Messenger S, Goddard PA, Dettmar PW, Millard JY. Comparison of two in vivo and two ex vivo tests to assess the antibacterial activity of several antiseptics. *J Hosp Infect.* 2004;58(2):115-21.
154. Benevento WJ, Murray P, Reed CA, Pepose JS. The sensitivity of *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamidia trachomatis*, and herpes simplex type II to disinfection with povidone-iodine. *Am J Ophthalmol.* 1990;109(3):329-33.
155. Lachapelle JM. Allergic contact dermatitis from povidone-iodine: a re-evaluation study. *Contact Dermatitis.* 2005;52(1):9-10.
156. Chou S, Lin C, Chang S. Povidone-iodine application induces corneal cell death through fixation. *Br J Ophthalmol.* 2011;95(2):277-83.
157. Hübner NO, Siebert J, Kramer A. Octenidine dihydrochloride, a modern antiseptic of skin, mucous membranes and wounds. *Skin Pharmacol Physiol.* 2010;23(5):244-58.
158. Golightly LK, Branigan T. Surgical antibiotic irrigations. *Hosp Pharm.* 1989;24(2):116-9.
159. Roth RM, Gleckman RA, Gantz NM, Kelly N. Antibiotic irrigations. A plea for controlled clinical trials. *Pharmacotherapy.* 1985;5(4):222-7.
160. Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Savic B, Svabic-Vlahovic M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods.* 2000;40 (2):175-9.

-
161. Burnett GW, Meisner J, Hyman JB, Levin EJ. Bacitracin irrigation leading to anaphylaxis and cardiovascular collapse in the ambulatory surgery center settings. *J Clin Anesth.* 2018;46:35-6.
162. Berry MG, Cucchiara V, Davies DM. Breast augmentation: Part II – adverse capsular contracture. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63(12):2098-107.
163. Sanger JR, Sheth NK, Franson TR. Adherence of microorganisms to breast prostheses: an in vitro study. *Ann Plast Surg.* 1989;22(4):337-42.
164. Bergmann PA, Tamouridis G, Lohmeyer JA, Mauss KL, Becker B, Knobloch J, et al. The effect of a bacterial contamination on the formation of capsular contracture with polyurethane breast implants in comparison with textured implants: an animal study. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2014;67(10):1364-70.
165. Pavithra D, Doble M. Biofilm formation, bacterial adhesion and host response on polymeric implants: issues and prevention. *Biomed Mater.* 2008;3(3):034003.
166. De Prijck K, De Smet N, Coenye T, Schacht E, Nelis HJ. Prevention of *Candida albicans* biofilm formation by covalently bound dimethylaminoethylmethacrylate and polyethylenamine. *Mycopathologia.* 2010;170(4):213-21.
167. Junka A, Bartoszewicz M, Smutnicka D, Secewicz A, Szymczyk P. Efficacy of antiseptics containing povidone-iodine, octenidine dihydrochloride and thiacridine lactate against biofilm formed by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* measured with novel biofilm-oriented antiseptics test. *Int Wound J.* 2014;11(6):730-4.
168. Atlan M, Bigerelle M, Larreta-Garde V, Hindie M, Heden P. Characterisation of breast implant surfaces, shapes and biomechanics: a comparison of high cohesive anatomically shaped textured silicone, breast implants from three different manufacturers. *Aesthetic Plast Surg.* 2016;40(1):89-97.
169. Schmitz M, Schubert DW, Kaschta J, Daenicke J, Walter BL, Horch RE. Is short term intraoperative application of disinfectants harmful to breast implants in breast reconstruction? An experimental study and literature survey. *J Mechan Behav Biomed Material.* 2019;90:264-268.
170. Scheuerman TR, Camper AK, Hamilton MA. Effects of substratum topography on bacterial adhesion. *J Colloid Interface Sci.* 1998;208(1):23-33.
171. Lampin M, Warocquier-Clérout, Legris C, Degrange M, Sigot-Luizard MF. Correlation between substratum roughness and wettability, cell adhesion, and cell migration. *J Biomed Mater Res.* 1997;36(1):99-108.