

Teresa Koblik

Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Jagielloński, *Collegium Medicum* w Krakowie

Zespół stopy cukrzycowej. Trudno gojące się i przewlekłe rany — istotny problem medyczny

Diabetic food syndrome. Chronic nonhealing wounds — an important clinical problem

STRESZCZENIE

Zarówno Europejskie Towarzystwo Leczenia Ran, Europejska Grupa Robocza ds. Stopy Cukrzycowej oraz Polskie Towarzystwo Diabetologiczne opracowały standardy i zalecenia dotyczące terapii stopy cukrzycowej. Mimo postępu wiedzy o ranach przewlekłych i stosowania nowych technik leczniczych pewna liczba ran pozostaje niewygojona, spełniając kryteria rany przewlekłej. Najistotniejszym czynnikiem utrudniającym gojenie ran, jak i stanowiącym zagrożenie kończyny dolnej amputacją jest obecność infekcji rany. W niniejszej pracy omówiono czynniki sprzyjające infekcji ran, mechanizmy wpływające na patogenność szczepów bakteryjnych, rodzaje reakcji bakteria-gospodarz. Opisano także obraz kliniczny zainfekowanej stopy cukrzycowej oraz cechy kliniczne pozwalające na ocenę stopnia zakażenia. Dyskusyjnymi problemami pozostają zarówno wiarygodność posiewów z rany, jak i miejscowe stosowanie antybiotyków. Natomiast coraz bardziej oczywiste stają się korzyści ze stosowania antyseptycznych opatrunków zawierających sole srebra lub jodu. Podano również ogólne zasady leczenia przeciwbakteryjnego.

Słowa kluczowe: stopa cukrzycowa, rana przewlekła, infekcja

Adres do korespondencji: dr med. Teresa Koblik
Katedra i Klinika Chorób Metabolicznych
Uniwersytet Jagielloński, *Collegium Medicum*
ul. Kopernika 15, 31-501 Kraków
Diabetologia Praktyczna 2007, tom 8, 1, 22-27
Copyright © 2007 Via Medica
Nadesłano: 02.01.2007 Przyjęto do druku: 25.01.2007

ABSTRACT

The European Wound Association, European Working Group on the Diabetic Foot and Polish Diabetology Society established the guidelines for the diagnosis and treatment of diabetic foot. Despite the growth of our knowledge of wounds and new ways of treatment some wounds remain unhealed fulfilling the criteria of a chronic wound. Wound infection is the most important factor delaying healing process and placing the patient at increased risk of lower limb amputation. The present paper reviews factors leading to wound infection, mechanisms of the pathogenicity of bacterial strains and types of bacteria-host interactions, clinical manifestations of the infected diabetic foot and clinical signs to assess the severity of infection. The reliability of wound culture results and use of topical antibiotic treatment are still controversial issues. In contrast, silver salts and iodine containing antiseptic dressings appear to be of unquestionable value. The paper provides also general principles of antibacterial treatment.

Key words: diabetic foot, chronic wound, infection

Istnieją metody i standardy leczenia zespołu stopy cukrzycowej. Rany w jego przebiegu zaliczono do tak zwanych ran przewlekłych. Propozycje leczenia tych ran przedstawiły: Europejskie Towarzystwo Leczenia Ran, Europejska Grupa Robocza ds. Stopy Cukrzycowej oraz Polskie Towarzystwo Diabetologii w swoich corocznych zaleceniach [1, 2].

Mimo postępu wiedzy, nowych, coraz bardziej skomplikowanych i „wymyślonych” metod leczenia wciąż istnieją trudności w gojeniu pewnych ran, które przez wiele miesięcy, a nawet lat pozostają niezagojone.

Na podstawie obecnego stanu badań dotyczących ran przewlekłych można stwierdzić, że nowe systemy lecznicze nie są w pełni skuteczne. Za przyczynę niepowodzeń w terapii ran przewlekłych coraz powszechniej uważa się fakt nieuwzględniania mechanizmów patofizjologicznych uszkodzeń skóry. Dlatego poszukiwania nowej strategii leczenia ran dotyczą lepszego zrozumienia uszkodzeń skóry i terapii uwzględniającej mechanizmy patofizjologiczne.

Obecnie wyróżnia się następujące rodzaje ran:

- rana ostra — gojenie przez rychłozrost;
- rana ostra — gojenie przez ziarninowanie;
- owrzodzenie tętnicze kończyn dolnych;
- owrzodzenie żylny kończyn dolnych;
- odleżyny;
- oparzenia powierzchowne;
- oparzenia głębokie;
- stopa cukrzycowa.

Do czynników wywołujących rany oraz owrzodzenia w przebiegu zespołu stopy cukrzycowej zalicza się: neuropatię, zaburzenia ukrwienia, czynniki mechaniczne i najważniejsze — infekcję. Zakażenie jest najważniejszym czynnikiem ryzyka amputacji kończyny. Dlatego lepsze zrozumienie istoty zakażenia rany pozwoli na skuteczniejszą diagnostykę oraz leczenie.

Zakażenie rany

Zakażenie jest dynamiczną interakcją między gospodarzem, potencjalnym patogenem a środowiskiem. Rozwija się w warunkach osłabienia mechanizmów obronnych gospodarza i w rezultacie wywołuje szkodliwe zmiany. Natomiast chorobę definiuje się jako kliniczny objaw uszkodzenia organizmu w wyniku reakcji gospodarz–patogen.

Skóra jest nie tylko barierą, ale również strukturą zawierającą wrodzone i adaptacyjne systemy nadzoru immunologicznego oraz komórki wartownicze — keratynocyty, mastocyty, komórki Langerhansa, makrofagi, komórki dendryczne, które posiadają receptory dla patogenów. Po związaniu patogenów z tymi komórkami dochodzi do uwolnienia peptydów przeciwbakteryjnych, cytokin i białek chemoaktywnych. Związki zarządzają zachowaniem się lokalnych komórek i uczestniczą w koordynacji immunologicznej [3].

Czynniki sprzyjające rozwojowi infekcji

Istnieje wiele czynników, które sprzyjają rozwojowi infekcji [4]. Należą do nich: wiek (starszy, noworodki), wyniszczenie, cukrzyca, inne zaburzenia odporności, otyłość, złe odżywianie, stres, alkohol, nikotyna, niedokrwienie tkanek.

Patogenność mikroorganizmów

Za patogenność mikroorganizmów uznaje się ich zdolność do wywołania choroby. Proces ten przebiega w następujących etapach:

1. Znalezienie wrażliwego gospodarza;
2. Zdobycie dostępu do odpowiednich tkanek docelowych;
3. Zdolność do pokonania mechanizmów obronnych gospodarza.

Patogenność drobnoustrojów może się zmieniać pod wpływem różnych czynników oraz niższych zmian strukturalnych:

- otoczka bakterii, na przykład *Pseudomonas aeruginosa* i *Klebsiella pneumoniae*, chroni je przed fagocytozą i utrudnia eliminację;
- pili wychodzące z powierzchni komórek (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) ułatwiają przyczepianie się bakterii do docelowych komórek;
- polisacharydy ściany bakterii (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*) ułatwiają przyleganie bakterii do kolagenu macierzy;
- biofilmy w ranie, czyli populacje komórek bakteryjnych zamknięte w warstwie śluzu, utrudniają fagocytozę i powodują antybiotykooporność;
- toksyny produkowane przez bakterie zmieniają ich patogenność;
- mikroorganizmy regulują ekspresję genów kodujących deteminanty zjadliwości. Zjawisko *quorum* wymaga czasami przekroczenia progowej ilości bakterii i dopiero wtedy ujawnia się ekspresja tych genów; od tego momentu powstaje zjawisko zjadliwości bakterii.

Rodzaje interakcji gospodarz–patogen

Bakterie występują w ranie w trzech formach:

- kontaminacji (zanieczyszczenie);
- kolonizacji;
- zakażenia.

Kontaminacja oznacza tymczasową obecność drobnoustrojów w ranie bez ich namnażania. Okres kolonizacji wiąże się z obecnością bakterii w ranie, ich namnażaniem, lecz brakiem wpływu na organizm gospodarza. Za krytyczną kolonizację uznaje się continuum między kolonizacją a zakażeniem. Czasami występuje ono w ranach klinicznie niezakażonych, które, według standardów postępowania terapeutycznego, nie wymagają leczenia antybiotykiem. U chorego z niegojącą się raną przewlekłą, mimo braku klinicznych cech zakażenia, należy jednak zastosować antybiotyk. Rozpoznanie rany przewlekłej sugeruje duże prawdopodobieństwo obecności infekcji (rozrost, namnażanie bakterii w ranie, inwazja ich do tkanek oraz współistnienie reakcji

immunologicznej ze strony gospodarza). W przypadku wystąpienia infekcji gojenie rany jest utrudnione [5].

Należy pamiętać, że zmieniały się poglądy odnośnie do sposobu leczenia ran lub owrzodzeń w przebiegu stopy cukrzycowej. Początkowo stosowano terapię przeciwbakteryjną w każdym przypadku owrzodzenia w przebiegu stopy cukrzycowej. Zmieniały się też poglądy dotyczące długości stosowanej terapii — aż do całkowitego wygojenia owrzodzenia.

Mając jednak świadomość, że rozwój infekcji jest wypadkową patogenności mikroorganizmów i sprawności układu obronnego gospodarza, a interakcja gospodarz–patogen nie zawsze prowadzi do choroby, i że wszystkie rany zawierają mikroorganizmy, lecz nie każda jest zakażona, należało zweryfikować dotychczasowe modele leczenia owrzodzeń. Uwzględniając wspomniane wyżej fakty oraz koszty terapii, działania niepożądane stosowanych leków i antybiotykooporność, powinno się stosować leczenie przeciwbakteryjne tylko w ranach klinicznie zakażonych. Terapię należy stosować aż do ustąpienia klinicznych cech zakażenia. Jednak trudno jednoznacznie określić, jakie cechy decydują o rozpoznaniu owrzodzenia klinicznie zakażonego oraz na ile miarodajne są posiewy z rany u chorego na cukrzycę [6–8].

Ocena zakażenia rany

Do subiektywnych metod oceny ran należą:

- skala ASEPSIS;
- skala Oceny Ran *Southampton*;
- metoda *Delphi*.

Metoda *Delphi* należy już do historycznych narzędzi diagnostycznych — 54 osoby, członkowie wielodyscyplinarnej grupy, opracowali kliniczne cechy obecności zakażenia we wszystkich kategoriach ran. Metoda ta pozwoliła na określenie cech zakażenia wspólnych dla wszystkich kategorii ran oraz mocy diagnostycznej stwierdzanych cech poszczególnych ran (tab. 1, 2) [9].

Kliniczne obrazy zainfekowanej stopy

1. **Cellulitis bez owrzodzenia** — powierzchowny stan zapalny zaczynający się nieznacznym obrzękiem i zaczerwienieniem skóry, na przykład palca.

Tabela 1. Wspólne cechy ran

Naciek zapalny
Nieprzyjemny zapach
Opóźnione gojenie
Pogorszenie stanu rany

Tabela 2. Stopa cukrzycowa — moc diagnostyczna

Moc diagnostyczna	Stan stopy cukrzycowej
Duża	<ul style="list-style-type: none"> • Naciek zapalny • Ropowica • Zapalenie naczyń limfatycznych • Ropny wysięk • Ropień/ropa
Średnia	<ul style="list-style-type: none"> • Trzeszczenie • Rumień • Chełbotanie • Zwiększenie ilości wysięku • Stwardnienie • Ból w stopie generalnie pozbawionej czucia • Nieprzyjemny zapach • Sonda dotykająca kości
Mała	<ul style="list-style-type: none"> • Widoczne kości, ścięgna • Krwawienie • Brak gojenia rany • Pogorszenie stanu rany • Krucha, krwawiąca ziarnina • Obrzęk • Powiększanie się rany, martwicy • Zmiana zabarwienia dna owrzodzenia na kolor żółty lub szary • Rozprzestrzenianie się martwicy/zgorzeli

2. **Stan zapalny tkanek powierzchownych i podskórnych.**
3. **Zainfekowane owrzodzenie:**
 - zaczerwienienie wokół owrzodzenia;
 - zajęcie procesem zapalnym głębszych tkanek;
 - wydzielina z owrzodzenia surowicza, koloru ciemnego lub ropna;
 - charakterystyczny, nieprzyjemny zapach wydzieliny;
 - powiększenie wymiarów owrzodzenia, zarówno wymiaru poprzecznego i podłużnego, jak i głębokości.
4. **Zapalenie kości** — zawsze istnieje takie podejrzenie, jeżeli sonda służąca do inspekcji głębokości owrzodzenia dochodzi do kości. Zapalenie kości najczęściej towarzyszy głębokiemu zainfekowanemu owrzodzeniu. Może również występować przy pozornie mniej zaawansowanych owrzodzeniach. W celu potwierdzenia należy wykonać badanie radiologiczne kości. Zapalenie kości dotyczy najczęściej jej małych fragmentów sąsiadujących

z owrzodzeniem. Okresowo może pojawiać się przetoka, przez którą ewakuuje się treść ropna, po czym następuje samoistne jej zamknięcie. W przewlekłym zapaleniu kości nawet po okresie zamknięcia rany może pozostać obrzęk i zaczerwienienie struktur stopy ponad zajęętą procesem zapalnym kością. Zapalenie kości można leczyć zachowawczo, zwłaszcza gdy jest skuteczna antybiotykoterapia dożylna. Niekiedy jest wskazany zabieg chirurgiczny.

5. **Ropień** — ograniczona zmiana ropna, rzadziej spotykana w zespole stopy cukrzycowej.
6. **Ropowica stopy** — zaawansowany, rozległy stan zapalny, obejmujący procesem wiele struktur stopy, w tym także powięź i ścięgna.
7. **Martwica** — obecność martwej tkanki suchej lub wilgotnej. Martwica jest najczęściej wynikiem infekcji (martwica wilgotna) bądź okluzji naczyń (martwica sucha). U chorych na cukrzycę częściej występuje martwica wilgotna, będąca wynikiem septycznego zapalenia naczyń połączonego z ciężką infekcją tkanek. Pierwszymi objawami martwicy jest nasilenie bólu oraz zmiana zabarwienia skóry w kierunku koloru szaroczarne. Przy makroangiopatii i niedokrwieniu kończyny może dochodzić do powstania martwicy suchej.
8. **Zgorzel** — ciągła martwica skóry i położonych głębiej tkanek (kości, mięśnie), wskazująca na nieodwracalność zmian; nie można wygoić rany i konieczna jest amputacja.

Kliniczne objawy pogorszenia stanu zapalnego

Do klinicznych objawów pogorszenia stanu zapalnego należą [4, 7]:

- nasilenie obrzęku;
- nasilenie wysięku;
- zmiana koloru wysięku, jego przejrzystości;
- obecność nieprzyjemnego zapachu rany;
- pojawienie się rumienia lub zwiększenie jego wymiarów;
- nasilenie bólu — nawet przy obecnej neuropatii;
- obecność gazu w tkankach — występują charakterystyczne trzeszczenia podczas badania palpacyjnego oraz specyficzny obraz w badaniu radiologicznym;
- pogorszenie stanu ogólnego chorego;
- inne cechy stanu zapalnego: podwyższona temperatura, leukocytoza, powiększenie węzłów chłonnych (cechy te obserwuje się najwyżej u 1/2 pacjentów; podwyższona temperatura wskazuje na ciężki lub nawet septyczny stan pacjenta).

Posiewy — pobieranie materiału do badania mikrobiologicznego

Wszystkie rany zawierają bakterie, jednak nie we wszystkich dochodzi do zakażenia, co komplikuje kwestię miarodajności posiewu wykonywanego u chorego na cukrzycę. Wykazana w badaniu bakteriologicznym obecność bakterii nie zawsze jest przyczyną infekcji, dlatego analiza mikrobiologiczna nie wystarcza w ocenie rany; konieczne jest podejście całościowe. Należy również przestrzegać zasad pobierania materiału:

- wskazaniem do pobrania materiału biologicznego jest obecność klinicznie zakażonej rany w celu określenia antybiotykowrażliwości;
- w przypadku obecności ran niezakażonych klinicznie i łagodnego zakażenia u chorego, u którego wcześniej nie stosowano antybiotyków, dopuszcza się możliwość niewykonywania wymazu;
- sposób pobrania materiału: po oczyszczeniu rany i usunięciu tkanek martwiczych materiał należy pobierać z dna rany za pomocą wyłyzczkowania, zeszkrobrywania lub drogą wymazu (najmniej zalecane);
- w przypadku występowania objawów ogólnoustrojowych infekcji konieczne jest wykonanie posiewu krwi.

Niektóre aspekty leczenia infekcji — preparaty stosowane miejscowo

W leczeniu infekcji stopy cukrzycowej podaje się antybiotyki, stosuje się zabiegi chirurgiczne w celu usunięcia zainfekowanych tkanek, a także drenowanie i sączkowanie. Poniżej poruszono aspekty miejscowego antyseptycznego i przeciwbakteryjnego leczenia ran. Preparaty antyseptyczne stosowane miejscowo pozwalają również na ograniczenie nadużywanej antybiotykoterapii systemowej. Do obecnie używanych antyseptyków należą preparaty jodu; oraz ostatnio podejmuje się próby zastosowania gąbki garamycynowej w miejscowym leczeniu infekcji.

Preparaty srebra

Preparaty srebra o działaniu przeciwbakteryjnym, przeciwgrzybiczym, przeciwwirusowym wpływają na [10, 11]:

- hamowanie aktywności metaloproteinaz;
- aktywację procesu angiogenezy (łatwiejszy przeszczep);
- działanie przeciwbakteryjne — łączenie z resztami aminokwasowymi białek, ich denaturację;
- zaburzenie replikacji DNA;
- blokadę enzymów oksydacyjnych;

— zaburzenie układu oksydacyjno-redukcyjnego (NADPH, *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase*) — utrata związków energetycznych przez komórki — śmierć komórki.

Mechanizm działania opatrunków ze srebrem polega na uwalnianiu pierwiastka do rany lub na absorpcji bakterii do opatrunku przez węgiel aktywowany, a następnie na działaniu soli srebra [głównie na *Staphylococcus* w tym szczepy odporne na metycylinę (MRSA, *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) i *Pseudomonas aeruginosa*].

Czasami obserwuje się oporność na preparaty srebra.

Preparaty jodu

Preparaty zawierające jod mają działanie antyseptyczne [12]. Obecnie stosuje się Inadine, Povidone iodine lub Braunol.

Gąbka garamycynowa — Collatamp EG

Gąbkę kolagenową nasącza się gentamycyną, na przykład preparatem Garamycin Schwamm. Na polskim rynku zarejestrowano jedną formę tego leku — opatrunek o wymiarach 5 × 5 i 10 × 10 zawierający 130 mg siarczanu w postaci gentamycyny i 280 mg kolagenu pochodzenia wołowego. Połączenie to charakteryzuje się:

1. Szybkim uwalnianiem antybiotyku;
2. Dużą miejscową koncentracją;
3. Dobrą penetracją do kości;
4. Przy upośledzeniu powstania fibroblastów kolagen, stanowiąc rusztowanie, przyspiesza gojenie rany;
5. Korzystnym działaniem hemostatycznym;
6. Całkowitą resorpcją preparatu w miejscu aplikacji.

Miejscowe stosowanie antybiotyków w ranach przewlekłych — dyskusja

W zaleceniach Europejskiego Towarzystwa Leczenia Ran (EWMA, *European Wound Management Association*) nie uwzględniono miejscowego stosowania antybiotyków z powodu:

- formuły stosowanych antybiotyków — maści, żele utrudniające odpływ wydzieliny z rany;
- obaw związanych z wytworzeniem antybiotykooporności (niekontrolowane podawanie stężenia leku).

U chorych na cukrzycę nie należy zalecać stosowania żelów i maści, w tym zawierających antybiotyki. Obecnie mikrobiolodzy dyskutują nad wytwarzaniem antybiotykooporności przy miejscowym

podawaniu antybiotyków. Korzystne doświadczenia wiążące się z zastosowaniem gąbki garamycynowej pozwalają na stosowanie tego preparatu w przypadku ran z małym i średnim wysiękiem, uwzględniając również korzystne działanie kolagenu, który jako glikowany jest niepełnowartościowym składnikiem skóry u chorych na cukrzycę [13]. Jednak trzeba poczekać na wyniki rozpoczynającego się wielośrodkowego badania z zastosowaniem gąbki garamycynowej w leczeniu ran przewlekłych.

Ogólne zasady leczenia przeciwbakteryjnego

Spośród ogólnych zasad terapii przeciwbakteryjnej należy wymienić [11, 14]:

1. Zastosowanie antybiotyków przy pierwszych objawach infekcji;
2. Opracowanie chirurgiczne rany, pobranie wymazu;
3. Pobieranie wymazu przy kolejnych wizytach, jeżeli nadal mimo leczenia istnieje podejrzenie procesu zapalnego;
4. Nawet bakterie zasiedlone mogą spowodować ciężkie infekcje, natomiast wyhodowane bakterie nie muszą odpowiadać za aktualne zakażenie;
5. W razie gorączki i objawów układowych — wykonanie posiewu krwi;
6. Regularną ocenę rany pod kątem wczesnych objawów infekcji;
7. Empiryczny wybór antybiotyku, w razie nieskuteczności — zgodny z posiewem;
8. Wymaz bakteriologiczny — zawsze rozważany w kontekście objawów klinicznych (sam wymaz nie wystarcza);
9. W razie znaczącej infekcji lub braku poprawy przy stosowaniu antybiotyków należy rozważyć interwencję chirurgiczną pierwszą lub ponowną, na przykład w celu poszukiwania zbiornika ropnego [15, 16].

Podsumowanie

Wydaje się, że zrozumienie zachodzących procesów oraz zmiana sposobu myślenia na temat ran przyczyni się do kolejnego postępu w leczeniu przewlekłych ran w tym ran lub owrzodzeń u chorych na cukrzycę.

Obecnie należy pamiętać, że:

- każda rana jest inna;
- każda rana wymaga podejścia interdyscyplinarnego;
- priorytetem jest leczenie zakażenia.

Być może wówczas żadna rana nie będzie powodem amputacji.

PIŚMIENNICTWO

1. European Wound Management Association (EWMA). Position Document: Identifying criteria for wound infection. London, MEP 2005.
2. Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę. *Diabetologia Praktyczna* 2007; supl. A.
3. Kupper T.S., Fuhlbrogge R.C.: Immune surveillance in the skin: mechanism and clinical consequences. *Nat. Rev. Immunol.* 2004; 4: 211–222.
4. Cutting K.F., Harding K.G.: Criteria for identifying wound infection. *Journal of Wound Care* 1994; 3: 198–201.
5. Bowler P.G., Duerden B.I., Armstrong D.G.: Wound microbiology and associated approach to wound management. *Clin. Microbiol. Rev.* 2001; 14: 244–269.
6. Bowler P.G.: The 105 bacterial growth guideline. Reassessing its clinical relevance in wound healing. *Ostomy Wound Management* 2003; 49: 44–45.
7. Joseph W.S.: Treatment of lower extremity infections in diabetics. *Drugs* 1991; 42: 984–996.
8. Lipsky B.A.: Medical treatment of diabetic foot infections. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39 (supl. 2): S104–S114.
9. Jones J., Hunter D.: Consensus methods for medical and health services research. *Br. Med. J.* 1995; 311: 376–380.
10. Demling R.H., De Santi L.: The role of silver in wound healing. Part 1: effects of silver on wound management. *Wounds* 2001; 13 (supl. 1): A3–A15.
11. Wright J.B., Lam K., Burrell R.E.: Wound management in an era of increasing bacterial antibiotic resistance; a role for topical silver treatment. *Am. J. Infect. Control* 1998; 26: 572–577.
12. Lawrence J.C.: The use of iodine as an antiseptic agent. *Journal of Wound Care* 1998; 7: 421–425.
13. Black E., Vibe-Petersen J., Jorgensen L.N. i wsp.: Decrease in collagen desposition in wound repair in type 1 diabetes independent of glycemic control. *Arch. Surg.* 2003; 138: 34–40.
14. Edmonds M., Foster A.: The use of antibiotics in the diabetic foot. *Am. J. Surg.* 2004; 187 (5A): 25S–28S.
15. Van Baal J.G.: Surgical treatment of the infected diabetic foot. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39 (supl. 2): S123–S128.
16. Heinzelmann M., Scott M., Lam T.: Factors predisposing to bacterial invasion and infection. *Am. J. Surg.* 2002; 2: 179–190.