



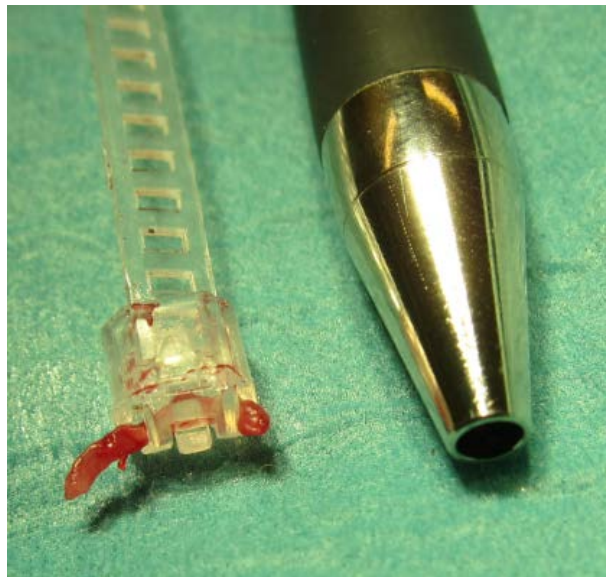
Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för kliniska vetenskaper

Utvärdering av ligering av små kärl med ett resorberbart, kirurgiskt buntband – en pilotstudie

Sonja Ström



Uppsala

2013

Examensarbete inom veterinärprogrammet

ISSN 1652-8697

Examensarbete 2013:68

Utvärdering av ligering av små kärl med ett
resorberbart, kirurgiskt buntband – en pilotstudie
Evaluation of ligation of small vessels with a resorbable,
surgical cable tie – a pilot study

Sonja Ström

Handledare: Odd Höglund, Institutionen för kliniska vetenskaper

Biträdande handledare: Fredrik Södersten, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator: Anne-Sofie Lagerstedt, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2013

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för kliniska vetenskaper

Kurskod: EX0736.1, Nivå A2E, 30hp

Nyckelord: LigaTie, hemostas, ligering

Key words: LigaTie, haemostasis, ligation

Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>

ISSN 1652-8697

Examensarbete 2013:68

INNEHÅLL

| | |
|--|----|
| Sammanfattning | 1 |
| Summary | 1 |
| Inledning..... | 2 |
| Metoder för hemostas | 2 |
| Buntband | 2 |
| Mätmetod..... | 3 |
| Syfte..... | 4 |
| Material och metoder | 4 |
| Etisk prövning | 4 |
| Djurmaterial..... | 4 |
| Det kirurgiska buntbandet | 4 |
| Inklusionskriterier..... | 4 |
| Narkos..... | 4 |
| Kirurgi och ligeringskontroll..... | 5 |
| Provtagning och histologisk preparering..... | 5 |
| Analys..... | 6 |
| Resultat..... | 6 |
| Diskussion | 7 |
| Val av metod..... | 7 |
| Kärlens orientering i preparatet..... | 7 |
| Kärl krymper till följd av histologisk preparering | 8 |
| Alternativa metoder..... | 9 |
| Litet antal analyserbara prover | 9 |
| Kontroller | 10 |
| Korttidsstudie | 11 |
| Den geriatriska patienten..... | 11 |
| Olika materials beskaffenhet | 12 |
| Överlappande begränsningar | 12 |
| Ligering av större strukturer..... | 12 |
| Konklusion | 13 |
| Referenser..... | 14 |

SAMMANFATTNING

En ny medicinteknisk produkt, ett resorberbart, kirurgiskt buntband (LigaTie®) för ligering av kärl har utvecklats vid Sveriges lantbruksuniversitet. En pilotstudie genomfördes för att undersöka begränsningsområdet med avseende på minsta möjliga kärldiameter som kan ligeras med produkten. Djurmaterialet i detta terminala *in vivo*-försök utgjordes av en sövd hund. Icke resorberbart band, som formsprutats i samma form som LigaTie®, fördes runt kärl tillhörande krös, mjälte och njurar. Bandets ände fördes genom den låsmekanism som finns i bandets andra ände. Den ögla som bandet bildade runt kärlet drogs åt maximalt. Hemostas och vävnadsgrepp kontrollerades innan vävnadsprover togs från 15 ligerade kärl av olika storlek. Proverna fixerades och preparerades för histologisk undersökning. Snitten fotograferades och på bilderna mättes kärlets omkrets respektive diameter. Diametern för de 15 kärnen var 0,7 mm-3,4 mm (min-max). Diametermedelvärdet för de tre minsta kärnen som i studien kunde ligeras tillfredställande med avseende på hemostas och vävnadsgrepp, beräknades till 1,2 mm (1,1 mm-1,5 mm). Kärnen med 0,7 mm i diameter gled ur konstruktionen. Studien visade också att histologi som mätmetod för kärldimension var suboptimal eftersom den medförde flera svårtolkade felkällor. För att närmare fastställa bandets nedre begränsning i kärldimension bör fokus läggas på området kring 1 mm i diameter. En mekanisk metod för att mäta kärlets diameter *in vivo* rekommenderas.

SUMMARY

A new medical device, a resorbable, surgical cable tie (LigaTie®) for ligation of vessels was recently developed at the Swedish University of Agricultural Sciences. The aim of this pilot study was to examine limitation of use regarding smallest possible vessel diameter, which can be ligated with the device. An anesthetized dog was used in this terminal *in vivo* study. Non-resorbable cable ties, injection moulded in the same mould as LigaTie®, was placed around vessels of the mesentery, spleen and kidneys. The end of the cable tie was inserted and pulled through the locking case at the other end of the device. The loop formed by the device was tightened to maximal extent. Haemostasis and tissue grip were controlled, and tissue samples were collected from 15 ligated vessels of different sizes. The samples were fixed and prepared for histological analysis. The sections were photographed and the vessel's diameter or circumference was measured. The diameters of the 15 vessels were 0.7 mm-3.4 mm (min-max). Mean diameter of the three smallest vessels that could be successfully ligated regarding haemostasis and tissue grip, was calculated to 1.2 mm (1.1 mm-1.5 mm). The cable tie lost tissue grip when applied to vessels with a diameter of 0.7 mm. The study also showed that histology was suboptimal as method for measurement of vessel dimension, due to several biases, which were difficult to interpret. To establish a more precise limit of lower vessel dimension for the device, ligation of vessels with diameter of approximately 1 mm should be performed. A mechanical method for measuring vessel diameter *in vivo* is recommended.

INLEDNING

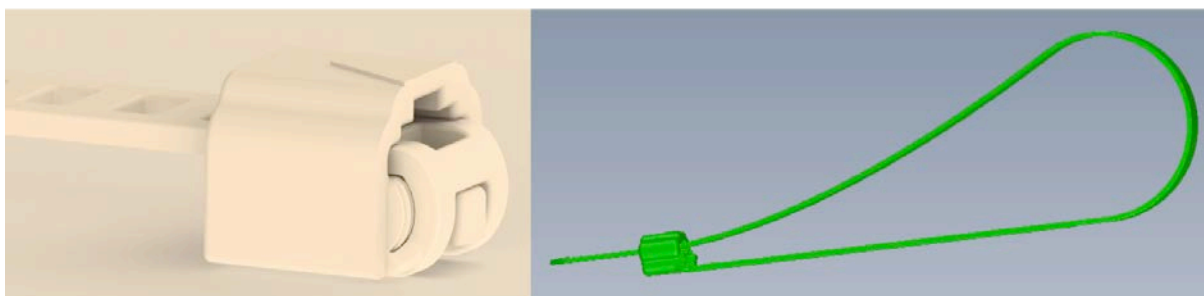
Metoder för hemostas

Uppskattningsvis utförs årligen totalt 234 miljoner större, kirurgiska ingrepp inom humanmedicinen i världen (Weiser *et al.*, 2008). Upprätthållande av god hemostas är en vital del vid all kirurgi och inte minst vid bukkirurgi, då kärl kan behöva kapas, till exempel för att möjliggöra extirpation av organ. Blödning orsakar blodförlust för patienten och nedsatt sikt i såret för kirurgen, vilket i sin tur leder till förlängd operationstid och ökad risk för komplikationer.

Det finns flera metoder för att skapa hemostas. I huvudsak kan metoderna delas in i två kategorier; mekanisk teknik, respektive metod som innebär att energi tillförs vävnaden. Mekanisk teknik innefattar suturtråd och clips, såväl resorberbara som icke resorberbara (Hsu, 2006; Schmiedt, 2012). Icke resorberbara produkter tillverkas i det naturliga materialet silke, rostfritt stål, samt olika polymerer. Resorberbara produkter kan bestå av det biologiska materialet catgut (Schmiedt, 2012) eller något av de polymera materialen som baseras på de fem monomererna L-laktid, glykolid, *p*-dioxanon, ϵ -kaprolakton och trimetylenkarbonat (Roby & Kennedy, 2004). De olika produkterna och dess material har olika egenskaper med avseende på hållfasthet, kapillaritet, formbeständighet, elasticitet, absorptionsbenägenhet, knutsäkerhet, minne, plasticitet, följsamhet med mera (Schmiedt, 2012). Med teknik som innebär att man tillför energi till vävnaden, menas till exempel ultraljudsenergi, laser, mono- eller bipolär elektrokoagulation respektive elektrokauterisering (Sackman, 2012). De relativt nyligen utvecklade, elektrotermala, bipolära systemen LigaSureTM (Heniford *et al.*, 2001) och SurgRxTM (Sackman, 2012) innefattas också av den senare kategorin. Vidare finns resorberbara produkter för tamponering av vävnad, såsom SpongostanTM (Ethicon Endo-Surgery, 2013), Tachosil[®] (Bajardi *et al.*, 2009) och Surgicel[®] (Fossum *et al.*, 2007).

Buntband

En av de veterinärmedicintekniska produkter som nyligen utvecklats för mekanisk hemostas, men som i skrivande stund inte ännu finns tillgänglig på marknaden, utgörs av ett resorberbart, kirurgiskt buntband - LigaTie[®] (Höglund *et al.*, 2011). Bandet förs runt det kärl eller den vävnad som ska ligeras, och in genom en låsmekanism i bandets ena ände. Den ögla som bildas dras åt och skapar hemostas genom att klämma kärlet i fråga (figur 1). En av bandets stora fördelar är att det kan manövreras med endast en hand och kan därmed användas till att ligera kärl i svåråtkomliga anatomiska strukturer, till exempel vid kastration av tik (Höglund *et al.*, 2013).



Figur 1. Maximalt åtdraget kirurgiskt buntband (till vänster), respektive band i initial ögla (till höger).

Icke resorberbara buntband i nylon har tidigare använts för att ligera vävnad, till exempel uterus på katt (Zagraniski, 1980). Carpenter (1973) visade att kirurgin vid kastration av tik blev snabbare och ansåg att kirurgin blev enklare tack vare användandet av buntband. I dess traditionella form krävs en viss mängd vävnad för att fylla ut det rum i öglan som bildas när bandet är maximalt åtdraget (Zagraniski, 1980), vilket utgör en begränsning i användandet av bandet. Dessutom är traditionella buntband tillverkade i icke resorberbara material, vilket bidragit till oönskade vävnadsreaktioner (Johnson-Neitman *et al.*, 2006; Werner, 1992). LigaTie[®] formsprutades initialt i ett resorberbart material (Polydioxanon) och visade fullständig resorption under läkning av mesovariat efter kastration av tik (Höglund *et al.*, 2013). En lokal och tidsmässigt övergående reaktion kunde observeras, vilket anses vara typiskt för resorberbara material såsom Polydioxanon (Atkinson *et al.*, 1998). Fortsatt produktutveckling och kliniska tester av bandet, formsprutat i en blandning av resorberbara polymerer (Polyglykonat), pågår vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) (Höglund *et al.*, manuskript).

Bandet sluts helt runt sin låsmekanism (Höglund, 2012) för att minska behovet av vävnadsutfyllnad i öglan, men mer forskning behövs för att veta i vilken utsträckning bandet kan ersätta konventionella ligaturmaterial. Det måste bli väl känt till vilka strukturer metoden passar, avseende vävnadsdimension. Diatermi kan användas för hemostas av kärl med en diameter upp till 1,6 mm (1/16 tum) enligt bruksanvisningen tillhörande en av modellerna (Ellman Surgitron F.F.P.F. Operating Manual), medan större kärl traditionellt bör ligeras med en mekanisk metod (Fossum *et al.*, 2007). LigaSure[™] kan användas för hemostas av kärl upp till 7 mm i diameter (Harold *et al.*, 2003; Kennedy *et al.*, 1998). Praxis är dock att även anlägga exempelvis clips vid ligering av större artärer såsom njurartärer vid avlägsnande av njure på människa på grund av högt tryck och stort blodflöde i de stora artärerna. Det har också diskuterats huruvida LigaSure[™], som är avsett för engångsbruk, är ekonomiskt försvarbart inom veterinär rutinkirurgi (Öhlund *et al.*, 2011). Det finns idag ingen studie som visar det resorberbara bandets nedre gränsområde i kärldimension.

Mätmetod

Olika metoder för att mäta kärl har använts. I en studie av Hepworth *et al.* (1998) användes en metallinjal och Michaletz & Judge (1989) använde en kirurgisk micrometer. Harold *et al.*

(2003) använde en linjal ur ett kirurgiskt mätset. I litteraturen saknas i dagsläget en uttalad "gold standard" avseende mätmetod för kärldiameter i en försökssituation. Histologiska snitt av kärlvävnad erbjuder möjligheter till exakta mätvärden, eftersom proverna kan analyseras under förstoring med mätinstrument med stor precision.

Syfte

Denna korttidstudie *in vivo* syftade till att identifiera det nedre gränsområdet för ligering av kärl med det resorberbara, kirurgiska bandet genom att kontrollera hemostas och vävnadsgrepp hos kärl av mindre dimensioner, och sedan mäta dessa kärls dimensioner histologiskt. Ytterligare ett syfte med studien var att utvärdera histologi som metod för att mäta kärldimension. Resultatet avsågs ligga till grund för framtida val av metod för studie i ämnet, och identifiera ett snävare kärldimensionsområde inför framtida studier av bandets nedre begränsning.

MATERIAL OCH METODER

Etisk prövning

Ansökan om etiskt tillstånd för studien godkändes av Uppsala Djurförsöksetiska Nämnd (C70-12 och C344/10) innan studiens start.

Djurmaterial

Materialet utgjordes av en undervisningshund av rasen beagle, hankön, född 1999, som ägdes av Institutionen för kliniska vetenskaper vid SLU, Uppsala, Sverige. Hunden skulle av åldersskäl inte längre användas som undervisningshund och kunde därmed ingå i detta terminala *in vivo*-försök.

Det kirurgiska buntbandet

Band som användes i det här försöket formsprutades i samma form som det resorberbara kirurgiska buntbandet som tidigare har beskrivits (Höglund *et al.*, 2011), men i ett icke resorberbart material (Propylen) på grund av begränsad tillgång till de resorberbara, kirurgiska buntbanden. Det bedöms likna det resorberbara materialet Polyglykonat vad det gäller mekanisk konstruktion, hårdhet, böjbarhet och vävnadsgrepp.

Inklusionskriterier

Inklusionskriterier för kärl i studien var kärl med en uppskattad diameter på ca 0,5-4 mm.

Narkos

Operationen utfördes vid Universitetsdjursjukhuset (UDS) 2012. Hunden premedicerades med Acepromazin 0,3 mg/10 kg (Plegicil vet 10 mg/ml, Pharmaxim AB, Helsingborg, Sverige) och Metadon 2 mg/10 kg (Metadon Recip 10 mg/ml, Recip AB, Solna, Sverige). Narkos inducerades med Propofol (Propofol-Lipuro 10 mg/ml, B. Braun Melsungen AB, Melsungen, Tyskland) som injicerades symtomatiskt, intravenöst. Narkosen underhölls med

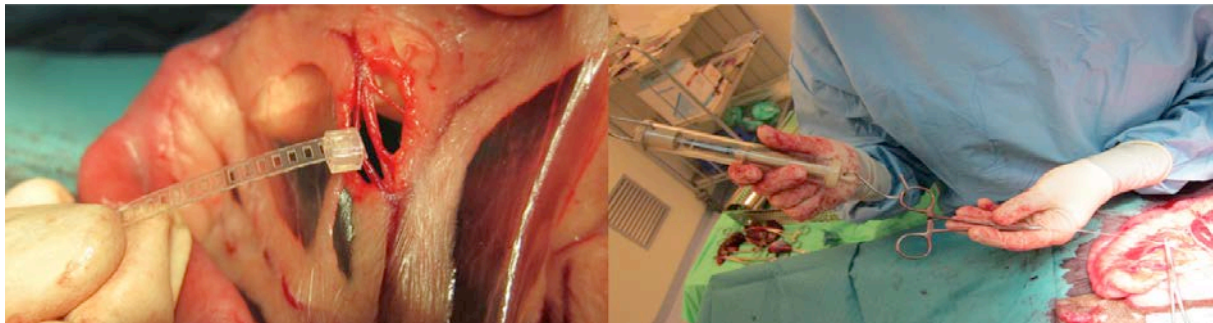
2 % Isofluran (Isoba vet 100 %, Intervet International B.V., Boxmeer, Nederländerna) blandat i luft och syrgas via endotrakealtub.

Indirekt, arteriellt, systoliskt blodtryck mättes oscillometriskt en gång per minut (LifeWindow™ 6000, Digicare Biomedical Technology), med hjälp av en tryckmanschett fäst vid ett framben, distalt om carpus. Mätvärdena sparades automatiskt i ett Excel-ark för senare analys av medelvärde (\bar{X}) och standardavvikelse (SD) av systoliskt tryck. Andra vitala parametrar såsom hjärtfrekvens, andningsfrekvens och kroppstemperatur registrerades också med hjälp av ovan nämnda narkosövervakningsapparat.

Kirurgi och ligeringskontroll

Buken öppnades via ett snitt som anlades genom cutis, subcutis och linea alba från kaudalt om cartilago xiphoidea till kranialt om os pubis. Kärler av varierande storlek tillhörande krös, mjälte och njurar fridissikerades.

Kärlen ligerades med icke resorberbara band som fördes runt kärnen och sedan genom den låsmekanism som utgjorde bandets ena ände. Bandet drogs åt fullständigt med en hand, ibland med hjälp av en peang fäst vid bandet för förbättrat grepp. Kärlen skars av ca 5 mm distalt om bandet. Hemostas kontrollerades okulärt, och eventuell ligaturglidning undersöktes genom att dra i det kirurgiska bandet med en kraft av 2 N under tio sekunder, med hjälp av en dynamometer som fästs vid buntbandet med en mosquitopeang (figur 2).



Figur 2. Ligerat kröskärl (till vänster), respektive kraftmätning med hjälp av dynamometer (till höger).

Provtagning och histologisk preparering

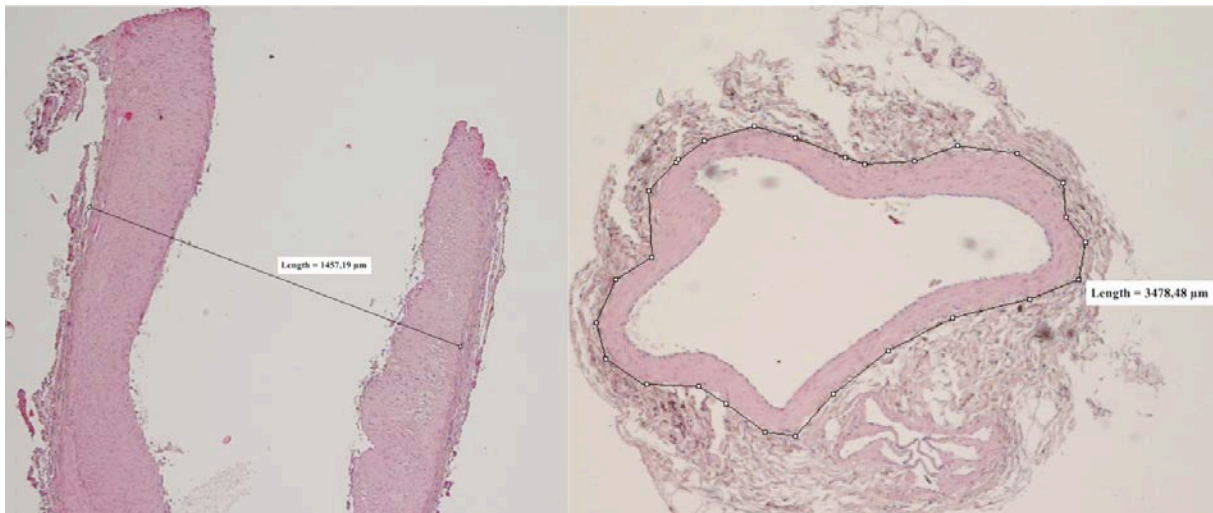
Sammanlagt 15 vävnadsprover togs distalt om ligaturerna, ett från varje kärl som ligerats till synbar hemostas med ett fullständigt åtdraget band. Proverna delades i två grupper. Kärl med ligaturer som gled synbart vid drag med en kraft av 2 N definierades som försökets negativa prover. Kärl vars ligaturer inte gled definierades som försökets positiva prover.

Proverna fixerades i fosfatbuffrad (pH 7,4) 4 % formalinlösning. Efter tillskärning dehydrerades preparaten i stigande etanolkoncentration (70-100 %), följt av xylol, xylén och flytande paraffin. Preparaten behandlades sedan i ökande koncentration vattenlösligt resin, innan de bäddades in i 100 % resin, i huvudsak orienterade för tvärsnitt. Av prepareringstekniska skäl kunde inte de allra minsta kärnen monteras för tvärsnitt och de

snittades därför istället på längden i upprepade sagittalsnitt, med ett intervall om 50 µm. Samtliga preparat snittades med glasknivar till en tjocklek av 5-6 µm med microtom (Leica RM 2156, Leica Instruments GmbH, Germany). Snitten monterades på glas och färgades med Haematoxylin & Eosin (HE).

Analys

Proverna analyserades och fotograferades i mikroskop (Nikon Eclipse E600). Morfometri utfördes i dessa bilder med datorprogrammet Mikon ACT-1 (Nikon Nordic AB, Solna, Sverige) (figur 3). Kärlets omkrets (O) mättes där tunica adventitia övergår i tunica media. Ur detta mått beräknades sedan kärlets diameter (d) med hjälp av den geometriska formeln $O = d \times \pi$. I de längdsnittade kärlets bilder mättes diametern direkt, mellan ovan nämnda vävnadslager. Eftersom samma kärl representerades av flertalet fotograferade snitt, jämfördes dessa och den bild som i yta uppvisade störst andel lumen i förhållande till kärlvägg valdes för mätning. Denna bild visar sannolikt kärlet nära dess medianplan.



Figur 3. Histologisk bild med mått, föreställande längdsnittat kärl (till vänster), respektive tvärsnittat kärl (till höger).

RESULTAT

Hemostas uppnåddes vid ligering av alla kärl. Av försökets 15 vävnadsprover var sex negativa och nio positiva (kärl vars ligaturer gled, respektive inte gled).

I ett av de positiva proverna hade merparten av kärlet lossnade ur preparatet under snittandeprocessen och kunde därför inte analyseras på ett tillförlitligt sätt. Fyra prover, varav två var positiva och två var negativa, kunde inte placeras på ett tillfredsställande sätt under histologisk preparering och blev då svåra att mäta, varför de inte analyserades vidare. Två positiva prover uppvisade sådana skador i kärlväggen till följd av hantering och preparering, att de inte bedömdes som mätbara. Sammanlagt kunde sju av 15 prover efter provtagning inte analyseras.

Totalt åtta histologiska preparat var bedömningsbara. Av de åtta var sex positiva och två negativa.

Med tanke på studiens syfte beräknades ett medelvärde, \bar{X} (min-max), för den positiva provseriens tre minsta mått (1,1 mm, 1,1 mm, 1,5 mm), vilka visade mindre spridning och skiljde sig storleksmässigt från seriens tre största mått (2,6 mm, 3,2 mm, 3,4 mm). $\bar{X} = 1,2$ mm (1,1 - 1,5). De två negativa proverna var båda 0,7 mm, vilket ger $\bar{X} = 0,7$ mm (0,7 - 0,7). Medelvärdet av samtliga positiva provers diameter beräknades till 2,15 mm (1,1 - 3,4).

Medelvärdet av alla registrerade blodtrycksvärden beräknades till 126 mm Hg (SD: 16). När mätserien istället började efter de 19 första värden som antogs vara falskt höga, erhöles medelvärdet 123 mm Hg (SD:12).

DISKUSSION

Studiens resultat antydde en nedre dimensionsbegränsning på ca 1 mm, samt att histologisk mätmetod för kärldimension inte fungerade tillfredställande och skapade flera felkällor.

Val av metod

Nästan hälften av de ursprungliga proverna i provserien kunde inte analyseras på grund av svårigheterna med att fixera vävnaden i intakt tillstånd, histologisk preparering och orientering av proverna i preparaten, vilka beskrivs i nedanstående diskussionspunkter.

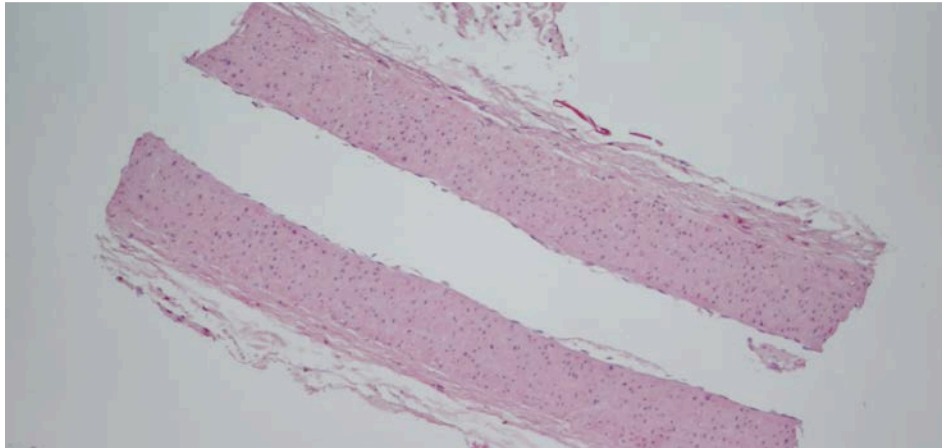
Kärlens orientering i preparatet

Få av kärnen kunde med säkerhet orienteras i preparaten. Det var omöjligt att under prepareringen exakt förutsäga hur vävnaden skulle komma att hamna i paraffinblocken och detta påverkade också mätningarna av kärlets diameter och omkrets.

De längdsnittade kärnen snittades sannolikt i ett av kärlets sagittalplan snarare än i dess medianplan, och mättes därmed med en falskt liten diameter. Måttet på kärlets lumen ändras dock i mindre utsträckning ju närmare centrum man snittar, jämfört med förändringen i början av en längdsnittserie, till följd av kärlets cylindriska form. Måttförändringen är stor i början och avtar sedan för att vara i stort sett lika med noll vid kärlets medianplan, där måttet likställs med kärlets diameter. Till viss del kan man också se detta, eftersom snittet i högre grad utgörs av kärnvägg, och myocyterna i tunica media får en annan riktning i snittet och därför ses sned- eller längdsnittade. Eftersom mätningarna utförts i det snitt där lumen utgör så stor del av ytan som möjligt, jämfört med övriga snitt i samma preparat, anses denna felkälla som mindre betydelsefull.

Ett troligt exempel på problemet utgjordes av det minsta kärlet som visade gott resultat avseende liggering med det kirurgiska bandet (figur 4). På grund av sin ringa storlek lossnade kärlet ur paraffinblocket under snittningsprocessen, och var därmed inte möjligt att längdsnittra genom hela sin tjocklek. Till följd av detta saknas bild på ett sagittalplan nära medianplanet för detta kärl. Det största mätbara lumenmåttet blev därför 0,4 mm, vilket

skiljer sig mycket från närmast större kärl i den positiva provserien (1,1 mm), varför kärlet inte användes för beräkning av medelvärde ur studien. Det kan dock inte uteslutas att den stora storleksskillnaden mellan de två minsta, positiva kärlen i studien beror på slumpen, till följd av ett litet antal prover. Det aktuella kärlet utgjorde det minsta positiva provet, subjektivt bedömt under den histologiska prepareringsprocessen, vilket antyder att kärl med mindre diameter än 1,1 mm kan ligeras med bandet.



Figur 4. Histologisk bild av provseriens minsta kärl. Sagittalsnitt närmast kärlets medianplan.

I de fall där kärlväggarna i längdsnitten hade olika tjocklek var det mycket svårt att utföra mätningar med precision. En förklaring till utseendet kan vara att väggen buktar inåt på ena sidan och inkräktar på lumen. Kärlet har då förlorat sin cylindriska form och en uppmätt diameter blir därmed falskt liten eller stor. Kärlet som i mikroskop visat denna asymmetri har inte kunnat analyseras vidare och inkluderades inte i beräkning av ett nedre gränsområde för bandet. Möjligheten för denna felkälla kvarstår dock, eftersom kärlet kan ha varit asymmetriskt på annan nivå i preparatet, än den för det studerade snittet, och därmed ha medfört felaktig diameter vid mätning.

De kärl som placerats för tvärsnitt i preparatet, men som hamnat snett, snittades också snett genom kärlet och fick därmed en form som liknar en ellips snarare än en cirkel. Kärlet får en falskt stor omkrets vid mätning, medan diametern inte förändras, såvida kärlet inte dessutom förlorat sin cylindriska form under prepareringsprocessen.

Tvärsnittade kärl utan intakt kärtring inkluderades inte i beräkning av ett nedre gränsområde med anledning av risk för felbedömning, till följd av att delar av kärlväggen eventuellt saknas. På samma sätt kan också delar av väggen saknas, eller ha rupturerat på längden i kärlet som längdsnittades. Denna felkälla blir svårupptäckt i ett längdsnitt på grund av histologins tvådimensionella karaktär, men bör beaktas.

Kärl krymper till följd av histologisk preparering

I denna studie användes samma metod för histologisk preparering som i en studie av Dobrin (1995), vilken kunde visa att kärlväggens tvärsnittsarea krymper med ca 21 % som ett resultat av histologisk preparering. Arean beräknades dock utifrån inre och yttre kärlomkrets, vilka

inte redovisades, och alltså utgör två okända variabler. Resultatet kan därför inte överföras direkt till denna studie för beräkning av motsvarande krympning av kärlets diameter. Den okända krympningsfaktorn förblir en felkälla. I Dobrins studie (1995) mättes dessutom storleksförändringen med den fridissikerade vävnaden som referens. I diskussionen hävdas att kärl drar ihop sig i längsriktningen då de kapas, och att tvärsnittsarean därmed också ökar i okänd omfattning. I denna studie är kärlet *in vivo* den vävnad vars mått är intressanta. Kärlets ihopdragning i längsriktning och krympning under preparering motverkar till någon del varandra, vilket i sig ytterligare försvårar extrapoleringen av krympningsfaktorn från Dobrins studie (1995), till denna studie. Studier avseende storleksskillnaderna mellan vävnad *in vivo*, respektive histologiskt preparerad vävnad, rekommenderas innan histologi ämnas användas som mätmetod i ytterligare studie.

Alternativa metoder

Andra metoder för att mäta kärl har använts i tidigare studier (Hepworth *et al.*, 1998; Michaletz & Judge, 1989; Harold *et al.*, 2003) men ingen uttalad standardmetod för ändamålet har hittats i litteraturen. I fortsatta studier rekommenderas en mekanisk metod för att mäta kärldiameter *in vivo*, till exempel med ett finkänsligt elektroniskt skjutmått som verktyg, för att reducera antalet felkällor.

Litet antal analyserbara prover

En för pilotstudien sannolik felkälla var det låga antalet analyserbara prover. Skillnaden mellan de två negativa provernas mått, som var exakt lika stora, och närmast större diametermått i serien var 0,4 mm, vilket lämnade en lucka i studiens resultat. Det kan därför inte uteslutas att minsta möjliga kärldiameter som kan ligeras med det kirurgiska bandet, i verkligheten ligger närmare måttet för de negativa proverna, och därmed är lägre än gränsområdet som redovisades under resultat.

Ligacip MCM 30 (Ethicon Endo-Surgery LLC, Johnson & Johnson, New Jersey, USA) är det clip som används allra mest vid Akademiska sjukhuset i Uppsala (Solander, G., personligt meddelande, 2013). Produktens användningsområde är ligering av kärl i öppen rutinkirurgi (Ethicon Endo-Surgery, 2013). För att få CE-märka en medicinteknisk produkt ska tillverkaren försäkra att produkten har den prestanda som denne uppger, baserat på till exempel kliniska data från vetenskapliga studier (Läkemedelsverket, 2010). Ligacip introducerades på den europeiska marknaden innan den CE-märktes 1998, varför studier som utförts efter att produkten introducerats på marknaden, så kallad post market surveillance data, kunde användas som underlag för godkännandet. För att kunna CE-godkänna fortsatt utvecklade produkter baserade på Ligacip, utfärdas regelbundet en så kallad Clinical Expert Report (CER). I senaste CER från 2011 inkluderades tolv studier som handlade om Ligacip eller produkter jämförbara med Ligacip (Buesa, E. M., personligt meddelande, 2013). I en av dessa studier ligerades 15 humana njurartärer med Hem-o-Lok Clips och baserat på detta underlag ansåg författaren att slutsatser kunde dras om produktens förmåga (Lee *et al.*, 2011). I en annan av de tolv studierna utgjordes materialet av 121 humana njurartärer, vilka också ligerades med Hem-o-Lok Clips (Ma *et al.*, 2010). I en studie av Ping *et al.* (2010) ligerades

116 humana njurartärer och lika många njurvener. I de övriga studierna som omfattades av 2011 års CER var studieupplägget inte jämförbart med den i denna pilotstudie. I flertalet studier representerades antalet prover av antalet patienter som ingick i studien, hos vilka ett okänt antal kärl hade ligerats, medan varje enskilt, ligerat kärl utgör ett prov i vår studie. Av de tre nämnda CER-studiernas provantal kan inte en tydlig trend ses och därför är det svårt att få någon ledning om hur många prover som kan anses tillräckligt i en framtida, större studie för att kunna dra säkra slutsatser om LigaTie[®]. Det kan i sammanhanget vara intressant att nämna en studie avsedd att utvärdera effektiviteten och säkerheten med LigaSure[™], i vilken hela 4220 ligeringar utfördes (Heniford *et al.*, 2001).

Kontroller

Studien saknar egentliga kontroller. Ett sätt att skapa kontroller hade varit att låta ett lika stort kärl som det studerade, blöda till följd av dissektion, för att sedan ligera detta efter önskad inspektionstid. Denna typ av kontrollmetod har använts i en studie av Hepworth *et al.* (1998). På så sätt kunde normal blödning i operationssituationen visas. I vår studie observerades blödning från de kärl som inte uppnått hemostas efter ligering, eller efter att ligaturen glidit av till följd av otillfredsställande vävnadsgrepp. Dessa kärl kan således anses utgöra, delvis egna, kontroller till de kärl som ingick i studiens provserie.

Blodtrycksmätning anses vara ett objektivt sätt att bedöma vävnadsperfusion, även om ett normalt blodtryck inte alltid korrelerar med normal vävnadsperfusion (Waddell, 2010). I denna studie mättes systoliskt blodtryck kontinuerligt under operationen och ett medelvärde räknades fram till 126 mm Hg, vilket faller inom normalvariation för en hunds systoliska blodtryck. Olika studier visar varierande referensintervall; 129-151 mm Hg (Dahl, 2011), 100-160 mm Hg (Haskins, 1996). Vid blodtryck >160/100 mm Hg rekommenderas behandling mot hypertension (Brown *et al.*, 2007). Som hypotension räknas ett systoliskt tryck < 80 mm Hg (Waddell, 2000). Hundens uppmätta systoliska blodtryck understeg 100 mm Hg endast vid en mätning under totalt drygt fyra timmars narkos med blodtrycksmätning varje minut. Det uppmätta blodtrycket tolkas därmed som en parameter som visar att hunden sannolikt hade normal blödningsförmåga vid försöket.

Endast det systoliska trycket analyserades, främst eftersom högt blodtryck utsätter ligaturen för större påfrestningar än vad det lägre, diastoliska trycket gör. De kärl som ligerades med tillfredsställande hemostas och vävnadsgrepp kan därför tolkas som positiva med god säkerhetsmarginal och det kan antas att ligaturen upprätthåller hemostas vid fysiologiskt blodtryck. Det systoliska trycket, beräknat utifrån mätningar med en icke invasiv, oscillometrisk metod, har dessutom visat sig stämma relativt bra med trycket som mäts med invasiv metod (Sawyer *et al.*, 1990), vilket anses utgöra gold standard (Bodey, 1996). Särskilt bra stämmer blodtrycksvärdet när mätningarna utförs på liggande hund. Ju högre blodtryck, desto större, falskt lågt värde ger den icke invasiva metoden (Bodey & Michell, 1996). Det kan därför antas att det verkliga blodtrycket hos hunden i denna studie var åtminstone så högt som det uppmätta. Icke invasiv mätning av det lägre, diastoliska trycket ger större mätfel jämfört med invasiv mätning av diastoliskt tryck (Haskins, 1996; Sawyer *et al.*, 1991). Mätvärden kan också variera från minut till minut och därmed vara falskt låga, varför det

rekommenderas att beräkna ett medelvärde av flera mätvärden (Bodey, 1996; Brown *et al.*, 2007; Hunter *et al.*, 1990). I denna studie beräknades medelvärdet av 282 mätningar.

Under operationens första 17 minuter av blodtrycksmätning registrerades höga, misstänkt falska värden med en toppnotering på 185 mm Hg, varför blodtrycksmanschetten lossades för ny placering på hundens ben. Liknande, höga värden kunde sedan inte noteras under operationens resterande drygt fyra timmars blodtrycksmätning, räknat från två minuter efter att manschetten placerats om. Genom att beräkna medelvärde med start efter mätseriens 19 första värden erhöles ett medelvärde som var mycket nära medelvärdet som representerar seriens samtliga värden, vilket visade att de initiala, felaktiga mätvärdena var av liten betydelse för det beräknade medelvärdet.

Korttidsstudie

Målet med denna studie var delvis att finna ett nedre storleksgransområde för kärl som kan ligeras med det kirurgiska bandet. En begränsning i studien är att kärnen kontrollerades under kort tid. De kärl som ligerades tidigt under operationen kunde kontrolleras avseende hemostas under upp till fyra timmar efter ligering, med gott resultat.

Tidigare långtidsstudie *in vivo* har visat god hemostas enligt klinisk undersökning postoperativt. En av de nio hundarna i den studien visade tecken på blödning postoperativt, och under påföljande buköppning kunde ett icke fullständigt åtdraget band konstateras som orsak till blödningen. Bandet drogs åt och blödningen upphörde (Höglund *et al.*, 2013). Detta medförde att man i ett fortsatt utvecklingsarbete bytte material från polydioxanone till en blandning av resorberbara polymerer. De banden används i kliniska försök på SLU (Höglund *et al.*, manuskript).

I Höglunds studie (Höglund *et al.*, 2013) ligerades hela mesovariat, vilket innefattar både blodkärl och annan vävnad, till skillnad från de separata, små kärl som denna studie behandlar. Därför kan ingen säker slutsats dras från den tidigare studiens resultat, om långvarig hemostas uppnås efter ligering av kärl av liten diameter.

Den geriatriska patienten

I studien utgjordes materialet av endast en hund, vilket utgör en studiebegränsning. Den geriatriska patienten kan dessutom skilja sig anatomiskt och fysiologiskt från yngre individer. Meurs *et al.* (2000) diskuterar möjligheten att geriatriska hundars blodkärl har förlorat elasticitet och till viss del blivit stelare. Sjaastad *et al.* (2010) menar att äldre hundars minskade elasticitet i blodkärnen orsakar högre pulstryck hos dessa hundar. Det är oklart om ligaturerna skulle ha glidit i mindre eller större utsträckning om en yngre individ hade använts i studien. Det är också oklart om ett högre pulstryck påfrestar ligaturer i större eller mindre utsträckning jämfört med ett lågt pulstryck. Hundens faktiska pulstryck är inte heller undersökt.

Olika materials beskaffenhet

Av tillverkningspraktiska skäl användes inte det resorberbara, kirurgiska bandet i denna studie. Materialet i de testade banden utgjordes i stället av polymeren propylen, vilken med avseende på mekanisk konstruktion, hårdhet, böjbarhet och vävnadsgrepp, subjektivt bedöms likna den blandning av resorberbara polymerer, som testas i pågående försök (Höglund *et al.*, manuskript). Resultatet från denna studie bör dock extrapoleras med försiktighet.

Överlappande begränsningar

Diatermi är ett vanligt förekommande hjälpmedel för att säkerställa hemostas under kirurgiska ingrepp. Enligt Hepworth *et al.* (1998) är diatermi användbart på kärl med en diameter upp till 2 mm. Toombs & Clarke (2003) menar att elektrokoagulation ej bör användas till artärer med >1 mm, eller vener med > 2 mm i diameter. I praxis har man föreslagit att elektrokoagulation är tillförlitligt för koagulation av kärl med en diameter upp till 2 mm, men utan att presentera vetenskapliga belägg för detta (Kennedy *et al.*, 1998). Även Fossum *et al.* (2007) begränsar sin rekommendation av elektrokoagulation till kärl med en diameter på maximalt 1,5-2 mm. Om storleksgransområdet som antyds i denna pilotstudie kunde verifieras i senare och mer omfattande studier skulle det kirurgiska bandets användningsbegränsning troligtvis överlappa det för diatermi. Det kan antas att kärl som bedöms som för små för att tillfredsställande kunna ligeras med det kirurgiska bandet, ändå troligtvis skulle ha förseglats med diatermi, under en operation.

Ligering av större strukturer

I flertalet kirurgiska situationer är det nödvändigt att ligera relativt stora strukturer, såsom till exempel patologiskt förändrad livmoder på grund av inflammation. Enligt statistik från djurförsäkringsbolaget Agria, som försäkrade ca 30 % av den svenska hundpopulationen 1995-1996, drabbas 23-24 % av alla tikar i Agrias databas av pyometra, innan tio års ålder (Egenvall *et al.*, 2001). Egenvall (2001) skriver i sin diskussion att ovariehysterektomi (OHE) föredras som behandling av åkomman, framför medicinsk behandling, i Sverige. Enligt Agrias hemsida utgör OHE till följd av pyometra också den vanligaste orsaken till buköppning på tik (Agria, 2010).

Det kan vara av kliniskt intresse att testa möjliga fördelar med användning av det resorberbara bandet vid denna typ av operation. När en så stor struktur ska ligeras med suturtråd krävs kraft och god teknik hos kirurgen, vid sidan av lämpligt val av suturmaterial, för att nå tillfredsställande hemostas och vävnadsgrepp. Kraftigt drag i suturtråd kan medföra skador på sterila handskar och händer (Wright *et al.*, 1991). Skadade handskar medför en försämrad barriär mot mikroorganismer, kroppsvätskor och toxiska substanser (Korniewicz & Rabussay, 1997). Även om studier visat dålig korrelation mellan perforerade handskar och sårinfektioner (Dodds *et al.*, 1990) eftersträvas ändå en intakt barriär med hjälp av handskar, för att minska risken för kontaminering och infektioner, hos såväl patient som sjukvårdspersonal (World Alliance for Patient Safety, 2006). Kirurgen upplevs enklare då buntband används för ligering, jämfört med tråd (Carpenter, 1973) och med hjälp av bandets stegvisa låsmekanism kan kirurgens händer, och därmed också handskar, avlastas tillfälligt. Utan att förlora den ögla som bildats kan kirurgen kontrollera om hemostas uppnåtts och bandet kan sedan dras åt

ytterligare vid behov. Däremot är inga studier ännu utförda, som skulle kunna visa om ligering med det kirurgiska bandet innebär lägre risk för handskperforering, jämfört med tråd, eller om bandet är tillförlitligt vid ligering av stora strukturer. Fortsatta studier i ämnet bör genomföras.

KONKLUSION

Denna pilotstudies resultat antyder att bandet fungerar på kärl med en diameter strax över 1 mm och att vävnadsgreppet kan vara undermåligt på kärl med en diameter som understiger ca ½-1 mm. I en eventuell framtida studie, för att närmare kunna bestämma en nedre gräns i kärldimension för ligering med det kirurgiska bandet, bör fokus läggas på kärl med cirka 1 mm i diameter. Studien visar också att histologi som mätmetod för kärldimension inte fungerar tillfredställande och skapar svårtolkade felkällor.

TACK

Jag vill rikta det varmaste tack till min handledare Odd Höglund för diplomatisk ledning, kreativ optimism och ett orubbligt tålamod. Jag vill också tacka min biträdande handledare Fredrik Södersten för ljus i det mikroskopiska mörkret. Slutligen ett tack till min familj som funnits vid min sida, sida efter sida.

REFERENSER

- Agria (2010-12-08) *Pyometra – livmoderinflammation hos hund*. Agria Djurförsäkring AB. [Elektronisk] Tillgänglig: www.agria.se/hund/artikel/pyometra---livmoderinflammation-hos-hund [2012-11-30].
- Atkinson, P.J., Lancaster, R.L., Atkinson, T.S., Arnoczky, S.P., Haut, R.C. & Weisbrode, S.E. (1998) Breaking Strength Retention and Histologic Effect Around 1.3-mm. ORTHOSORB® Polydioxanone Absorbable Pins at Various Sites in the Rabbit. *The Journal of Foot and Ankle Surgery*, 37, 42-47.
- Bajardi, G., Pecoraro, F. & Mirabella, D. (2009) Efficacy of Tachosil® patches in controlling Dacron suture-hole bleeding after abdominal aortic aneurysm open repair. *Journal of Cardiothoracic Surgery*, 4:60.
- Bodey, A.R. & Michell, A.R. (1996) Comparison of direct and indirect (oscillometric) measurements of arterial blood pressure in conscious dogs. *Research in Veterinary Science*, 61, 17-21.
- Brown, S., Atkins, C., Bagley, R., Carr, A., Cowgill, L., Davidson, M., Egner, B., Elliott, J., Henrik, R., Labato, M., Littman, M., Polzin, D., Ross, L., Snyder, P. & Stepien, R. (2007) Guidelines for the Identification, Evaluation and Management of Systemic Hypertension in Dogs and Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21, 542-558.
- Buesa, Elena Mateo, Quality Systems & Regulatory Affairs Specialist EMEA, Ethicon Endo-Surgery (Europe) GmbH, Duellmen, Tyskland, personligt meddelande. 2013-01-22.
- Carpenter, R.H. (1973) Nylon bands used as ligatures and fixation devices in small animal surgery. *Proceedings of the 40th Annual Meeting, Animal Hospital Association*, 718-721.
- Dahl, L. (2011) *Blodtryck och hjärtfrekvens hos friska hundar under olika situationer i klinik- och hemmiljö*. Examensarbete, Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap, Uppsala, Sveriges lantbruksuniversitet.
- Dobrin, P.B. (1996) Effect of Histologic Preparation of the Cross-Sectional Area of Arterial Rings. *Journal of surgical research*, 61, 413-415.
- Dodds, R.D.A., Barker, S.G.E., Morgan, N.H., Donaldson, D.R. & Thomas, M.H. (1990) Self protection in surgery: the use of double gloves. *British Journal of Surgery*, 77, 219-220.
- Egenvall, A., Hagman, R., Bonnett, B.N., Hedhammar, Å., Olson, P. & Lagerstedt, A-S. (2001). Breed Risk of Pyometra in Insured Dogs in Sweden. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15, 530-538.
- Ethicon Endo-Surgery (2013-01-03) *Open Ligation Products*. [Elektronisk] Tillgänglig: <http://www.ees.com/clinicians/products/clip-appliers/open> [2013-01-04].
- Ethicon Endo-Surgery (2013-04-11) *SPONGOSTAN Absorbable Haemostatic Gelatin Sponge*. [Elektronisk] Tillgänglig: <http://www.ethicon360emea.com/products/spongostan-absorbable-gelatin-sponge> [2013-06-02].
- Fossum, T.W., Hedlund, C.S., Johnson, A.L., Schulz, K.S., Seim, H.B., Willard, M.D., Bahr, A. & Carroll, G.L. (2007) *Small Animal Surgery*. 3 uppl. Missouri: Mosby Elsevier.
- Harold, K.L., Pollinger, H., Matthews, B.D., Kercher, K.W., Sing, R.F. & Heniford, B.T. (2003) Comparison of ultrasonic energy, bipolar thermal energy, and vascular clips for the hemostasis of small-, medium-, and large-sized arteries. *Surgical Endoscopy*, 17, 1228-1230.

- Haskins, S.C. (1996) Monitoring the Anesthetized Patient. I: Thurman, J.C., Tranquilli, W.J. & Benson, G.J. (red), *Lumb & Jones Veterinary Anesthesia*, uppl 3. Philadelphia: Lea & Febiger, Williams & Wilkins, ss. 409-424.
- Heniford, B.T., Matthews, B.D., Sing, R.F., Backus, C., Pratt, B. & Greene, F.L. (2001) Initial results with an electrothermal bipolar vessel sealer. *Surgical Endoscopy*, 15, 799-801.
- Hepworth, C.C., Kadirkamanathan, S.S., Gong, F. & Swain, C.P. (1998) A randomized controlled comparison of injection, thermal, and mechanical endoscopic methods of haemostasis on mesenteric vessels. *Gut*, 42, 462-469.
- Hsu, T-C. (2006) Comparison of holding power of metal and absorbable hemostatic clips. *The American Journal of Surgery*, 191, 68-71.
- Hunter, J.S.J., McGrath, C.J., Thatcher, C.D., Remillard, R.L. & McCain, W.C. (1990) Adaption of human oscillometric blood pressure monitors for use in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 51, 1449-1442.
- Höglund, O.V., Hagman, R., Olsson, K., Mindemark, J., Borg, N. & Lagerstedt, A-S. (2011) A new resorbable device for ligation of blood vessels – A pilot study. *Acta Veterinaria Scandinavia*, 53:47.
- Höglund, O.V., Hagman, R., Olsson, K., Carlsson, C., Södersten, F. & Lagerstedt, A-S. (2013) Ligation of the ovarian pedicles in dogs with a resorbable self-locking device – a long-term follow-up study. *Journal of Biomaterials Applications*, 27(8), 961-966.
- Höglund, O.V. (2012) *A Resorbable Device for Ligation of Blood Vessels*. Diss. Sveriges lantbruksuniversitet. Uppsala: Acta Universitatis Agriculturae Sueciae.
- Höglund, O.V., Ingman, J., Södersten, F., Hansson, K., Borg, N. & Lagerstedt, A-S. Manuskript: Ligation of the spermatic cord in dogs with a resorbable GA-TMC self-locking device, a long-term follow-up study.
- Johnson-Neitman, J.L., Bahr, R.J. & Broaddus, K.D. (2006) Fistula formation secondary to a nylon cable tie band in a dog. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 47, 355-357.
- Kennedy, J.S., Stranahan, P.L., Taylor, K.D. & Chandler, J.G. (1998) High-burst-strength, feedback-controlled bipolar vessel sealing. *Surgical Endoscopy*, 12, 876-878.
- Korniewicz, D.M. & Rabussay, D. (1997) Surgical Glove Failure in Clinical Practice Settings. *Aorn Journal*, 66, 660-673.
- Lee, Y.H., Kwon, J.B., Cho, S.R. & Kim, J.S. (2011) A Feasible Technique for Transient Vascular Occlusion by Using a Vessel Loop and Hem-o-Lok Clips in Laparoscopic Partial Nephrectomy. *Korean Journal of Urology*, 52, 543-547.
- Läkemedelsverket (2010-07-25) *Kliniska provningar*. [Elektronisk] Tillgänglig: <http://www.lakemedelsverket.se/malgrupp/Foretag/Medicinteknik/Kliniska-provningar/> [2013-01-04].
- Ma, L., Ya, J., Tian, X., Wang, G., Hou, X. & Zhao, L. (2010) Technical Modifications of Retroperitoneoscopic Live Donor Nephrectomy: Chinese Experience. *Transplantation Proceedings*, 42, 3440-3443.
- Michaletz, P.A. & Judge, D. (1989) Microwave Energy Compared With Heater Probe and BICAP in Canine Models of Peptic Ulcer Hemorrhage. *Gastroenterology*, 97, 676-684.

- Ping, H., Xing, N-Z., Zhang, J-H., Yan, Y., Kang, N. & Niu, Y-N. (2010) Application of the Hem-o-lok ligation system in laparoscopic nephrectomy. *Surgical Endoscopy*, 24, 1494-1497.
- Roby, M.S. & Kennedy, J. (2004) Sutures. I: Ratner, B.D. *et al.* (red), *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. 2 uppl. London: Elsevier Academic Press, 614 -627.
- Sackman, J.E. (2012) Surgical Modalities: Laser, Radiofrequency, Ultrasonic, and Electrosurgery. I: Tobias, K.M., Johnston, S.A. (red), *Veterinary Surgery Small Animal*. 1 uppl. Elsevier Saunders, vol 1, 180-186.
- Sawyer, D.C., Brown, M., Striler, E.L., Durham, R.A., Langham, M.A. & Rech, R.H. (1991) Comparison of Direct and Indirect Blood Pressure Measurement in Anesthetized Dogs. *Laboratory Animal Science*, 42, 134-138.
- Sjaastad, Ø. V., Sand, O. & Hove, K. (2010) *Physiology of Domestic Animals*. 2 uppl. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Schmiedt, C.W. (2012) Suture Material, Tissue Staplers, Ligation Devices, and Closure Methods. I: Tobias, K.M., Johnston, S.A. (red), *Veterinary Surgery Small Animal*. 1 uppl. Elsevier Saunders, vol 1, 187-200.
- Solander, Gunilla., Akademiska sjukhuset, Uppsala, Sverige, personligt meddelande. 2013-01-04.
- Toombs, J.P. & Clarke, K.M. (2003) Basic Operative Techniques. I: Slatter, D. (red), *Textbook of Small Animal Surgery*. 3 uppl. Philadelphia: Saunders, 199-222.
- Waddell, L.S. (2000) Direct Blood Pressure Monitoring. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 15, 111-118.
- Waddell, L.S. (2010) Hypotension. I: Ettinger, S.J. & Feldman, E.C. (red), *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 7 uppl. Canada, n/a: Saunders Elsevier, vol 1, 585-588.
- Weiser, T.G., Regenbogen, S.E., Thompson, K.G., Haynes, A.B., Lipsitz, S.R., Berry, W.R. & Gawande, A.A. (2008) An estimate of the global volume of surgery: a modelling strategy based on available data. *Lancet*, 372, 139-144.
- Werner, R.E., Straughan, J.A. & Vezin, D. (1992) Nylon cable band reactions in ovariohysterectomized bitches. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 200, 64-66.
- World Alliance for Patient Safety. (2006) The First Global Patient Safety Challenge – Clean Care is Safer Care - Glove Use (technical). [Elektronisk] World Health Organization. Informationsblad 6 av 7. [Brochyr] Tillgänglig: <http://www.who.int/gpsc/tools/Infsheet6.pdf> [2012-12-21].
- Wright, J.G., McGeer, A.J., Chyatte, D. & Ransohoff, D.F. (1991) Mechanisms of Glove Tears and Sharp Injuries Among Surgical Personnel. *Journal of American Medical Association*, 266, 1668-1671.
- Zagraniski, M.J. (1980) Ovariohysterectomy in the Pregnant Cat Utilizing a Nylon Cable Tie Band. *Feline Practice*, 10, 41-44.
- Öhlund, M., Höglund, O., Olsson, U. & Lagerstedt, A-S. (2011) Laparoscopic ovariectomy in dogs: a comparison of the LigaSure™ and the SonoSung™ systems. *Journal of Small Animal Practice*, 52, 290-294.