

بررسی آلودگی باکتریایی دریچه‌های قلبی مورد استفاده در مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران طی سال‌های ۱۳۸۰-۱۳۸۴

الهام روان‌آسا^۱، رضوان منیری^{۲*}، حسن سیدامامی رضوی^۳، سید‌حیدر رضا آقایان^۴، علی رسولی^۵، بابک ارجمند^۶

سابقه و هدف: با توجه به اهمیت ستون بودن دریچه‌های قلبی و آماده‌سازی آنها به روش آسپتیک و به منظور تعیین میزان تاثیر کمپلکس آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده بر استریل‌سازی دریچه‌های قلبی این تحقیق طی سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۴ در مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به صورت توصیفی بر روی داده‌های موجود (Existing data) (بر روی ۸۴۸ نمونه قلبی که جهت عمل پیوند به مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران ارسال شده بود، انجام پذیرفت. قطعاتی از دریچه‌های قلبی را در دو لوله‌ی آزمایش، یکی شامل کمپلکس آنتی‌بیوتیک و دیگری ناقص آن قرار داده و سپس به محیط آگار خون‌دار و آگار انوزین متیلن‌بلو تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. عوامل آلوود کننده باکتریایی جدا شده و با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد تعیین هویت گردیدند. میزان آلوودگی قبل و بعد از مصرف کمپلکس آنتی‌بیوتیکی با استفاده از آزمون کای دو آنالیز گردید.

نتایج: آلوودگی اولیه‌ی نمونه‌های تهیه شده از دریچه‌های قلبی ۷/۳٪ بوده که بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک میزان آلوودگی به ۰/۵٪ کاهش پیدا کرده است ($p < 0/01$). شایع‌ترین باکتری جدا شده از نمونه‌های قلبی قبل از استفاده از آنتی‌بیوتیک، انترباکتر با ۶۲ مورد (۴/۱۹٪) استرپتوکوک ۵۵ مورد (۲/۱۷٪) و کلیسیلا با ۴۵ مورد (۱/۱۴٪) بود. ۶۴ مورد از نمونه‌های قلبی بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک آلوود بودند و شایع‌ترین باکتری جدا شده از نمونه‌های قلبی بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک کلیسیلا با ۳۷ مورد (۴/۸۰٪) بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به میزان آلوودگی بالا با کلیسیلا بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک پیشنهاد می‌گردد الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سوش‌های جدا شده از نمونه‌ها به ویژه باسیل‌های گرم منفی تعیین و آنتی‌بیوتیک مناسب انتخاب گردد.

واژگان کلیدی: ستون‌سازی، دریچه‌های قلب، آنتی‌بیوتیک‌ها

- ۱- کارشناس مجتمع بیمارستانی امام خمینی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران
- ۲- دانشیار گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان،
- ۳- استادیار دانشگاه علوم پزشکی تهران، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران
- ۴- پزشک عمومی، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران
- ۵- پژوهش گر مجتمع بیمارستانی امام خمینی، مرکز تحقیقات ترمیم ضایعات نخاعی
- ۶- پزشکی عمومی، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران

* نویسنده مسؤول: رضوان منیری

آدرس: کاشان، کیلومتر ۵ بلوار قطب راوندی، دانشکده‌ی پزشکی، گروه میکروب‌شناسی و ایمنی شناسی

پست الکترونیک: moniri@kaums.ac.ir

تلفن: ۰۳۶۱ ۵۵۵۰۰۲۱

دورنویس: ۰۳۶۱ ۵۵۵۱۱۱۲

تاریخ دریافت: ۱۸/۹/۸۵

تاریخ پذیرش نهایی: ۲۸/۱/۸۷

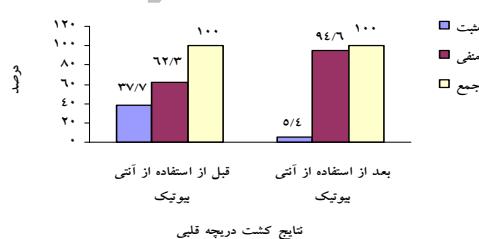
و نیازمند استانداردهای بالایی در طی فرآیند تدارک، انتقال، آلوودگی‌زدایی، فریز کردن، ذخیره، آب کردن و پیوند زدن دارد. در پیوند دریچه‌های قلبی این مساله قابل توجه بوده که دریچه‌های به دست آمده از اجسام به طور معمول آلوود می‌باشند و باستی سترون شده و آلوودگی‌زدایی آنها باستی توسط میکروب‌ولوژیست تایید و بعد در کلینیک مورد استفاده قرار گیرند [۲]. برای اولین بار

مقدمه دریچه‌های قلب انسان برای پیوند و جایگزینی از سال ۱۹۶۲ مورد استفاده قرار گرفته است. تعداد دهنده‌گان دریچه‌های قلبی محدود بوده و تهیه و آماده‌سازی دریچه‌های قلبی به روش آسپتیک اهمیت زیادی دارد [۱]. انجام کلینیکی آلوگرافت‌های دریچه‌های قلبی با قابلیت زنده ماندن فیروپلاست‌ها بستگی داشته

آزمایش که یکی شامل کمپلکس آنتی‌بیوتیک حاوی جنتامایسین، استرپتومایسین، کلواگزاسیلین، سفتریاکسون و آمفوتیریپسین B و قطعه‌ی دیگر در لوله‌ی فاقد آنتی‌بیوتیک به مدت ۲۴ ساعت در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده و سپس به محیط آگار خون‌دار و آگار انژوزین متیلن‌بلو تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید. هویت عوامل ایجاد‌کننده آنودگی از طریق رنگ‌آمیزی گرم و آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد نظر آزمون اینسلول، متیل رد، وززپرسکوئر، سیترات (IMViC)، TSI، اکسیداز، کاتالاز و کوآگولاز و آزمون حساسیت به باسیتراسین تعیین گردید. قطعات دریچه‌های قلب از نظر وجود یا عدم وجود آنودگی باکتریایی مشخص و با استفاده از آزمون آماری کای دو مقایسه میزان آنودگی قبل و بعد از مجاورت کمپلکس آنتی‌بیوتیک مقایسه گردید.

نتایج

یافته‌های پژوهش نشان می‌دهد که از ۸۴۸ نمونه قلبی کشت شده قبل از استفاده از آنتی‌بیوتیک ۳۲۰ نمونه (۳۷/۷٪) دارای کشت مثبت بودند. بیشترین درصد باکتری جدا شده آنtro باکتر ۶۲ مورد (۱۹/۴٪)، استرپتوکوک ۵۵ مورد (۱۷/۲٪)، کلیسیلا ۴۵ مورد (۱۴/۱٪)، باسیلوس ۴۳ مورد (۱۳/۴٪)، اشریشیاکلی ۳۱ مورد (۹/۷٪) و استافیلکوک ۳۰ مورد (۹/۴٪) بود. نمودار شماره‌ی ۱ توزیع درصد آنودگی باکتریایی نمونه‌های قلبی قبل و بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک را نشان می‌دهد. نمودار شماره‌ی ۲ و ۳ توزیع درصد باکتری‌های جدا شده در نمونه‌های قلبی قبل و بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک را نشان می‌دهد. شایع‌ترین باکتری جدا شده از نمونه‌ی قلبی کشت شده بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک کلیسیلا ۳۷ مورد (۸۰/۴٪) بود. جدول شماره‌ی ۱ توزیع فراوانی باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های قلبی قبل و بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک بر حسب کشت یک یا دو نوع باکتری را نشان می‌دهد.



نمودار ۱- توزیع نتایج کشت در ۸۴۸ نمونه‌ی قلبی قبل و بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک در مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران طی سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۴

در سال ۱۹۶۸ Barratt-Boyes برای سترونسازی از آنتی‌بیوتیک استفاده نمود [۳]. در ابتدا از دوز بالای آنتی‌بیوتیک استفاده شده [۴] و به مرور برای کاهش سیتوتوکسیته، غلظت آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی کاهش یافته است [۵]. از غلظت پایین پنی‌سیلین و استرپتومایسین استفاده و با این روش میزان سترون بودن به ۹۸٪ رسیده و با استفاده از این غلظت در لندن ۶۲٪ از نمونه‌ها آنوده باقی مانده بودند [۳] پرتوکل‌های گوناگون و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در مرکز متفاوت استفاده شده است. دریچه‌ها در محیط‌های مختلف و در درجه‌های مختلف (۴ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد) انکوبه شده و زمان به کار رفته برای سترونسازی نیز متفاوت بوده است [۶-۷]. از سال ۱۳۸۰ کمپلکس آنتی‌بیوتیکی حاوی جنتامایسین، استرپتومایسین، کلواگزاسیلین، سفتریاکسون و آمفوتیریپسین B در استریل‌سازی دریچه‌های قلبی در مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران استفاده شده است. با توجه به این که الگوی مقاومت میکروبی نسبت به آنتی‌بیوتیک موجود به طور دائم در حال تغییر بوده و از هر کشوری به کشور دیگر و حتی از منطقه‌ای به منطقه‌ای دیگر متفاوت می‌باشد. بنابراین کوشش‌هایی صورت گرفته تا مخلوط آنتی‌بیوتیکی مناسب برای نیازهای محلی تهیه و به کار رود. تعیین آنودگی اولیه و ثانویه باکتریایی دریچه‌های قلبی معیاری بر کنترل کیفی فرآیند تهیه و فرآوری دریچه‌های قلبی می‌باشد [۸-۹]. از آنجایی که تا به حال مطالعه‌ای در ایران بر روی اثربخشی این کمپلکس انجام نپذیرفته است و اطلاعاتی راجع به میزان آنودگی باکتریایی اولیه و ثانویه بافت‌های فرآوری شده موجود نمی‌باشد. از این رو با استفاده از اطلاعات ثبت شده در دفاتر مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران در سال‌های ۱۳۸۰-۱۳۸۴ و با استفاده از داده‌های موجود اطلاعات راجع به رشد باکتری‌ها از دریچه‌های قلبی قبل و بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک استخراج کرده و نتایج آن با هم مقایسه گردید. در صورتی که کمپلکس آنتی‌بیوتیکی مصرفی مناسب نباشد می‌بایست در آینده نسبت به جایگزینی و تغییر نوع آنتی‌بیوتیک‌های موجود در کمپلکس آنتی‌بیوتیک اقدام نمود.

مواد و روش‌ها

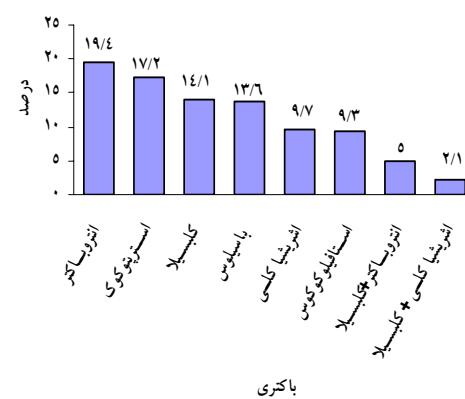
این مطالعه به صورت Existing data بر روی ۸۴۸ نمونه قلبی انجام پذیرفت. دریچه‌های قلب پس از ورود به مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران شماره‌ی مشخصی دریافت و اطلاعات مربوط به دریچه‌های قلبی با شماره‌ی دریافت و اطلاعات مربوط به دریچه‌های قلبی قبل و مخصوص در کلیه دفاتر مرکز ثبت و شناسایی گردید. از دریچه‌های قلبی مورد استفاده دو قطعه برداشته و آنها را در دو لوله‌ی

بحث

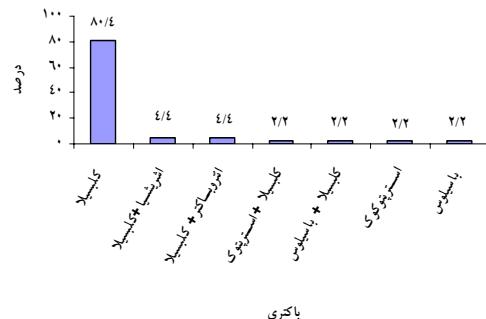
نتایج این بررسی نشان داد که اثربخشی کپلکس آنتی-بیوتیک مورد استفاده از سال ۱۳۸۰ در مرکز بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بوده و میزان آلودگی به باکتری‌های گرم مثبت را به طور قابل توجهی کاهش داده است. آلودگی اولیه‌ی نمونه‌های تهیه شده از نمونه‌های قلبی $7/37\%$ بوده که بیشترین موارد انتروباکتر و بعد استرپتوكوک بوده است که بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک میزان آلودگی به $4/5\%$ کاهش یافته است. دریچه‌های قلب دارای کشت مثبت با یک نوع باکتری و $14/7\%$ با دو نوع باکتری آلوده بودند. در همه‌ی موارد دریچه‌های قلب دارای کشت مثبت با دو نوع باکتری، کلبسیلا رشد نموده بود. شایع‌ترین باکتری‌های گرم منفی جدا شده از نمونه‌های قلبی قبل از استفاده از آنتی‌بیوتیک، انتروباکتر $62/4$ مورد ($4/19\%$) و کلبسیلا $45/4$ مورد ($1/14\%$) بود و شایع‌ترین باکتری گرم مثبت جدا شده استرپتوكوک با $17/2$ ٪ و باسیلوس با $13/4$ ٪ بودند. در مطالعه Verghese و همکاران بر روی نمونه‌ی قلبی در طی سال‌های ۱۹۹۵ تا ۱۹۹۹ از باکتری‌های گرم منفی جدا شده کلبسیلا $24/8$ درصد، پسودوموناس $12/4$ ٪، انتروباکتر $11/7$ ٪ و اشريشیا کلی $8/6$ ٪ و از باکتری‌های گرم مثبت انتروکوک $4/1$ ٪، باسیل‌های هوایی اسپوردار $10/3$ ٪، دیفتروئید $7/7$ ٪، استافیلکوکوس ارئوس $6/1$ ٪، استافیلکوکوک‌های کواگولاز منفی $6/1$ ٪ و استرپتوكوکوس ویریدانس $4/1$ ٪ موارد آلودگی را تشکیل داده بودند [۱]. مطالعه Verghese و همکاران بر روی $58/5$ نمونه‌ی قلبی از سال ۱۹۹۵ تا $20/3$ نشان داد که ابتدا باسیل‌های گرم منفی و سپس باکتری‌های گرم مثبت غالب ایزوله‌ها را تشکیل داده بودند به طوری که از باکتری‌های گرم منفی جدا شده کلبسیلا با $20/7$ ٪، اشريشیا کلی $16/1$ ٪، انتروباکتر $12/6$ ٪، پسودوموناس $3/4$ ٪ و از باکتری‌های گرم مثبت جدا شده میکروکوک با $15/7$ ٪، استافیلکوکوک‌های کواگولاز منفی $8/8$ ٪ انتروکوک $7/9$ ٪ و دیفتروئید $5/7$ ٪ موارد را تشکیل داده بودند [۷] در مطالعه Tabaku در سال 2005 بر روی $94/8$ گرافت پروسه شده با دوز پایین آنتی‌بیوتیک در طی پروسه‌ی آماده‌سازی آلوجرافت‌های کاردیوواسکولار در یک دوره-ی دو ساله نتایج به دست آمده نشان داد که شایع‌ترین باکتری جدا شده استافیلکوک کواگولاز منفی بوده است. $53/4$ آلوجرافت‌های کاردیوواسکولار درصد به تهایی و $8/9$ ٪ با سایر باکتری‌ها آلوده بودند [۸]. نتایج بررسی ما نشان داد $4/6$ مورد از نمونه‌های قلبی بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک آلوده بودند که شایع‌ترین باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های قلبی بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک کلبسیلا با 37 مورد ($80/4$ ٪) بود. آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در

جدول ۱- توزیع فراوانی نتیجه‌های کشت از دریچه‌های قلبی قبل و بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک بر حسب کشت یک یا دو نوع باکتری در مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران طی سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۴

P value	قبل از استفاده از آنٹی بیوتیک	بعد از استفاده از آنٹی بیوتیک	نتیجه کشت
0.000	$39(48/8)$	$273(85/3)$	یک نوع باکتری
	$7(15/2)$	$47(14/7)$	دو نوع باکتری
	$46(5/4)$	$320(37/7)$	جمع کشت مثبت
	$802(94/6)$	$528(62/3)$	کشت منفی
	$848(100)$	$848(100)$	جمع کل



نمودار ۲- توزیع درصد باکتری‌های جدا شده در نمونه‌های قلبی قبل از استفاده از آنتی‌بیوتیک در مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران طی سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۴



نمودار ۳- توزیع درصد باکتری‌های جدا شده در نمونه‌های قلبی بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک در مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران طی سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۴

بایستی تغییر یابد و این امر با تعیین مقاومت آنتی‌بیوتیکی باسیل-های گرم منفی جدا شده امکان‌پذیر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتیجه‌گیری می‌شود که اثربخشی کمپلکس آنتی‌بیوتیکی مصرفی بر استریل‌سازی در بیچه‌های قلبی در مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران بر روی باکتری‌های گرم مثبت پیشتر از باکتری‌های گرم منفی بوده و میزان آلوودگی را به طور قابل توجهی کاهش داده است. با توجه به این که $80/4\%$ نمونه‌های قلبی بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک با کلبسیلا آلوود بودند و نشان‌گر این است که کمپلکس آنتی‌بیوتیک مصرفی اثربخشی خوبی بر روی باکتری‌های گرم منفی نداشته است. لذا پیشنهاد می‌گردد با تحقیقات آنتی‌بیوتیکی روی شناسایی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سوش‌های جدا شده از نمونه‌ها به ویژه باسیل‌های گرم منفی، الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی را تعیین نموده و با شناسایی آنتی‌بیوتیک‌های مقاوم نسبت به جایگزینی و تغییر نوع آنتی‌بیوتیک‌های موجود در کمپلکس آنتی‌بیوتیک مصرفی بر سترون‌سازی در بیچه‌های قلبی در مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران اقدام نمود که این منجر به بهره‌وری بیشتر و افزایش کیفیت در بیچه‌های قلبی و کاهش هزینه‌ها می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران که با حمایت مالی انجام این پژوهه را فراهم نموده و از مهندس مسعود منیری که در انجام آنالیز آماری همکاری نمودند قدردانی می‌گردد.

References:

- [1] O'Brien MF, Harrocks S, Stafford EG, Gardner MA, Pohlner PG, Tesar PJ, et al. The homograft aortic valve: a 29-year, 99.3% follow up of 1,022 valve replacements. *J Heart Valve Dis* 2001; 10: 334-345.
- [2] Bodnar E, Ross DN. Valvular homografts. In: Bodnar E, Frater R (eds). Replacement of Cardiac Valves. New York: McGraw-Hill, Inc. Health Professions Division; 1992. p. 287-306.
- [3] Barratt-Boyes BG. 25 year's clinical experience of allograft surgery-a time for reflection 1962-1987. Yankah AC, Hetzer R, Miller DC, Ross DN, Somerville J, Yacoub MH (eds), *Cardiac Valve Allografts* New York: Springer 1987. p. 347-358.
- [4] Virdhi IS, Munro JL, Ross JK. Aortic valve replacement with antibiotic sterilized homograft valves: 11-year experience at Southampton. Bodner E, Yacoub M (eds). Biologic and Bioprosthetic Valves. New York: Yorke Medical Books 1986. p. 29-37.
- [5] Bodner E, Yankah AC, Hetzer R, Miller DC, Ross DN, Somerville J, Yacoub MH. *Cardiac Valve Allografts* New York: Springer; 1987. p. 379.
- [6] Verghese S, Sudha P, Padmaja P, Mathew T, Prabhakar P, Arumugam SB, et al. Cryopreservation of cardiac homografts. *Indian Heart J* 1999; 51: 301-306.
- [7] Verghese S, Padmaja P, Sindhu B, Elizabeth SJ, Lesley N, Cherian KM. Homograft valve bank: our experience in valve banking. *Indian Heart J* 2004; 56: 299-306.

کمپلکس مورد استفاده بر روی باکتری‌های گرم منفی اثربخشی مناسبی نداشته است. مطالعه‌ی Gall و همکاران در سال ۱۹۹۵ در بیمارستان پرنس چارلز از تجربه‌ی ۲۵ ساله در در بیچه‌های قلب در باره‌ی میزان آلوودگی و اثربخشی کوتاه مدت و استفاده از آنتی‌بیوتیک با دوز پایین نشان داد که آلوودگی اولیه‌ی نمونه‌های تهیه شده از اجسام 54% بوده که بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک میزان آلوودگی به 11% کاهش پیدا کرد ($p<0.05$) و مجاورت با آنتی‌بیوتیک در 370 درجه سانتی‌گراد برای 6 ساعت میزان آلوودگی را به 4% کاهش داد [۹]. مطالعه‌ی Strickett و همکاران در سال ۱۹۸۳ نشان داد که کوکتل آنتی‌بیوتیکی همان اثربخشی 13 سال گذشته را داشته است و یک ایزوله از گونه‌ی پسودوموناس کاهش حساسیت به پلی‌میکسین B را نشان داده است [۱۰]. مطالعه Wain و همکاران در سال ۱۹۷۷ نشان داد که 6 مخلوط آنتی‌بیوتیکی مختلف در مجاورت آلوگرافت‌های در بیچه‌ی قلبی در بیمارستان ملی قلب استفاده گردیده و توصیه نمود که نیاز به غربالگری رایج میکروبیولوژیک برای هر در بیچه بوده تا مخلوط آنتی‌بیوتیک انتخاب گردد [۱۱]. Baumgartner در سال ۲۰۰۱ نشان داد که از 7 قلب مجاور با آنتی‌بیوتیک 6 مورد سترون شدند [۱۲]. مطالعه‌ای در برزیل از سال ۱۹۹۶ تا 2005 بر روی 1059 قلب نشان داد که محلول آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده فقط در 330 مورد موثر بوده است [۱۳]. کمپلکس آنتی‌بیوتیک حاوی جنتاماکسین، استرپتو‌ماکسین، کلواگری‌اسیلین، سفتیریاکسون و آمفوتریپسین B که در حال حاضر در مرکز مورد استفاده قرار می‌گیرد بر روی کلبسیلا، عوامل بیماری‌زای فرست طلب مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها موثر نمی‌باشد و به نظر می‌رسد اجزای این کمپلکس

- [8] Tabaku M. Jashari R. Carton HF. DU Verger A. Van Hoeck B. Vanderkelen A. Processing of cardiovascular allografts: effectiveness of European Homograft Bank (EHB) antimicrobial treatment (cool decontamination protocol with low concentration of antibiotics). *Cell Tissue Bank* 2005; 15: 261-266.
- [9] Gall K. Smith S. Willmette C. Wong M. O'Brien M. Allograft heart valve sterilization: a six-year in-depth analysis of a twenty-five-year experience with low-dose antibiotics. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 110: 680-687.
- [10] Strickett MG. Barratt-Boyes BG. MacCulloch D. Disinfection of human heart valve allografts with antibiotics in low concentration. *Pathology* 1983; 15: 457-462.
- [11] Wain WH. Pearce HM. Riddell RW. Ross DN. A re-evaluation of antibiotic sterilisation of heart valve allografts. *Thorax* 1977; 32: 740-742.
- [12] Baumgartner N. Guerrero E. Menna M. Leone F. Soratti C. Microbiological indicators as quality in a valvular Homograft Bank. *Transplantat proc* 2001; 33: 633-663.
- [13] Costa MT. Costa FD. Nazareno LC. Domachosk J. Colatusso C. Gomes CH. Costa IA, Analysis of the initial eight years of activities of the Human Heart Valve Bank of the Hospital de Caridade da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Curitiba. *Braz J Cardiovasc Surg* 2005; 20: 398-407.