

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

الهام روان‌آسا<sup>۱</sup>، رضوان منیری<sup>۲\*</sup>، حسن سیدامامی رضوی<sup>۳</sup>، سیدحمیدرضا آقاییان<sup>۴</sup>، علی رسولی<sup>۵</sup>، بابک ارجمند<sup>۶</sup>

**سابقه و هدف:** با توجه به اهمیت سترون بودن دریاچه‌های قلبی و آماده‌سازی آن‌ها به روش آسپتیک و به منظور تعیین میزان تاثیر کمپلکس آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده بر استریل‌سازی دریاچه‌های 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 دریاچه‌های قلبی را در دو لوله‌ی آزمایش، یکی شامل کمپلکس آنتی‌بیوتیک و دیگری فاقد آن قرار داده و سپس به محیط آگار خون‌دار و آگار ائوزین متیلن‌بلو تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. عوامل آلوده‌کننده باکتریایی جدا شده و با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد تعیین هويت گردیدند. میزان آلودگی قبل و بعد از مصرف کمپلکس آنتی‌بیوتیکی با استفاده از آزمون کای دو آنالیز گردید.

**نتایج:** آلودگی اولیه‌ی نمونه‌های تهیه شده از دریاچه‌های قلبی ۳۷/۷٪ بوده که بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک میزان آلودگی به ۵/۴٪ کاهش پیدا کرده است ( $p < 0/001$ ). شایع‌ترین باکتری جدا شده از نمونه‌های قلبی قبل از استفاده از آنتی‌بیوتیک، اتروباکتر با ۶۲ مورد (۱۹/۴٪)، استرپتوکوک ۵۵ مورد (۱۷/۲٪) و کلبسیلا با ۴۵ مورد (۱۴/۱٪) بود. ۴۶ مورد از نمونه‌های قلبی بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک آلوده بودند و شایع‌ترین باکتری جدا شده از نمونه‌های قلبی بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک کلبسیلا با ۳۷ مورد (۸۰/۴٪) بود.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به میزان آلودگی بالا با کلبسیلا 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:** سترون‌سازی، دریاچه‌های قلب، آنتی‌بیوتیک‌ها

۱- کارشناس مجتمع بیمارستانی امام خمینی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران

۲- دانشیار گروه میکروبی 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- پژوهش‌گر مجتمع بیمارستانی امام خمینی، مرکز تحقیقات ترمیم ضایعات نخاعی

۶- پزشکی عمومی، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران

\* نویسنده مسوول: رضوان منیری

آدرس: کاشان، کیلومتر ۵ بلوار قطب رواندی، دانشکده پزشکی، گروه میکروبی‌شناسی و ایمنی شناسی

پست الکترونیک: moniri@kaums.ac.ir

تلفن: ۰۳۶۱ ۵۵۵۰۰۲۱

تاریخ دریافت: ۸۵/۹/۱۸

تاریخ پذیرش نهایی: ۸۶/۱/۲۸

دورنویس: ۰۳۶۱ ۵۵۵۱۱۱۲

### مقدمه

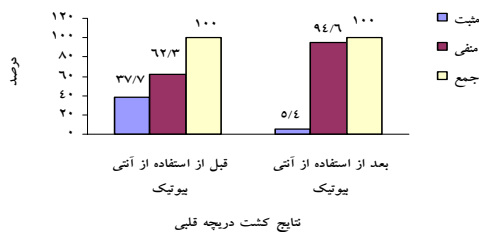
و نیازمند استانداردهای بالایی در طی فرآیند تدارک، انتقال، آلودگی‌زدایی، فریز کردن، ذخیره، آب کردن و پیوند زدن دارد. در پیوند دریاچه‌های قلبی این مساله قابل توجه بوده که دریاچه‌های به دست آمده از اجساد به طور معمول آلوده می‌باشند و بایستی سترون شده و آلودگی‌زدایی آنها بایستی توسط میکروبیولوژیست تایید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

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

آزمایش که یکی شامل کمپلکس آنتی‌بیوتیک حاوی جنتامایسین، استرپتومایسین، کلواگزاسیلین، سفتریاکسون و آمفوتریسین 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 انوزین متیلن‌بلو تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید. هویت عوامل ایجادکننده آلودگی از طریق رنگ‌آمیزی گرم و آزمون‌های بیوشیمیایی استاندارد نظیر آزمون ایندول، متیل رد، وژرپرسکوئر، سیرتات (IMViC)، TSI، اکسیداز، کاتالاز و کوآگولاز و آزمون حساسیت به باسیتراسین تعیین گردید. قطعات دریچه‌های قلب از نظر وجود یا عدم وجود آلودگی باکتریایی مشخص و با استفاده از آزمون آماری کای دو مقایسه میزان آلودگی 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 آنتروباکتر ۶۲ مورد (۱۹/۴٪)، استرپتوکوک ۵۵ مورد (۱۷/۲٪)، کلبسیلا ۴۵ مورد (۱۴/۱٪)، باسیلوس ۴۳ مورد (۱۳/۴٪)، اشیشاکلی ۳۱ مورد (۹/۷٪) و استافیلوکوک ۳۰ مورد (۹/۴٪) بود. نمودار شماره ۱ توزیع درصد آلودگی باکتریایی نمونه‌های قلبی قبل و بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک را نشان می‌دهد. نمودار شماره 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 کلبسیلا ۳۷ مورد (۸/۴٪) بود. جدول شماره 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]. Barratt-Boyes 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 آلوده باقی مانده بودند [۳] پروتکل‌های گوناگون و آنتی-بیوتیک‌های مختلف در مراکز 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 آمفوتریسین 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 دایم در حال تغییر بوده و از هر کشوری به کشور دیگر و حتی از منطقه‌ای به منطقه‌ی دیگر متفاوت می‌باشد. بنابراین کوشش‌هایی صورت گرفته تا مخلوط آنتی‌بیوتیکی مناسب برای نیازهای محلی تهیه و به کار رود. تعیین آلودگی 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 پذیرفته است و اطلاعاتی راجع به میزان آلودگی 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 ۱۳۸۴-۱۳۸۰ 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

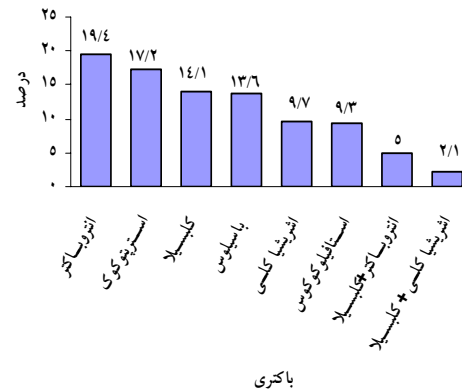
این مطالعه به صورت Existing data بر روی ۸۴۸ نمونه‌ی قلبی انجام پذیرفت. دریچه‌های قلب پس از ورود به مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران شماره‌ی مشخصی دریافت و اطلاعات مربوط به دریچه‌های قلبی با شماره‌ی مخصوص در کلیه دفاتر مرکز ثبت و شناسایی گردید. از دریچه‌های قلبی مورد استفاده دو قطعه برداشته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

## بحث

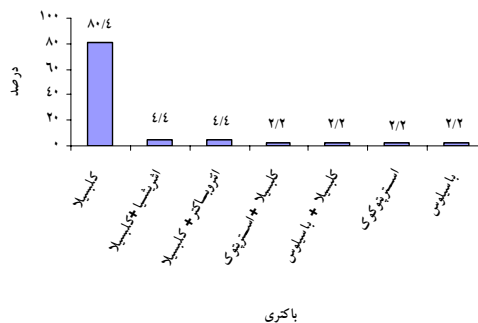
نتایج این بررسی نشان داد که اثربخشی کمپلکس آنتی-بیوتیکی مورد استفاده از سال ۱۳۸۰ در مرکز بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بوده و میزان آلودگی به باکتری‌های گرم مثبت را به طور قابل توجهی کاهش داده است. آلودگی اولیه نمونه‌های تهیه شده از نمونه‌های قلبی ۳۷/۷٪ بوده که بیشترین موارد انتروباکتر و بعد استرپتوکوک بوده است که بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک میزان آلودگی به ۵/۴٪ کاهش یافته است. ۸۵/۳٪ درجه‌های قلب دارای کشت مثبت با یک نوع باکتری و ۱۴/۷٪ با دو نوع باکتری آلوده بودند. در تمامی موارد درجه‌های 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 ۶۲ مورد (۱۹/۴٪) و کلبسیلا ۴۵ مورد (۱۴/۱٪) بود و شایع‌ترین باکتری گرم مثبت جدا شده استرپتوکوک با ۱۷/۲٪ و باسیلوس با ۱۳/۴٪ بودند. در مطالعه Verghese و همکاران بر روی نمونه‌های قلبی در طی سال‌های ۱۹۹۵ تا ۱۹۹۹ از باکتری‌های گرم منفی جدا شده کلبسیلا ۴۴/۸ درصد، پسودوموناس ۱۲/۴٪، انتروباکتر ۱۱/۷٪ و اشریشیا کلی ۸/۶٪ و از باکتری‌های گرم مثبت انتروکوک ۴۱٪، باسیل‌های هوازی اسپوردار ۱۰/۳٪، دیفتروئید ۷/۷٪، استافیلوکوکوس ارئوس ۶/۱٪، استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی ۶/۱٪ و استرپتوکوکوس ویریدانس ۴/۱٪ موارد آلودگی را تشکیل داده بودند [۶]. مطالعه Verghese و همکاران بر روی ۵۵۸ نمونه‌های قلبی از سال ۱۹۹۵ تا ۲۰۰۳ 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 ۲۰/۷٪، اشریشیا کلی ۱۶/۱٪، انتروباکتر ۱۲/۶٪، پسودوموناس ۳/۴٪ و از باکتری‌های گرم مثبت جدا شده میکروکوک با ۱۵/۷٪، استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی ۸/۸٪، انتروکوک ۶/۹٪ و دیفتروئید ۵/۷٪ موارد را تشکیل داده بودند [۷]. در مطالعه Tabaku در سال ۲۰۰۵ بر روی ۹۴۸ گرفت پروسه شده با دوز پایین آنتی‌بیوتیک در طی پروسه‌ی آماده‌سازی آلوگراف‌های کاردیوواسکولار در یک دوره-ی دو ساله نتایج به دست آمده نشان داد که شایع‌ترین باکتری جدا شده استافیلوکوک کوآگولاز منفی بوده است. ۵۳/۴٪ آلوگراف‌های کاردیوواسکولار درصد به تنهایی و ۸/۹٪ با سایر باکتری‌ها آلوده بودند [۸]. نتایج بررسی ما نشان داد ۴۶ 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 ۳۷ مورد (۸۰/۴٪) بود. آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در

جدول ۱- توزیع فراوانی نتیجه‌ی کشت از درجه‌های 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

نتیجه کشت	قبل از استفاده از آنتی‌بیوتیک		بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
یک نوع باکتری	۲۷۳	(۸۵/۳)	۳۹	(۴۸/۸)
دو نوع باکتری	۴۷	(۱۴/۷)	۷	(۱۵/۲)
جمع کشت مثبت	۳۲۰	(۳۷/۷)	۴۶	(۵/۴)
کشت منفی	۵۲۸	(۶۲/۳)	۸۰۲	(۹۴/۶)
جمع کل	۸۴۸	(۱۰۰)	۸۴۸	(۱۰۰)



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 باسیل‌های گرم منفی جدا شده امکان‌پذیر می‌باشد.

#### نتیجه‌گیری

نتیجه‌گیری می‌شود که اثربخشی کمپلکس آنتی‌بیوتیکی مصرفی بر استریل‌سازی دریچه‌های قلبی در مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بوده و میزان آلودگی را به طور قابل توجهی کاهش داده است. با توجه به این که ۸۰/۴٪ نمونه‌های قلبی بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک با کلبسیلا آلوده بودند و نشان‌گر این است که کمپلکس آنتی‌بیوتیک مصرفی اثربخشی خوبی بر روی باکتری‌های گرم منفی نداشته است. لذا پیشنهاد می‌گردد با تحقیقات آتی بر 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 دریچه‌های قلبی در مرکز تحقیقات و بانک فرآورده‌های پیوندی ایران اقدام نمود که این منجر به بهره‌وری بیشتر و افزایش کیفیت دریچه‌های 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 پروژه را فراهم نموده و از مهندس مسعود منیری که در انجام آنالیز آماری همکاری نمودند قدردانی می‌گردد.

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 دریچه‌های قلب دربارہ‌ی میزان آلودگی و اثربخشی کوتاه مدت و استفاده از آنتی‌بیوتیک با دوز پایین نشان داد که آلودگی اولیه‌ی نمونه‌های تهیه شده از اجساد ۵۴٪ بوده که بعد از استفاده از آنتی‌بیوتیک میزان آلودگی به ۱۱٪ کاهش پیدا کرد ( $p < 0.05$ ) و مجاورت با آنتی‌بیوتیک در ۳۷° درجه سانتی‌گراد برای ۶ ساعت میزان آلودگی را به ۴٪ کاهش داد [۹]. مطالعه‌ی Strickett و همکاران در سال ۱۹۸۳ نشان داد که کوکتل آنتی‌بیوتیکی همان اثربخشی ۱۳ سال گذشته را داشته است و یک ایزوله از گونه‌ی پseudomonas کاهش حساسیت به پلی‌میکسین B را نشان داده است [۱۰]. مطالعه‌ی Wain و همکاران در سال ۱۹۷۷ نشان داد که ۶ مخلوط آنتی‌بیوتیکی مختلف در مجاورت آلوگرافت‌های دریچه‌ی قلبی در بیمارستان ملی قلب استفاده گردیده و توصیه نمود که نیاز به غربالگری رایج میکروبیولوژیک برای هر دریچه بوده تا مخلوط آنتی‌بیوتیک انتخاب گردد [۱۱]. Baumgartner در سال ۲۰۰۱ نشان داد که از ۷ قلب مجاور با آنتی‌بیوتیک ۶ مورد سترون شدند [۱۲]. مطالعه‌ی در برزیل از سال ۱۹۹۶ تا ۲۰۰۵ بر روی ۱۰۵۹ قلب نشان داد که محلول آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده فقط در ۳۳۰ مورد موثر بوده است [۱۳]. کمپلکس آنتی‌بیوتیک حاوی جنتامایسین، استرپتومایسین، کلواگزاسیلین، سفتریاکسون و آمفوترپسین B که در حال حاضر در مرکز مورد استفاده قرار می‌گیرد بر روی کلبسیلا، عوامل بیماری‌زای فرصت‌طلب مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها موثر نمی‌باشد و به نظر می‌رسد اجزای این کمپلکس

#### 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.

- [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 inicial 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.