مجله جراحی استخوان و مفاصل ایران
دوره یازدهم، شماره ۳ (شماره مسلسل ٤٤)، تابستان ۱۳۹۲، صفحه‌های ۱۲۰-۱۱۷

Iranian Journal of Orthopaedic Surgery
Vol 11, No 3 (Serial No 44), Summer 2013:117-20

مقاله پژوهشی

تعیین اثر سه ماده کلرهگزیدین، بتادین و نئومایسین- پلی‌میکسین B در استریل کردن تاندون آلوده

(یک مطالعه تجربی در خرگوش)

*دکتر حمیدرضا یزدی، **دکتر فرشته شاهچراغی، ***فرزاد یزدی، ****دکتر مهدی رمضان شیرازی، *****دکتر حمیدرضا دهقانی

«دانشگاه علوم پزشکی ایران»

خلاصه

پیش‌زمینه: هدف از این مطالعه، تعیین اثر سه ماده ضدعفونی‌کننده کلرهگزیدین ٤/.٪، بتادین ۱۰٪ و نیومایسین پلی‌میکسینB در استریل‌کردن تاندون آلوده در خرگوش‌ها بود.

مواد و روش‌ها: در شرایط استریل، تاندون آشیل از ۲۰ خرگوش برداشته شد و به قطعات یک سانتی‌متری برش داده شد. در مجموع ۲۰۰ نمونه تاندون به‌دست آمد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ ثانیه در کف اتاق عمل قرار داده شدند و در یکی از چهار گروه تجربی قرار گرفتند. در گروه اول (گروه کنترل)، نمونه‌ها پس از غوطه‌وری در محلول نرمال سالین به محیط کشت انتقال داده شدند. در سه گروه دیگر، قبل از انتقال به محیط کشت، نمونه‌ها برای ۹۰ ثانیه با نرمال سالین شستشو داده شد و در یک محلول آنتی‌بیوتیک (نئومایسین- پلی‌میکسین B) (گروه دوم)، کلرهگزیدین ٤/۰٪ (گروه سوم) و بتادین ۱۰٪ (گروه چهارم) قرار گرفت.

یافته‌ها: در گروه اول ٤۱ مورد از ۵۰ نمونه کشت مثبت داشتند. در۵۰ نمونه از گروه چهارم دو مورد کشت مثبت پس از ۱۰ روز نگهداری در انکوباتور یافت شد، در حالی که در گروه دوم و سوم هیچ نمونه کشت مثبت مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: کلرهگزیدین ٤/۰٪ و نئومایسین- پلی‌میکسینB بهترین ضدعفونی‌کننده برای استریل کردن نمونه تاندون آلوده می‌باشند؛ اگرچه تفاوت قابل توجهی از نظر آماری با بتادین ندارند.

واژه‌های کلیدی: استریل کردن، آلودگی ابزار، مواد ضدعفونی‌کننده موضعی، خرگوش

دریافت مقاله: ۵ ماه قبل از چاپ ؛ **مراحل اصلاح و بازنگری:** ۲ بار ؛ **پذیرش مقاله:** ۱۵ روز قبل از چاپ

Contaminated Tendons: Effect of Different Sterilizing Solutions

(an Experimental Study in Rabbits)

*Hamidreza Yazdi, MD; **Fereshteh Shahcheraghi, MD, PhD; ***Farzad Yazdi;
****Mehdi Ramezan Shirazi, MD; *****Hamidreza Dehghani, MD

Abstract

Background: The aim of this study was to determine the efficacy of different antiseptic solutions (Control group (I), Antibiotic solution (II), Chlorhexidine .4% (III), and povidone – iodine 10% (IV) in sterilizing contaminated osteochondral plugs.

Methods: Under sterile conditions, the femoral head and condyles of 20 rabbits were removed and cut into equal osteochondral pieces. A total of 200 osteochondral specimens were obtained. All 200 specimens were dropped on the operating room floor for 15 seconds and assigned to one of four experimental groups. Group I samples were cultured after washing with normal saline solution (Control group). In other three groups, prior to culturing process, samples were placed in an antibiotic solution after washing with normal saline (Neomycin & Polymyxin) (group II), Chlorhexidine .4% (group III), and povidone - iodine 10% (group IV), respectively.

Results: In group I, 41 of 50 specimens had positive cultures. Of 50 specimens of group IV, 2 specimens had positive cultures after 10 days; while in group II and III no positive cultures were found.

Conclusions: All three agents including antibiotic solution, povidone-iodine 10% and chlorhexidine 0.4% seem effective in sterilizing the contaminated osteochondral samples.

Keywords: Sterilizing; Equipment contamination; Anti infective agents, local; Rabbit

Received: 5 months before printing ; Accepted: 15 days before printing

*Orthopaedic Surgeon, Orthopaedic Department, Iran University of Medical Sciences, Tehran, IRAN.
**Microbiologist, Iran Pasteur Institute of Microbiology, Tehran, IRAN.
***Veterinary Student, Shahrekord Islamic Azad University, Shahrekord, IRAN.
****Orthopaedic Surgeon, Orthopaedic Department, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, IRAN.
*****Resident of Orthopaedic Suergery, Orthopaedic Department, Iran Universityof Medical Sciences, Tehran, IRAN.

Corresponding author: Mehdi Ramezan Shirazi, MD
Shafa Yahyaian hospital, Mojahedin Eslam Street, Tehran, Iran.
E-mail: mehdi.shirazi@yahoo.co.uk

مقدمه

آلودگی قطعه تاندون در طول عمل جراحی بازسازی رباط متقاطع یا هر عمل جراحی که ملزم به استفاده از گرافت تاندونی است ممکن است رخ دهد و می‌تواند معضل جدی برای جراح ایجاد کند. اگر نمونه در طول جراحی بر روی زمین اتاق عمل بیفتد، برای جایگزین کردن آن می‌توان به روش‌های مختلف اقدام نمود: یک روش، ضدعفونی کردن قطعه آلوده و روش دیگر استفاده از آلوگرافت می‌باشد. در برخی از موارد برداشت گرافت از محل‌های دیگر نیز انجام می‌شود که با خطرات اضافی برای بیمار همراه است[۱]. اطلاعات اندکی در رابطه با میزان کشت‌های مثبت از تاندون افتاده روی زمین و یا اثربخشی روش‌های استریل‌سازی بر نمونه‌های آلوده در دسترس است[۲,۳,٤]. یک راه‌حل منطقی برای ضدعفونی کردن نمونه، اتوکلاو و فرمالین است که به‌طور قابل توجهی تعداد ارگانیسم‌ها را کاهش می‌دهد ولی اثر زیان‌بار بر روی بافت زنده دارد. به‌عبارت دیگر، روش ایده‌آل ضدعفونی، استفاده از مواد ضد عفونی‌کننده است که ارگانیسم‌ها را بدون تاثیر مضر بر تاندون از بین می‌برد. هدف از این مطالعه اثبات بروز کشت مثبت از قطعه تاندونی است که در اتاق عمل افتاده و همچنین بررسی تاثیر روش‌های مختلف ضدعفونی‌کننده در ضدعفونی کردن قطعات آلوده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوانات و روش‌های جراحی

بیست خرگوش با وزن بین ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ گرم (میانگین ۵۰۰±۲۵۰۰) در مرکز نگهداری حیوانات بیمارستان در یک چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. در وضعیت خوابیده به پشت، بیهوشی عمومی با تزریق عضلانی کتامین ۱۰٪ (۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) انجام شد. سپس هر دو ران تا شکم کاملاً تراشیده شد و با بتادین ۱۰٪ پرپ شد. پس از برش پوست تحت شرایط استریل، تاندون آشیل خارج گردید. بعد از خارج کردن تاندون آشیل، خرگوش‌ها از طریق تزریق داخل قلبی ۱۰ میلی‌لیتر سولفات منیزیم ٤۰٪ کشته شدند. براساس فرمول تعیین حجم نمونه تعداد ۲۰۰ نمونه کافی بود. با توجه به اینکه هر تاندون آشیل خرگوش تقریباً ۵ سانتی‌متر می‌باشد، بنابراین از دو اندام هر حیوان ۱۰ قطعه یک سانتی‌متری و از ۲۰ خرگوش مجموعاً ۲۰۰ تاندون بدست آمد. پس از برداشتن تاندون، نمونه‌ها در ظروف درب‌دار کاملاً استریل قرار داده شدند و بلافاصله به محل آزمایش واقع در طبقه سوم همان ساختمان منتقل گردیدند.

محل آزمایش

به‌منظور شبیه‌سازی محیط، مطالعه در اتاق عمل بیمارستان انجام شد. بدین روش که بلافاصله پس از عمل بازسازی آرتروسکوپیک رباط متقاطع جلویی که به‌طور میانگین ۱/۵ ساعت طول کشیده بود قطعات تاندونی از سطح میز به روی زمین انداخته شد.

گروه‌های تجربی

پیش از آلوده‌کردن نمونه‌ها، از ۲۰۰ نمونه کشت گرفته شد. سپس تمامی ۲۰۰ نمونه از ارتفاع میز اتاق عمل به کف اتاق انداخته شدند و اجازه داده شد پانزده ثانیه باقی بمانند که این مدت متوسط زمان پیدا کردن قطعه افتاده روی زمین در مطالعه ما بود. سپس هر نمونه با استفاده از فورسپس استریل برداشته شد و به یکی از چهار گروه تجربی اختصاص داده شد. در گروه اول، هر نمونه بلافاصله با نرمال سالین به مدت ۹۰ ثانیه شسته شد و در محلول نرمال سالین به مدت بیست دقیقه غوطه‌ور گردید. سپس نمونه‌ها در ظرف استریل حاوی محیط کشت[1] قرار داده شدند. نمونه‌های گروه دوم به مدت ۹۰ ثانیه با نرمال سالین شسته و در ظروف مخصوص محلول آنتی‌بیوتیک به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند (محلول شامل ٤۰ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر از سولفات نئومایسین و۲۰۰۰۰ واحد/میلی‌لیتر پلی میکسین B). دوباره نمونه‌ها به مدت ۳ دقیقه با نرمال سالین استریل شسته شدند و سپس در محیط کشت قرار گرفتند. در گروه سوم، نمونه‌ها با نرمال سالین استریل به مدت ۹۰ ثانیه شستشو داده شدند و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ظرف مخصوص حاوی کلرهگزیدین گلوکونات ۰/٤٪ با ایزوپروپیل الکل ٤٪ در پایه غیربازی قرارگرفتند. سپس نمونه‌ها بعد از ۳ دقیقه شستشو با محلول نرمال سالین در محیط کشت قرار گرفتند. همین روش برای گروه چهارم نیز انجام شد ولی از محلول بتادین ۱۰٪ استفاده گردید.

1. Thioglycolate broth

پنجاه نمونه شامل سواپ از کف اتاق عمل نیز برای شناسایی ارگانیسم‌های کف اتاق عمل گرفته شد. سپس نمونه‌ها به منظور انکوبه شدن در محیط کشت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، به بخش میکروب‌شناسی انستیتو پاستور ایران فرستاده شدند. نمونه‌ها برای ارگانیسم‌های بی‌هوازی و هوازی به مدت ۱۰ روز کشت داده شدند.

نتیجه کشت‌ها پس از تایید توسط متخصص میکروبیولوژی انستیتو پاستور با استفاده از آزمون غیرپارامتری کای‌دو (χ^2) مقایسه شدند.

یافته‌ها

از ۵۰ نمونه در گروه اول (شستشو در نرمال سالین استریل)، ۴۱ نمونه (۸۲٪) مثبت شدند. در تمام ۴۱ نمونه، استافیلوکوکوس رشد کرد. در گروه دوم (محلول آنتی‌بیوتیک) و گروه سوم (محلول کلرهگزیدین)، کشت مثبت در هیچ نمونه یافت نشد. از بین نمونه‌های گروه چهارم (بتادین)، ۲ مورد (٤٪) کشت مثبت شد.

در این ۲ مورد باسیلوس گرم مثبت و کلبسیلا رشد کردند. از پنجاه نمونه سواب اتاق عمل، ۳۵ مورد (۷۰ ٪) کشت مثبت شدند. رشد استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در ۲۲ نمونه، باسیلوس گرم مثبت و منفی در ۱۰ نمونه، آنتروباکتر در ۲ نمونه و کلبسیلا در ۱ نمونه مشاهده گردید.

در بین گروه‌های مختلف محلول استریل کننده (بتادین، محلول آنتی‌بیوتیکی و کلرهگزیدین) تفاوت آماری معنی‌دار وجود نداشت. اگرچه در تمام نمونه‌هایی که در کلرهگزیدین و نئومایسین- پلی‌میکسین شسته شدند، کشت منفی بود.

بحث

در هر عمل جراحی ارتوپدی، احتمال آلودگی بافت‌ها در اثر افتادن به کف اتاق عمل وجود دارد. «پرسنال»[1] و همکارش[۵] گرافت‌های اتولوگ را در زمان‌های مختلف به کف اتاق عمل انداختند، سپس به‌منظور تعیین میزان آلودگی، کشت انجام شد. با این وجود نتایج کشت آنها مثبت نشد و ابراز نمودند از نمونه اتولوگ که روی زمین افتاده می‌توان استفاده نمود. با این حال «مولینا»[2] و همکاران نشان دادند که ٤٨ نمونه (۹٦٪) از ۵۰ نمونه افتاده روی کف اتاق عمل کشت مثبت داشتند[۱]. در مطالعه ما، این میزان ۷۰٪ بود. «هو»[3] و «استاینبرگ»[4] نشان دادند محلول نئومایسین- پلی‌میکسین (٤۰ میلی‌گرم نئومایسین+ ۲۰۰۰۰۰ واحد پلی‌میکسین) اثر کمی بر روی باکتری دارد[٦]. از سوی دیگر، «مولینا» و همکاران اعلام نمودند که ۳ نمونه از ۵۰ نمونه (٦٪) از گرافت‌های آلوده رباط متقاطع جلویی که با محلول آنتی‌بیوتیک شستشو داده شده بودند کشت مثبت داشتند[۱]. «دیجکِرز»[5] و همکاران نشان دادند که گرافت‌های آلوده غوطه‌ور در محلول آنتی‌بیوتیک ممکن است در مواردی که باکتری پاتوژنیسیتی کم داشته باشند موثر باشند، اما نمی‌توانند در موارد پاتوژنیسیتی بالا مؤثر باشند[۷]. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد محلول آنتی‌بیوتیک ذکر شده در ضدعفونی تاندون آلوده موثر می‌باشد و تأثیر آن بیشتر از نتایج «مولینا» و همکاران بود که ممکن است به‌علت تماس طولانی گرافت‌های آلوده با محلول ضدعفونی کننده باشد (۲۰ دقیقه در مقابل ۹۰ ثانیه).

در مورد محلول بتادین، «سِوِرینز»[٦] و همکاران نشان دادند که حتی غلظت پایین بتادین ۱۰٪ دارای اثر سمی و زیان‌آور در گرانولوسیت‌ها و مونوسیت‌ها می‌باشد[۸]. «سویر»[7] و همکاران گزارش نمودند که این محلول اثر ضدعفونی‌کننده در گرافت استخوان دارد[۹]. در مطالعه اخیر، بتادین ۱۰٪ به‌عنوان ضدعفونی کننده گرافت تاندونی آلوده در ٤٪ موارد کشت مثبت داشت.

«جئوبل»[8] و همکاران گزارش نمودند که کلرهگزیدین ٤٪ به تنهایی هیچ تاثیری بر روی باکتری‌ها ندارد[۳] در حالی‌که «مولینا» و همکاران نشان دادند این ماده موثرترین عامل در ضدعفونی کردن نمونه آلوده است[۱]. در این مطالعه جهت کاهش اثر سیتوتوکسیتی کلرهگزیدین از غلظت ۰/٤٪ استفاده شد و نشان داده شد کلرهگزیدین ۰/٤٪ یکی از مؤثرترین روش‌ها در

1. Presnal

2. Molina
3. Hooe
4. Steinberg
5. Deijkers
6. Severyns
7. Soyer
8. Geobel

ضدعفونی کردن قطعات تاندونی می‌باشد (بدون هیچ کشت مثبت) با وجود آن که از نظر آماری هیچ برتری نسبت به سایر محلول‌های ذکر شده نداشت.

در گروه اول (گروه کنترل) میزان کشت مثبت ۸۲٪ بود که بیشتر از گروه نمونه‌برداری با سواپ بود (۷۰٪) و دلیل آن قابل‌فهم نمی‌باشد و به همین دلیل نیاز به بررسی بیشتر دارد. بر خلاف مطالعات «مولینا» و همکاران و سایر محققان [۲,۳,۱۰,۱۱] در مطالعه حاضر صرفاً روش‌های مختلف استریل کردن قطعات تاندونی مورد بررسی قرار گرفت؛ در حالی‌که در هیچ مطالعه دیگری بررسی به‌طور کاملاً اختصاصی بر روی تاندون صورت نگرفته بود.

در این مطالعه محدودیت‌هایی وجود داشت. اول آنکه هیچ مقایسه‌ای بین زمان‌های در معرض قرار گرفتن و غلظت‌های مختلف محلول به منظور تعیین حداقل زمان موثر در معرض قرارگیری و تعیین غلظت مواد انجام نشد. دوم آنکه پس از قرار گرفتن در معرض محلول استریل‌کننده بتادین، کلرهگزیدین و نئومایسین ـ پلی‌میکسینB به‌منظور تشخیص هرگونه تغییر ساختاری درون و برون سلولی یا سمیت احتمالی سلولی، هیچ‌گونه بررسی بافت‌شناسی انجام نشد. لیکن لازم است تحقیقات بیشتری در مورد مدت زمان در معرض قرارگیری مواد و غلظت محلول ضدعفونی کننده به‌منظور تعیین اثرات احتمالی سمی یا تخریبی برروی نمونه‌ها انجام گیرد.

نتیجه‌گیری

استفاده از کلرهگزیدین ۰/٤٪ و نئومایسین- پلی‌میکسین B با ایجاد کشت منفی در تمام نمونه‌ها، روش خوبی در ضدعفونی کردن تاندون آلوده می‌باشد؛ اگرچه تفاوت آماری معنی‌دار بین این ماده و بتادین وجود نداشت.

References

1. Molina ME, Nonweiller DE, Evans JA, Delee JC. Contaminated anterior cruciate ligament grafts: the efficacy of 3 sterilization agents. *Arthroscopy*. 2000;16(4):373-8.

2. Cooper DE, Arnoczky SP, Warren RF. Contaminated patellar tendon grafts: incidence of positive cultures and efficacy of an antibiotic solution soak--an in vitro study. *Arthroscopy*. 1991;7(3):272-4.

3. Goebel ME, Drez D Jr, Heck SB, Stoma MK. Contaminated rabbit patellar tendon grafts. In vivo analysis of disinfecting methods. *Am J Sports Med*. 1994; 22(3):387-91.

4. Burd T, Conroy BP, Meyer SC, Allen WC. The effects of chlorhexidine irrigation solution on contaminated bone-tendon allografts. *Am J Sports Med*. 2000;28(2):241-4.

5. Presnal BP, Kimbrough EE. What to do about a dropped bone graft. *Clin Orthop Relat Res*. 1993;(296):310-1.

6. Hooe W, Steinberg B. Management of contaminated bone grafts: an experimental in vitro study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996;82(1):34-7.

7. Deijkers RL, Bloem RM, Petit PL, Brand R, Vehmeyer SB, Veen MR. Contamination of bone allografts: analysis of incidence and predisposing factors. *J Bone Joint Surg Br*. 1997;79(1):161-6.

8. Severyns AM, Lejeune A, Rocoux G, Lejeune G. Non-toxic antiseptic irrigation with chlorhexidine in experimental revascularization in the rat. *J Hosp Infect.* 1991;17(3):197-206.

9. Soyer J, Rouil M, Castel O. The effect of 10% povidone-iodine solution on contaminated bone allografts. *J Hosp Infect*. 2002;50(3):183-7.

10. Izquierdo R Jr, Cadet ER, Bauer R, Stanwood W, Levine WN, Ahmad CS. A survey of sports medicine specialists investigating the preferred management of contaminated anterior cruciate ligament grafts. *Arthroscopy*. 2005; 21(11):1348-53.

11. Cheng SC, Jou IM, Chern TC, Wang PH, Chen WC. The effect of normal saline irrigation at different temperatures on the surface of articular cartilage: an experimental study in the rat. *Arthroscopy*. 2004;20(1):55-61.