

Алкалоид, хемиско-фармацевтска-козметичка индустрија — Скопје  
Хемиски институт, Природно-математички факултет — Скопје

IN VITRO ИСПИТУВАЊА НА БАКТЕРИЦИДНАТА АКТИВНОСТ ВО  
РАЗРЕДЕНИ BETADINE РАСТВОРИ

Панзова Б., Богданов Б.

ИЗВАДОК

Панзова Б., Богданов Б. (1988): In vitro испитување на бактерицидната активност во разредени Betadine раствори. Год. зб. Фарм. фак. Скопје.

Одредувана е бактерицидната активност врз *Staphylococcus pyogenes* на водени Betadine раствори (0,05 — 10%) според модифицираната in vitro постапка препорачана во Правилникот за тестирање и проценување на хемиски дезинфектанти од Германското здружение за хигиена и микробиологија од 1981 година<sup>1</sup>. За кратки времиња на дејствување од 30 sec. забележана е зголемена бактерицидна активност со разредување на основниот 10% раствор на Betadine. Констатирано е дека максимална ефикасност за кратки времиња на дејствување имаат раствори со концентрација од 1%.

ABSTRACT

Panzova B., Bogdanov B. (1988): In vitro studies of bactericidal activity of delute preparations of Betadine solutions. God. zb. Farm. fak. Skopje Alkaloid, Pharmaceutical Company, Skopje  
Institute of Chemistry, Faculty of Science, Skopje

The bactericidal activity of Betadine solutions was examined against *Staphylococcus pyogenes*, using modified in vitro metode recommended in Guidelines for testing and assessing chemical methode of disinfection by German Society for Hygiene and Microbiology, 1981-<sup>1</sup>. Increased bactericidal activity of delute preparations of Betadine solutions was observed for short exposition time. Maximum efficiency for short exposition time of 30 sec. shoves solution with concentrations 1% of Betadine.

Јодот е познат како добар антисептик повеќе од едно столетие и се употребува во форма на водени и алкохолни раствори (Iodi solutio aquosa и Iodi solutio aethanolica), но заради неговот иритативно дејство употребата била ограничена. Во 50-тите години од овој

век во употреба се воведени јодофорите, комплекси на јод со насочи, кај кои се избегнати несаканите ефекти, а сепак е задржано бактерицидното дејство<sup>2</sup>. Јодофорите се употребуваат повеќе од 30 години во клиничката практика, а повидон-јодот, вообичаено име за јод во комплекс со поливинилпиролидинон, секако е најповеќе употребан јодофор заради неговото својство да не предизвикува иритација на кожата, безмирисен е, доволно стабилен и погоден за производство во индустриски услови. Betadine раствор е антисептик кој го содржи овој јодофор. Betadine го произведува Алкалоид, во соработка со фирмата Mundifarma, веќе повеќе години. Како потврда за неговата широка примена може да послужи и податокот дека повидон-јодот и неговите раствори се влезени како монографии во USP XIX од 1975 година и BP 80 од 1980 година.

Зголемување на бактерицидната активност во разредени раствори на повидон-јод за кратки времиња на дејствување прв пат е забележана од Berkelman et al.<sup>3</sup>. Во 1984 година одржан е III светски конгрес за антисептици каде што главен антисептик од интерес бил повидон-јодот а е дискутирана неговата микробицидна активност и механизам на дејство<sup>4</sup>. Бидејќи познато е дека активноста на лековите, па така и на антисептиците, зависи од технолошката обработка, цел на нашите испитувања е тестирање на бактерицидната активност за кратко време на дејствување на Betadine 10% раствор (со стандарден квалитет, произведен во Алкалоид), како и на соодветните разредени раствори добиени со разредување на основниот. Исто така, цел на нашите испитувања е да се процени оптималната концентрација на раствор со максимален ефект за кратко време на дејствување и резултатите да се споредат со литературни податоци.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

### Раствори употребени за испитување

Betadine раствор (Алкалоид — Скопје) 10% кој претставува основен раствор и 7,5%, 5%, 1%, 0,5%, 0,1% и 0,05% раствори добиени со разредување на основниот со стерилизирана дестилирана вода.

### Употребени микроорганизми и одредување на нивната концентрација во основниот инокулум

*Staphylococcus pyogenes* се изолирани во чиста состојба од хуман секрет на крвна подлога и оставен да порасне во хранлив бујон на 37°C за време од 24 часа, а потоа центрифугиран 20 мин. на 2000 г/min на MSE Multex центрифуга. Течната фаза се деконтира а остатокот суспендира во 5 мл 0,0003 М фосфатен пуфер рН = 7,2. Бактериската суспензија добро се меша и 1 мл од оваа суспензија се додава во 9 мл 0,0003 М фосфатен пуфер. Ова разредувањето 1 : 10 претставува основен инокулум. По 1 мл од основниот инокулум се става во 9 мл испитуван раствор, по три примероци за секоја кон-

центрација (за основниот и соодветните разредувања). За да се одреди бројот на микроорганизмите по мл во основниот инокулум тој се разредува ( $10^{-1}$  —  $10^{-8}$ ) со 9 мл 0,0003 М фосфатен пуфер. По 0,1 мл се зема од разредувањата  $10^{-3}$  до  $10^{-8}$  и пзнесува на плочи со крвен агар и распоредува на површина со стерилно стаклено стапче, а потоа плочите се инкубираат на  $37^{\circ}\text{C}$  за време од 24 часа. Ако се претпостави дека секој микроорганизам створи своја карактеристична колонија, со броење на колониите е определена концентрацијата на основниот инокулум, кој во нашиот случај изнесува  $7,87 \cdot 10^7$  бактерии/мл.

### Одредување на бактерицидната активност на Betadine раствори

Откако ќе се додадат бактерии во секој од испитуваните раствори, по 30 sec се зема по 1 мл од Betadine растворот и се става во 9 мл 0,0003 М фосфатен пуфер што содржи 0,5% натриум-тиосулфат за да се неутрализира остатокот од јод и прекине дејството на антисептикот. По добро мешање се зема 0,1 мл (двапати за секој примерок) и се нанесува на плочи со крвен агар и распоредува по површината со стаклено стерилно стапче. Плочите се инкубираат на  $37^{\circ}\text{C}$  во време траење од 24 часа. По инкубацијата се бројат колониите и пресметува бројот на колонии во 1 мл почетна суспензија по делување на антисептикот од 30 sec. Потоа се одредува аритметичка средина од шест добиени вредности и бактерицидна активност (RF) за определено време се пресметува по формулата:

$$\text{RF (30 sec)} = \log (\text{CFU})_1 - \log (\text{CFU})_2^*$$

$\text{CFU}_1$  = број на бактерии во 1 мл раствор способни да формираат колони без дејство на препаратот.

$\text{CFU}_2$  = број на бактерии во 1 мл раствор способни да формираат колони по дејствувањето на препаратот

### РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Резултатите за RF вредностите за различни концентрации на Betadine раствори, за време на дејствување од 30 sec, се прикажани во Табела 1 и на Сл. 1. Од Сл. 1. се гледа дека се зголемува бактерицидната активност на Betadine раствори со разредување, за кратки времиња на дејствување. Максимален ефект за време на дејствување од 30 sec покажува 1% раствор.

Респектирај ја варијабилноста на резултатите во вакви биолошки *in vitro* испитувања, квалитетот на Betadine растворот (стандардизиран 10% раствор на Алкалоид — Скопје) е во согласност со квалитетот на повидонјодните раствори<sup>3</sup> од други светски производители.

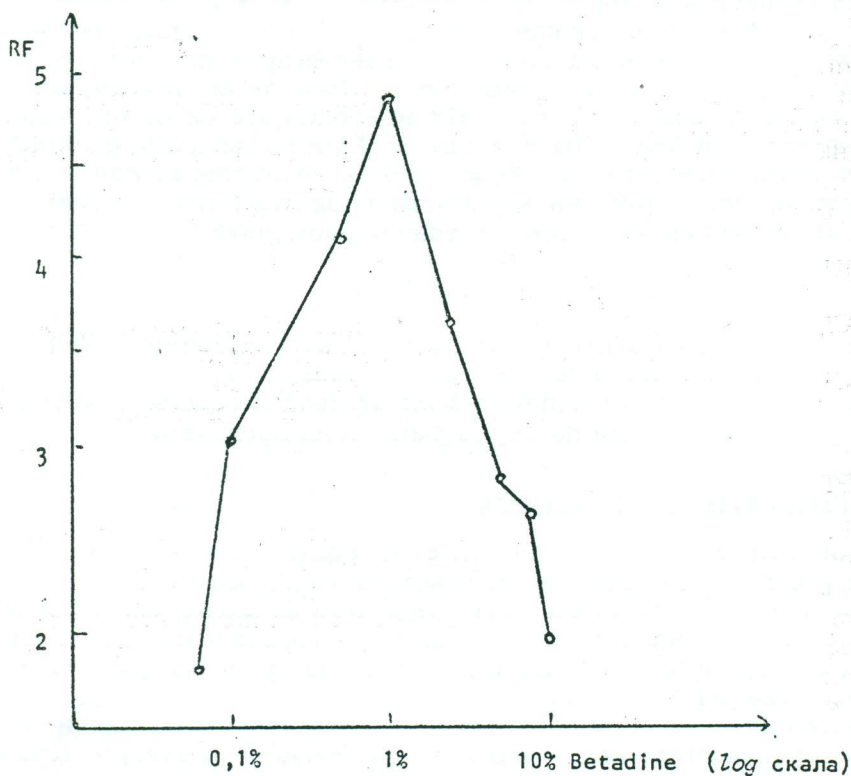
\*RF — reduction factor; CFU — colony forming unit

Табела 1. Резултати за RF вредности за различни концентрации на Betadine раствори за време на дејствување 30 sec.

% раствор Betadine	10	7,5	5	2,5	1	0,5	0,1	0,05
$\log(\text{CFU})_1$	6,89	6,89	6,89	6,89	6,89	6,89	6,89	6,89
$\log(\text{CFU})_2$	4,92	4,26	4,08	3,25	2,02	2,78	3,87	5,09
RF	1,97	2,63	2,81	3,64	4,87	4,11	3,02	1,8

Ова испитување исто така покажа дека содржината на расположив јод што може да се одреди со рутинска титрација со натриумтисулфат, не е во директна корелација со бактерицидна активност.

Позната е претпоставка дека слободниот, неврзаниот, така наречен еквилибриум јод, кој е присутен во водени раствори на повидон-јод, е директно одговорен за бактерицидно дејство (5,6.) Бидејќи методите (спектрофотометриска-п-хептанска екстракција и по-



Сл. 1. Зависност на бактерицидната активност (RF вредности) од концентрација на Betadine раствори за време на дејствување 30 sec.

тенциометриска) не се во добра корелација, а резултатите не се доволно репродуцибилни<sup>7</sup> сметаме дека оваа хипотеза не е во состојба да одговори на прашањето за механизмот на дејство на повидон-јодните раствори како антисептици<sup>8</sup>.

Земајќи ја предвид многустраната примена на повидон-јодните раствори како антисептици, може да се препорача, во некои случаи, разредување на основниот Betadine раствор, непосредно пред употреба. Со ова би се постигнало, пред се, подбори бактерицидни ефекти за кратко време на дејствување. Сепак треба да се напомене дека капацитетот на разредените раствори е помал во однос на концентрираните. Степенот на разредување на основниот раствор би зависел од намената на антисептикот.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Richtlinien für die Prüfung und Bewertung chemischer Desinfektionsverfahren, Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Microbiologie, Erster Teilabschnitt (Stand 1. 1. 1981).
2. H. A. Shelanski, U. S. patent 2.739, March 1956.
3. R. L. Berkelman, B. W. Holland, R. L. Anderson, Increased Bactericidal Activity of Dilute Preparation of Povidone-Iodine Solution. J. Clin. Microb. 15, 635 (1982).
4. Proceeding of the III World Congress on Antisepsis, J. Hospital Inf. 16 (A) 1985).
5. W. Gottardi, Potentiometrische Bestimmung der Gleichgewichtskonzentrationen an freiem und komplex gebundenem Iod in wässriger Lösung von Polyvinylpyrrolidone-Iodine (PVP-Iod). Z. Anal. Chem. 314, 582 (1983).
6. W. Pollack, O. Iny, Eur. Pat. 169, 320 (1986).
7. B. Panzova, B. Bogdanov, Odreduvanje na ekvivalibrium jod vo vodeni rastvori na polivinilpirolidinon-jod. X Sov. Hem. Teh. Mak. Zbornik na trudovi str. 207.
8. E. Pinter, H. Rackur, R. Schubert, Die Bedeutung der Galenik für die mikrobizide Wirksamkeit von Polyvinylpyrrolidinone-Jod-Lösungen. Pharm. Ind. 46, 640 (1984).