

مطالعه فاکتورهای فارماکوپهای و مقایسه اثر رقیق سازی بر فعالیت ضد میکروبی
نمونه محلول های پویدون آیوداین موجود در بازار دارویی ایرانمحمدرضا فاضلی^۱، ندا سبزه چیان^۲، آرش محبوبی^۳، سیدمهدی رضایت^۴، نسرين صمدی^۵، حسین جمالی فر^۶^۱ دانشیار، گروه کنترل دارو و غذا، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده دارو سازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران^۲ دانشجوی داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی تهران^۳ استادیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی تهران^۴ استادیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی^۵ استاد، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی تهران^۶ استاد، گروه نانو تکنولوژی، دانشکده فناوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران^۷ استادیار، گروه کنترل دارو و غذا، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران^۸ کارشناس ارشد آزمایشگاه، گروه کنترل دارو و غذا، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به سازندگان مختلف محلول های پویدون آیوداین، در این تحقیق کیفیت محلول های موجود مطابق با معیارهای فارماکوپه و تاثیر فاکتور رقت بر زمان اعمال اثر ضد میکروبی این فرمولاسیون ها بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، pH فرآورده ها، میزان آیداید و ید در دسترس مطابق فارماکوپه ۹ BP2009/اندازه گیری شد. همچنین اثر ضد میکروبی نمونه های ایرانی و دو نمونه مشابه خارجی بر میکروارگانیسم های استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29737 و سودوموناس آئروژینوزا ATCC 28753، به عنوان نماینده باکتری های گرم مثبت و گرم منفی، در رقت های ۱، ۱/۵، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰، ۱/۶۰، ۱/۸۰، ۱/۱۰۰، ۱/۲۰۰ و ۳۰۰ بررسی شد و میزان نابودی میکروارگانیسم ها بعد از مجاورت در زمان های ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ ثانیه تعیین گردید.

یافته ها: تمام فرمولاسیون ها دارای ویژگی های فارماکوپه ای قابل قبول بوده و سرعت تاثیر متناسب با میزان رقت افزایش می یافت. این روند در فرآورده های مختلف متفاوت بوده و در زمان ۱۵ ثانیه رقت ۱/۱۰ به مراتب از محلول خالص بهتر بود. رقیق سازی بیشتر از حد بهینه باعث کاهش اثر نسبت به رقت های کمتر بود.

نتیجه گیری: فاکتور رقت، فاکتور بسیار حساسی در اثر ضد باکتریایی فرآورده های پویدون آیوداین است. این نکته می تواند به تفاوت میزان ید آزاد در هر یک از این فرآورده های تجاری و تفاوت در میزان ید در دسترس آنها بازگردد.

واژگان کلیدی: محلول پویدون آیوداین، ضد عفونی کننده، رقت، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا.

مقدمه

بشر از دیرباز در حال مبارزه با بیماری های عفونی بوده است و در بسیاری از موارد با اپیدمی های بزرگی در سطح جهانی

روبرو شده که موجب مرگ و میر بالایی گردیده است. در این راستا، دستیابی دانشمندان به ترکیبات ضد عفونی کننده اثری شگرف بر کنترل و پیشگیری از گسترش بسیاری از بیماری ها در سطح جهانی داشته است. ید و ترکیبات مشتق از آن با سابقه بیش از ۱۵۰ سال استفاده به عنوان ماده ضد عفونی کننده از پر مصرف ترین فرآورده های آنتی سپتیک هستند (۱).

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده داروسازی، واحد علوم دارویی، گروه

فارماسیوتیکس، دکتر آرش محبوبی (email: arashmahboubi@gmail.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۰/۲/۲۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۰/۷/۳۰

محلول‌های پوویدون آیوداین به منظور پیش‌گیری و درمان عفونت‌های سطحی، برای پاک کردن میکروارگانیسم‌های پوست قبل از تزریق، درمان سبوره، عفونت‌زدایی زخم‌ها، پارگی زخم، سوختگی‌ها، خراشیده شدن پوست، شستشوی دست کارکنان اتاق عمل قبل و بعد از عمل و آماده کردن پوست بیمار پیش از جراحی استفاده می‌شوند و فعالیت ضد میکروبی آنها در pH بالا ممکن است کاهش یابد (۸).

مطابق فارماکوپه BP ۲۰۰۹ معیارهای مورد نیاز جهت محلول پوویدون آیودان شامل وجود ید در دسترس در محدوده ۰/۸۵ تا ۱/۲۰٪ وزنی حجمی و میزان آیوداید کمتر از ۰/۰۶٪ وزنی حجمی می‌باشد. pH فرآورده نیز باید عددی بین ۳ تا ۶/۵ باشد (۹).

برای دستیابی به اثر ضد عفونی‌کنندگی، میزان ید کافی باید آزاد شود. اثرات باکتری‌کشندگی پوویدون آیوداین را میزان ید آزاد شده مشخص می‌کند. هر چه سطح ید آزاد شده بیشتر شود، اثر ضد باکتری آن نیز در زمان مشخص بهتر می‌شود (۱۰). در بسیاری موارد، نیاز به اثر سریع‌تر محلول پویدون آیودان به شدت احساس می‌شود. در مراجع مختلف استفاده از محلول رقیق شده یا خالص آن به طور جداگانه توصیه گردیده است، از سوی دیگر رقیق سازی زیاد می‌تواند باعث کاهش اثر فرآورده گردد (۱۱). جهت دستیابی به این نکته که استفاده از محلول پوویدون آیوداین به کدام شکل می‌تواند اثر سریع‌تر ضد میکروبی اعمال نماید و کاهش اثر میکروب‌کشی آن در کدام رقت اتفاق می‌افتد، رقت‌های مختلف تهیه و زمان اثرگذاری آن بر میکروارگانیسم‌های نام برده بررسی گردید.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی، محلول‌های ۱۰ درصد پوویدون آیوداین شرکت‌های دنیای بهداشت، بهوزان، مدیفارم، بهسا، ناژو، پارت کیمیا، مهدارو (همگی ساخت ایران)، Purdue Pharma (Canada) و Viatris (Germany) از داروخانه‌های محلی تهیه گردید که از این پس در متن مقاله جهت احترام به حقوق تولیدکنندگان این محصولات با حروف a تا g جهت تولیدات داخلی و h و i برای نمونه‌های خارجی نام برده خواهد شد.

جهت تعیین ید در دسترس به ۱۰ میلی‌لیتر از محلول پوویدون آیوداین، ۱۰ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک (Merck, Germany) ۰/۱ مولار اضافه شد و با مقدار کافی از آب حجم آن به ۱۵۰ میلی‌لیتر رسید. سپس محلول حاصل توسط سدیم تیوسولفات (Merck, Germany) ۰/۰۲ مولار تیترا شد. در

عصر ید در سال ۱۸۱۲ توسط دانشمند فرانسوی به نام Courtois کشف شد (۲). فعالیت ضد باکتری ید برای اولین بار توسط Davaine در سال ۱۸۸۰ مشخص شد و از حدود قرن ۱۹ جراحان به عنوان یک عامل ضد عفونی‌کننده جهت پیشگیری از عفونت ثانویه شروع به استفاده از ید کردند (۳). ید در برخورد با میکروارگانیسم‌ها به سرعت به دیواره سلولی نفوذ کرده و ساخت پروتئین‌ها را متوقف می‌سازد که در نتیجه آن عملکرد آنزیم‌های زنجیره تنفسی، غشای لیپیدی و اسیدهای نوکلئیک مختل می‌گردد (۴).

در مورد ویروس‌ها نیز مشابه باکتری‌ها، ید به پروتئین‌های سطحی پوشش ویروس حمله می‌کند و باعث ناپایداری اسیدهای چرب موجود در غشا با واکنش با باندهای کربنی غیراشباع می‌گردد (۵).

یدوفورها، کمپلکس‌های آلی ید با پلیمرهایی مثل پلی وینیل پیرولیدون هستند. پلی وینیل پیرولیدون آیوداین آنتی‌سپتیکی با طیف اثر گسترده است که در سال ۱۹۶۵ توسط Shelanski برای اولین بار به جهان معرفی گردید (۶). این ترکیب نتیجه اتصال ید مولکولی و پلی وینیل پیرولیدون است. پلی وینیل پیرولیدون اولین بار توسط Walter Reppe سنتز شد که یک پلیمر سنتتیک از ۱- وینیل پیرولیدون است که آب دوست بوده و به آسانی در آب حل می‌شود. کمپلکس ید با پویدون یا سورفکتانت به طور مشخصی مقادیر ید آزاد را کم می‌کند. این کاهش مقدار اثرات ناخواسته از باقی ماندن، غیر پایدار بودن و تحریک ناشی از ید را کاهش می‌دهد. افزایش بیش از این مقدار در محلول‌های اسکراب جراحی فعالیت ید را بیشتر کاهش می‌دهد و آزمایش‌های invitro نشان می‌دهند که فعالیت ضد باکتری یدوفورها بیشتر از فرم‌های غیر کمپلکس آبی ید است. به تدریج که ید از مولکول پویدون آزاد می‌شود اثرات ضد میکروبی خود را نشان می‌دهد. ید آزاد شده برای میکروارگانیسم‌ها سمی است، زیرا به طور غیر قابل برگشت به بقایای تیروزین پروتئین‌ها متصل می‌شود (۷). پوویدون آیوداین به فرم‌های تجاری محلول‌های موضعی، دهان شویه‌ها، شامپوها، پمادهای موضعی، ژل واژینال، دوش واژینال، پودر موضعی، شیاف واژینال و محلول مخصوص جراحی (Surgical Scrub) در بازار موجود است. پوویدون آیوداین طیف اثر وسیعی داشته و بر باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی، قارچ‌ها، ویروس‌ها، پروتوزواها و مخمرها موثر است. در شرایط آزمایشگاهی، ویروس HIV نیز کاملاً توسط فرآورده‌های پوویدون آیوداین غیرفعال می‌شود.

بعد از گذشت این زمان، پلیت‌ها از گرمخانه خارج شده و کلنی‌های آن شمارش شد تا تعداد میکروارگانیسم‌های باقی مانده محاسبه شود.

یافته‌ها

معیارهای فارماکوپه BP ۲۰۰۹ جهت محلول‌های پویدون آیودان، pH بین ۳ تا ۶/۵ و میزان ید در دسترس بین ۰/۸۵ تا ۱/۲۰٪ وزنی حجمی و میزان آیوداید کمتر از ۰/۰۶٪ وزنی حجمی می‌باشد (۹) که در مورد فراورده‌های مورد آزمایش، نتایج آن در جدول ۱ آورده شده است. تمام محلول‌های پویدون آیودان مورد بررسی دارای ویژگی‌های تعیین شده در فارماکوپه بودند که موید قابل استفاده بودن محلول‌های پویدون آیودان مورد آزمایش می‌باشد.

جدول ۱- ویژگی‌های فارماکوپه‌ای محلول‌های پویدون آیودان مورد استفاده

نوع محلول	pH	ید در دسترس (w/v%)	ایوداید (w/v %)
a	۴/۸۷	۱۰/۱۵	۰/۵۷
b	۴/۷۴	۹/۱۱	۰/۳۹
c	۳/۴۵	۱۰/۶۵	۰/۴۹
d	۳/۰۵	۹/۸۹	۰/۴۸
e	۵/۷۵	۱۰/۵۳	۰/۵۱
f	۳/۶۲	۹/۸۳	۰/۴۹
g	۴/۳۵	۱۰/۲۴	۰/۵۷
h	۵/۳	۹/۱	۰/۳۹
i	۵/۳۵	۸/۹	۰/۳۶

در بررسی سرعت اثرگذاری محلول‌های پویدون آیودان و تاثیر میزان رقت بر آنها، رقت‌های ۱ (رقیق نشده)، ۱/۵، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰، ۱/۶۰، ۱/۸۰، ۱/۱۰۰، ۱/۲۰۰ و ۱/۲۰۰ در زمان‌های مجاورت ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ ثانیه با میکروارگانیسم استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از میزان میکروارگانیسم زنده باقیمانده بعد از مجاورت در جدول ۲ آمده است. تعداد کلونی‌های بازیافتی استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29737 بیانگر این نکته است که هیچ یک از فرمولاسیون‌های مورد بررسی، تعداد میکروارگانیسم استافیلوکوکوس اورئوس را در برخورد ماده به صورت رقیق نشده در زمان مجاورت کمتر از ۳۰ ثانیه به صفر نمی‌رساند و حداقل نیاز به یک دقیقه زمان مجاورت جهت اثرگذاری به صورت کامل دارند. با رقیق‌سازی به میزان ۱/۵ زمان اثرگذاری کامل نمونه‌های ایرانی به کمتر از ۳۰ ثانیه کاهش یافت، اما در

نقطه پایان، هر میلی‌لیتر از سدیم تیوسولفات مصرفی معادل با ۲/۵۳۸ میلی‌گرم از ید در فراورده است.

در تعیین آیداید، ۵ میلی‌لیتر از محلول مورد آزمایش را با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب رقیق کرده و تا زمان بی‌رنگ شدن محلول سدیم متابی‌سولفیت به آن اضافه شد. سپس ۲۵ میلی‌لیتر نیترات نقره (Merck, Germany) ۰/۱ مولار، ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک (Merck, Germany) و ۵ میلی‌لیتر محلول فریک آمونیوم سولفات (Merck, Germany) اضافه شده و با آمونیوم تیوسیانات ۰/۱ مولار تیترا گردید. هر میلی‌لیتر از نیترات نقره ۰/۱ مولار برابر است با ۱۲/۶۹ میلی‌گرم از ید تام می‌باشد. این مقدار حساب شده و از درصد محتوای ید در دسترس کم شد تا درصد محتوی آیداید به دست آید (۹). pH هر یک از فراورده‌ها نیز توسط دستگاه pH متر (Metiler Tolido, Germany) تعیین گردید.

میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه در این تحقیق شامل استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29737 و سودوموناس آئروژینوزا ATCC 28753 از گروه کنترل میکروبی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران تهیه شد. سوسپانسیون‌های میکربی مورد استفاده از آنها با مقایسه با محیط نیم MC Farland و شمارش با غلظت 10^8 cfu/ml تهیه گردید.

جهت کشت باکتری‌ها از محیط مولر هینتون آگار (MHA) با $pH=7.4 \pm 0.2$ در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد استفاده شد. در بررسی سرعت اثر ضد باکتری محلول پویدون آیودان در رقت‌های مختلف محلول پویدون آیودان توسط آب مقطر استریل به رقت‌های ۱ (رقیق نشده)، ۱/۵، ۱/۱۰، ۱/۲۰، ۱/۴۰، ۱/۶۰، ۱/۸۰، ۱/۱۰۰، ۱/۲۰۰ و ۱/۲۰۰ رسید.

از هر یک از محلول‌های مورد سنجش، ۹ میلی‌لیتر برداشته و به ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون‌های میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا تهیه شده با غلظت 10^8 cfu/ml اضافه شد. سپس در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ ثانیه ۱ میلی‌لیتر از این مخلوط برداشته و ۹ میلی‌لیتر از ماده خنثی کننده LPHT شامل لسیتین ۰/۳ درصد (Merck, Germany)، پلی‌سوربات ۸۰-۳ درصد، هیستیدین ۰/۱ درصد و سدیم تیوسولفات ۰/۵ درصد اضافه کرده و برای مدت ۵ دقیقه مجاور شد. در مرحله بعد، در ۵ لوله که هر کدام حاوی ۹ میلی‌لیتر آب مقطر استریل بود، با روش Serial dilution رقت‌های بعدی تهیه شد (۱۲). ۱ میلی‌لیتر از هر کدام از این نمونه رقت‌ها برداشته شده و در پلیت‌های استریل حاوی ۱۵ میلی‌لیتر از محیط کشت MHA ریخته شد. سپس به مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه ۳۵ درجه سانتیگرادی قرار داده شد.

میکروارگانیزم‌های استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29737 و سودوموناس آئروژینوزا 28753 ATCC با تعداد 10^6 cfu/ml مشخص شد که زمان از بین بردن کامل این میکروارگانیزم‌ها در نمونه‌های ایرانی با رقیق سازی به میزان 10^{-1} در تمامی آنها به کمتر از ۱۵ ثانیه کاهش یافت. در دو نمونه خارجی، این پدیده در رقت 10^{-2} دیده شد. ماندگاری این کاهش زمان اثر در نمونه‌های ایرانی بسته به نوع میکروارگانیزم و کارخانه سازنده متفاوت بود و درمورد استاف از رقت 10^{-2} و سودوموناس 10^{-6} نیاز به افزایش زمان دیده شد. اما در نمونه‌های خارجی، این کاهش زمان اثرگذاری حتی تا رقت 10^{-2} به طور کامل دیده شد. با توجه به این مطلب که سودوموناس آئروژینوزا میکروارگانیزمی شاخص در مقاومت به آنتی‌سپتیک‌ها و دی‌انفکتانت‌ها است، روند افزایش سرعت اثرگذاری در رقت‌های مختلف درمورد آن محدودتر می‌باشد.

افزایش سرعت اثر محلول به دنبال رقیق شدن به علت افزایش میزان ید آزاد در محلول حاصله می‌باشد که در نتیجه آن سرعت اثرگذاری محلول رقیق شده به میزان زیادی افزایش می‌یابد. این افزایش توسط تحقیقات انجام شده توسط Magnus و همکارانش به روش غشای دیالیز به اثبات رسیده است (۱۲). تحقیق انجام شده توسط Jayaraj Kumar و همکارانش نشان داده است که در محلول پویدون آیودان تنها ید آزاد است که فعالیت ضد میکروبی دارد که میزان آن در رقت 10^{-1} بیشتر از حالت خالص آن می‌باشد (۱۳).

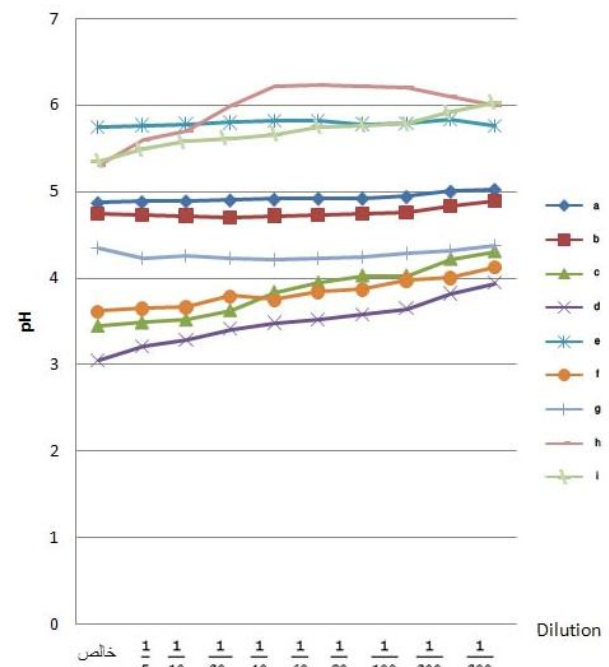
در مطالعه دیگری که بر روی سمیت سلولی محلول‌های پویدون آیودان و رقت‌های آن توسط Rabenberg و همکاران انجام شد، مشخص گردید که محلول پویدون آیوداین به فرم رقیق شده در رقت 10^{-1} برای سلول‌های فیبروبلاست انسانی غیرسمی می‌باشد (۱۴). همچنین رقیق‌سازی علاوه بر نشان دادن کارایی سریع‌تر محلول باعث کاهش خوردگی، کاهش بو و رنگ محلول شده و به صرفه می‌باشد (۱۵).

با توجه به مطالب فوق و یافته‌های این تحقیق می‌توان گفت اگر چه تهیه محلول‌های پویدون آیودان با درصد کمتر از محتوای ید به عنوان فراورده آماده مصرف از جهت پایداری و اثرگذاری منطقی نیست، اما با رقیق سازی به هنگام استفاده از محلول‌های پویدون آیوداین داخلی به نسبت 10^{-1} در میکروارگانیزم‌های مورد بررسی فراورده ضد عفونی کننده بسیار سریع‌تر اثر کرده و آسیب کمتری را به بافت‌های سالم بیمار وارد می‌کند (۱۶) و در واقع در این میکروارگانیزم‌ها رقت 10^{-1} توازن مناسبی بین اثرات باکتری‌سیدال و سمیت ایجاد می‌کند و شاید استفاده از آن در برخورد اولیه با جراحات

نمونه‌های خارجی کماکان به زمان یک دقیقه جهت اثرگذاری کامل نیاز بود. با افزایش رقت به میزان 10^{-1} ، زمان اثرگذاری در نمونه‌های ایرانی به کمتر از ۱۵ ثانیه رسید، اما نمونه خارجی کماکان حداقل به ۳۰ ثانیه زمان جهت اثرگذاری نیازمند بود. درمورد استافیلوکوکوس اورئوس، در رقت 10^{-2} افزایش زمان مورد نیاز برای اثرگذاری در یک نمونه ایرانی (b) دیده شد.

باکتری سودوموناس آئروژینوزا نیز روند مشابهی را نشان داد، بدین معنی که تا رقت 10^{-6} با کاهش زمان اثرگذاری کامل مواجه بودیم و از رقت 10^{-6} در کارخانه a, b, f و g زمان اثرگذاری کامل به بیش از ۱۵ ثانیه افزایش یافت.

بررسی تغییرات pH در اثر رقیق‌سازی نشان دهنده عدم تغییر در حد یک واحد تا میزان رقیق‌سازی 10^{-6} بود (نمودار ۱).



نمودار ۱- تاثیر رقیق‌سازی بر pH فراورده‌های مورد آزمایش

بحث

در این مطالعه، اثر محلول‌های ضد عفونی کننده پویدون آیوداین داخلی و خارجی موجود در بازار در رقت‌های مختلف و طیف pH مختلف فراورده‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. از نظر بررسی استانداردهای فارماکوپه‌ای فارماکوپه انگلیس BP2009، تمامی نمونه‌های مورد بررسی، ید در دسترس در محدوده ۰/۸۵ تا ۱/۲۰٪ وزنی حجمی و میزان آیوداید کمتر از ۰/۰۶٪ وزنی حجمی و pH بین ۳ تا ۶/۵ دارا می‌باشند که موید قابل استفاده بودن آنها است (۹). در قدم‌های بعدی با بررسی اثر فاکتور رقت بر زمان از بین بردن کامل نمونه‌های

تشکر و قدردانی

پژوهش فوق بدون مساعدت معاونت پژوهشی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران به پایان نمی‌رسید، لذا بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی از این معاونت و همچنین از مهندس علیرضا سبزه‌چیان اعلام می‌گردد.

اثر مناسب‌تری را در پی داشته باشد (۱۷). علت این پدیده را می‌توان به اثر افزایش سریع میزان ید آزاد در هنگام رقیق سازی محلول پویدون ایوداین نسبت داد.

REFERENCES

1. Gershenfeld L. Povidone-iodine as a topical antiseptic. *Am J Surg* 1957; 94: 938-39.
2. Fleischer W, Reimer K. Povidone-iodine in antiseptics--state of the art. *Dermatology* 1997; 195: S3-9.
3. Springthorpe VS, Satter SA. Chemical disinfection of virus contaminated surfaces. *Crit Rev Environ Control* 1990; 20: 169-229.
4. Rackur H. New aspects of mechanism of action of povidone-iodine. *J Hosp Infect* 1985; 6: S13-23.
5. Lawrence JC. The use of iodine as an antiseptic agent. *J Wound Care* 1998; 7: 421-25.
6. Schelanski HA, Shelanski MV. PVP-iodine: history, toxicity and therapeutic uses. *J Int Coll Surg* 1956; 25: 727-37.
7. Gottardi W. Iodine and iodine compounds. In: Block SS, ed. *Disinfection, sterilization, and preservation*. 4th ed. Philadelphia, PA: Lea and Febiger; 1991. p.152-66.
8. Pohl-Markl H, Neumann R. Polyvinylpyrrolidon-Jod (PVP-Jod) – Seine Bedeutung für die Dermatologie. *Z Hautkr* 1988; 63: 1009–15.
9. British Pharmacopoeia Commission. *British Pharmacopoeia*. London: Stationery Office Books (TSO); 2009. p.2899-900.
10. Horn D, Ditter W, Sanner A. Control of free iodine in Polyvidone-Iodine formulations with enhanced microbicidal activity, In: *Proceedings of the 2nd International Symposium on Povidone*, Lexington: College of Pharmacy, University. Kentucky, 1987, 86-98.
11. Berkelman RL, Holland BW, Anderson RL. Increased bactericidal activity of dilute preparations of povidone-iodine solutions. *J Clin Microbiol* 1982; 15: 635-39.
12. Atemnkeng MA, Plaizier-Vercammen J, Schuermans A. Comparison of free and bound iodine and iodide species as a function of the dilution of three commercial povidone-iodine formulations and their microbicidal activity. *Int J Pharm* 2006; 317: 161-66.
13. Jayaraj Kumar K, Jayachandran E, Gridhar B, Nair R, Jayakandan M, Kathiravan M, et al. Formulation and evaluation of povidone iodine liquid anti-dandruff shampoo. *J Pharm Sci Res* 2009; 1: 108-11.
14. Rabenberg VS, Ingersoll CD, Sandrey MA, Johnson MT. The bactericidal and cytotoxic effects of antimicrobial wound cleansers. *J Athl Train* 2002; 37: 51-54.
15. Gottardi W. The influence of the chemical behavior of iodine on the germicidal action and disinfectant solution containing iodine. *J Hosp Infect J Hosp Infect* 1985; 6: S1-11.
16. Haley CE, Marling-Cason M, Smith JW, Luby JP, Mackowiak PA. Bactericidal activity of antiseptics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1985; 21: 991-92.
17. Ferguson AW, Scott JA, McGavigan J, Elton RA, McLean J, Schmidt U, et al. Comparison of 5% povidone-iodine solution against 1% povidone-iodine solution in preoperative cataract surgery antiseptics: *Br J Ophthalmol* 2003; 87: 163-67.

جدول ۲- تاثیر رقیق سازی بر تعداد کلونی های بازیافتی استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا در زمان های مختلف

ATCC 28753 سودوموناس آئروژینوزا										ATCC 29737 استافیلوکوکوس اورئوس										اسم	زمان
1:300	1:200	1:100	1:80	1:60	1:40	1:20	1:10	1:5	direct	1:300	1:200	1:100	1:80	1:60	1:40	1:20	1:10	1:5	direct	(ثانیه)	کارخانه
25000	3200	4500	1000	5000	0	0	0	6000	1000	18000	30000	10000	8000	6500	4000	0	0	5000	12000	15000	a
45000	8500	6000	2000	0	0	0	0	0	3000	25000	50000	0	0	0	0	0	0	0	5000	30000	
60000	9000	0	0	0	0	0	0	0	0	30000	60000	0	0	0	0	0	0	0	0	60000	
40000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	120000	
127000	33000	30000	119000	50000	0	0	0	50000	110000	100000	280000	950000	850000	450000	350000	200000	0	60000	200000	150000	b
120000	60000	20000	10000	0	0	0	0	0	40000	90000	400000	0	0	0	0	0	0	0	60000	300000	
450000	50000	0	0	0	0	0	0	0	0	100000	400000	0	0	0	0	0	0	0	0	600000	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1200000	
940000	210000	90000	450000	0	0	0	0	200000	900000	1500000	4000000	2000000	0	0	0	0	0	7500000	20000000	15000000	c
2000000	700000	0	0	0	0	0	0	0	5000000	10000000	20000000	0	0	0	0	0	0	0	90000000	300000000	
8500000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	55000000	100000000	0	0	0	0	0	0	0	0	600000000	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1200000000	
27000000	55000000	100000000	500000000	0	0	0	0	4500000000	10000000000	190000000000	310000000000	800000000000	4500000000000	0	0	0	0	04000000000000	17000000000000	15000000000000	d
320000000	850000000	1000000000	0	0	0	0	0	0	25000000000	270000000000	600000000000	0	0	0	0	0	0	0	85000000000000	300000000000000	
5500000000	6000000000	0	0	0	0	0	0	0	0	400000000000	3000000000000	0	0	0	0	0	0	0	0	600000000000000	
60000000000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2000000000000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1200000000000000	
480000000000	1200000000000	10000000000000	300000000000000	0	0	0	0	8500000000000000	18000000000000000	450000000000000000	700000000000000000	3000000000000000000	10000000000000000000	0	0	0	0	75000000000000000000	215000000000000000000	150000000000000000000	e
2000000000000	2000000000000	20000000000000	0	0	0	0	0	0	60000000000000000	1500000000000000000	4000000000000000000	0	0	0	0	0	0	0	1050000000000000000000	3000000000000000000000	
40000000000000	100000000000000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6000000000000000000000	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	120000000000000000000000	
210000000000000	3800000000000000	50000000000000000	200000000000000000	4000000000000000000	0	0	0	30000000000000000000	850000000000000000000	18000000000000000000000	310000000000000000000000	700000000000000000000000	4000000000000000000000000	30000000000000000000000000	0	0	0	35000000000000000000000000	150000000000000000000000000	150000000000000000000000000	f
4500000000000000	100000000000000000	0	0	0	0	0	0	0	10000000000000000000000	200000000000000000000000	8000000000000000000000000	0	0	0	0	0	0	0	700000000000000000000000000	3000000000000000000000000000	
35000000000000000	900000000000000000	0	0	0	0	0	0	0	0	600000000000000000000000	7000000000000000000000000	0	0	0	0	0	0	0	0	6000000000000000000000000000	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	120000000000000000000000000000	
250000000000000000	3700000000000000000	17000000000000000000	60000000000000000000	300000000000000000000	0	0	0	4000000000000000000000000	12000000000000000000000000	210000000000000000000000000	330000000000000000000000000	800000000000000000000000000	2000000000000000000000000000	0	0	0	0	100000000000000000000000000000	2200000000000000000000000000000	1500000000000000000000000000000	g
4000000000000000000	110000000000000000000	400000000000000000000	0	0	0	0	0	0	40000000000000000000000000	250000000000000000000000000	1000000000000000000000000000	0	0	0	0	0	0	0	11000000000000000000000000000000	30000000000000000000000000000000	
25000000000000000000	1000000000000000000000	0	0	0	0	0	0	0	0	700000000000000000000000000	9000000000000000000000000000	0	0	0	0	0	0	0	0	60000000000000000000000000000000	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1200000000000000000000000000000000	
85000000000000000000	0	0	0	0	0	0	1000000000000000000000000	25000000000000000000000000000	4500000000000000000000000000000	30000000000000000000000000000000	0	0	0	0	0	1500000000000000000000000000000000	20000000000000000000000000000000000	160000000000000000000000000000000000	27000000000000000000000000000000000000	1500000000000000000000000000000000000000	h
0	0	0	0	0	0	0	0	40000000000000000000000000000000	8000												