

Milano 27/09/2016

OGGETTO: relazione finale sulla valutazione dell'attività antibatterica e di eventuale rilascio di Clorexidina in campioni di fibra di cotone idrofilizzata e sbiancata su cui è stata legata la Clorexidina.

INTRODUZIONE

Con la presente sperimentazione si è andati ad indagare l'eventuale capacità battericida di due campioni di fibra di cotone idrofilizzata e sbiancata su cui è stata legata la Clorexidina forniti dalla ditta Franzoni Medical Device s.r.l., nei confronti di due ceppi batterici: *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

I campioni forniti erano costituiti da:

- Campione A lotto nuovo
- Campione B lotto vecchio

MATERIALI E METODI

1. Determinazione della capacità di inibizione della crescita batterica

Allo scopo di determinare la capacità dei singoli campioni di fibra di inibire la crescita delle specie batteriche di *E. coli* e *S. aureus* è stata utilizzata la tecnica della diffusione da dischetto in agar (Kirby-Bauer). In particolare, ritagliando sterilmente da tre porzioni diverse di ogni campione sono stati ottenuti dei dischi di ciascun filato, ciascuno con diametro pari a 15 mm (media 15 ± 1 mm). Tali dischetti sono stati posti su piastre di terreno Mueller Hinton agar precedentemente inoculate con una sospensione microbica di torbidità pari a 0.5 McFarland (ca 1.5×10^8 CFU/mL).

Dopo incubazione a 37°C per 18 ore sono stati misurati gli eventuali aloni di inibizione osservabili. Come controllo è stata utilizzata la fibra di cotone non trattato.

Al fine di verificare la ripetibilità del test e l'omogeneità dell'azione antibatterica, ogni test è stato eseguito in triplicato.

2. Prove per contatto

I ceppi batterici di *E.coli* e *S.aureus* sono stati seminati rispettivamente su piastre di Agar McConkey e Agar Sangue. Il giorno dell'esperimento, da coltura pura, è stata eseguita una sospensione 0.5 McFarland. Questa sospensione è stata diluita 1:100 in Mueller Hinton Broth, e 100µl sono stati inoculati in provette da 15 ml contenenti i singoli campioni, così composti:

- 10 ml di terreno Mueller Hinton Broth
- una porzione della fibra di cotone per ciascun lotto

La diluizione 1:100 della sospensione 0.5 McFarland, è stata inoltre diluita e seminata su piastre di Mueller Hinton Agar al fine di conoscere la carica batterica iniziale.

I campioni sono stati incubati a 37°C per 1 e 6 ore. Alla fine del periodo d'incubazione i campioni sono stati diluiti in soluzione fisiologica e seminati su piastre di Mueller Hinton Agar (in particolare sono state seminate le diluizioni 10^{-5} e 10^{-6}) ed incubati a 37°C o/n. Al termine dell'incubazione si è proceduto al conteggio delle unità formanti colonie (CFU/ml).

Ogni campione è stato esagito in triplicato.

Come controllo sono state usate fibre di cotone non trattato.

RISULTATI

1. Determinazione della capacità di inibizione della crescita batterica

Nei campioni A di fibra appartenenti al lotto nuovo non è stata osservato alcun diametro di inibizione nei confronti di entrambi i microrganismi saggiati (*E.coli* e *S.aureus*).

Nei campioni B, appartenenti al lotto vecchio, sono stati osservati pochi mm di inibizione per entrambe le specie saggiate risultati tuttavia non significativi per l'interpretazione.

2. Prove per contatto

I valori delle CFU/mL ottenuti dopo il periodo di incubazione sono stati riportati in tabella.

Campioni	CFU/mL			
	<i>E.coli</i>		<i>S.aureus</i>	
Inoculo batterico iniziale	1,7 x 10 ⁷		1,2 x 10 ⁷	
Tempo incubazione	1h	6h	1h	6h
Media Campione A	1 x 10 ⁵	3,66 x 10 ⁸	2 x 10 ⁵	2,4 x 10 ⁷
Media Campione B	2 x 10 ⁵	0	6,3 x 10 ⁵	0



CONCLUSIONI

Le prove sperimentali *in vitro* effettuate per la determinazione della capacità di inibizione della crescita batterica non hanno documentato un'attività dei campioni A e B nei confronti delle specie batteriche saggiate.

Le prove per contatto hanno invece evidenziato un'attività nel tempo del Campione B sulla crescita dei ceppi di *E.coli* e *S.aureus* attraverso una diminuzione della crescita batterica dopo 1 ora di contatto e un'assenza di crescita dopo 6 ore di contatto della sospensione batterica con le fibre imbevute di clorexidina.

Il campione A ha dimostrato un'attività di diminuzione della crescita batterica solo dopo 1 ora di contatto, attività che non si è mantenuta dopo le 6 ore.

La sperimentazione è stata effettuata nell'ambito di un progetto di ricerca.

Prof. Maria Rita Gismondo

