

Milano 24/11/2016

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 un campione 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*.

MATERIALI E METODI

1. Determinazione della capacità di inibizione della crescita batterica

Allo scopo di determinare la capacità del campione 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 100 µl 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 di fibra appartenenti non è stata osservato alcun diametro di inibizione nei confronti di entrambi i microrganismi saggiati (*E.coli* e *S.aureus*).

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	5×10^6		4×10^6	
Tempo incubazione	1h	5h	1h	5h
Campione 1	3×10^6	0	2×10^6	3×10^6
Campione 2	0	0	1×10^6	1×10^6
Campione 3	4×10^6	0	1×10^6	0
Media	2.3×10^6	0	1.3×10^6	1.3×10^6

CONCLUSIONI

Le prove sperimentali *in vitro* effettuate per la determinazione della capacità di inibizione della crescita batterica non hanno documentato un'attività del campione nei confronti delle specie batteriche saggate.

Le prove per contatto hanno invece evidenziato un'attività nel tempo sulla crescita dei ceppi di *E.coli* determinando un'assenza di crescita dopo 5 ore di contatto della sospensione batterica con le fibre imbevute di clorexidina. Nel confronti di *S.aureus* si è invece osservata un'attività batteriostatica.

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

Prof. Maria Rita Gismondo

