



## Valutazione dell'attività antibatterica di superfici in poliuretano e poliuretano additivato con antibatterico

### 1. Obiettivo dello studio

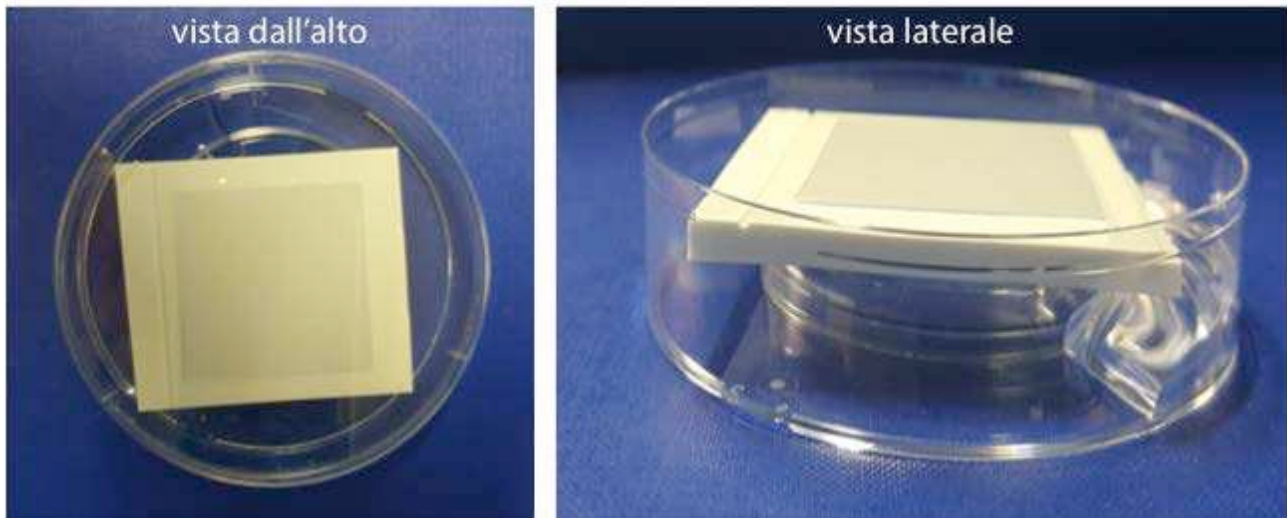
Il presente studio è stato eseguito al fine di valutare l'attività antibatterica di superfici in poliuretano (PU) e poliuretano additivato di antibatterico (PU antibatterico) fornito dalla società [REDACTED]

### 2. Materiali e Metodi

Le prove sono state condotte in accordo con la normativa ISO 22196:2011(E) [1], relativa alla valutazione dell'attività antibatterica di superfici plastiche e superfici non porose.

Durante la sperimentazione, i materiali in esame sono posti a contatto (ovvero inoculati) con sospensioni di due ceppi batterici, quali *Escherichia coli* DSM 1576 (*E. coli*, batterio Gram negativo di classe II) e *Staphylococcus aureus* DSM 346 (*S. aureus*, batterio Gram positivo di classe II). Campioni in PU (n=3) sono stati utilizzati come controllo al tempo t=0 al fine di misurare il numero di batteri vitali immediatamente dopo l'inoculo della sospensione batterica. Campioni di controllo PU (n=3) sono stati utilizzati per misurare il numero di batteri viventi immediatamente a 24 ore dall'inoculo della sospensione batterica, e n=3 campioni di PU additivato con antibatterico sono stati utilizzati come materiale da testare.

I campioni PU e PU antibatterico sono stati preventivamente disinfettati in bagno d'etanolo puro (100% EtOH) per 30 min. I campioni sono stati successivamente trasferiti in piastre di Petri ( $\varnothing_{\text{piastra}} = 10 \text{ cm}$ ), e inoculati con 0.4 mL di sospensione batterica ad una concentrazione di  $\approx 10^5$  batteri/mL. Al di sopra dell'inoculo è stato posizionato un cover film (40 mm  $\times$  40 mm; superficie di contatto pari a 1.600 mm<sup>2</sup>) in PVC al fine di mantenere i batteri a stretto contatto con la superficie da testare (Figura 1).



**Figura 1:** Setup per la valutazione dell'attività antibatterica delle superfici in PU e PU addizionato di agenti antibatterici.

I materiali utilizzati durante la sperimentazione le condizioni di test sono riassunte in Tabella 1.

Materiale antibatterico	Superfici in PU additivate con antibatterico, superficie: 50 mm × 50 mm
Materiale di controllo	Superfici in PU, superficie: 50 mm × 50 mm
Cover film	Film in PVC, superficie: 40 mm × 40 mm
Ceppo batterico	<i>Escherichia coli</i> DSM 1576 <i>Staphylococcus aureus</i> DSM 346
Volume di inoculo	0.4 mL

**Tabella 1:** Materiali e condizioni di test.

A seguito dell'inoculo, i campioni di controllo PU e quelli di test (PU additivato con antibatterico) sono stati incubati per 24 ore a 37°C in camera termostatica, mentre i campioni di controllo "PU t0" sono stati processati immediatamente al fine di recuperare i batteri dalla superficie in esame. Indipendentemente dal tempo intercorso tra l'inoculo e il *recovery* dei batteri, tale recupero è stato eseguito lavando in maniera estensiva i campioni di test con 10 mL di soluzione di *recovery* [1].

A partire da questa soluzione di *recovery*, per ogni campione testato è stato determinato il numero di batteri vitali recuperati (N) come segue:

Sede Leonardo:

Piazza L.Da Vinci, 32 – 20133 Milano  
Tel. ++39-02 2399.3200  
Fax ++39-02 2399.3209

Cod. fisc. 80057930150  
Partita IVA 04376620150  
Sito web: [www.chem.polimi.it](http://www.chem.polimi.it)

Sede Mancinelli:

Via Mancinelli, 7 – 20131 Milano  
Tel. ++39-02 2399.3100/3000  
Fax ++39-02 2399.3180/3080



# POLITECNICO DI MILANO

DIPARTIMENTO DI CHIMICA, MATERIALI ED INGEGNERIA CHIMICA "Giulio NATTA"  
Prof. Gabriele Candiani – Laboratorio MicroBioMat

$$N = (100 \times C \times D \times V)/A$$

dove:

N = numero di batteri vitali recuperati per cm<sup>2</sup> per campione di test;

C = numero di unità formanti colonie (UFC) determinato mediante conta su piastre di agar;

D = fattore di diluizione;

V = volume in mL della soluzione di *recovery*;

A = superficie in mm<sup>2</sup> del cover film.

Infine, l'attività antibatterica, espressa come R, è stata calcolata utilizzando la seguente formula:

$$R = (U_t - U_0) - (A_t - U_0) = U_t - A_t$$

dove:

U<sub>0</sub> = media del log<sub>10</sub> del numero di batteri vitali recuperati dalla superficie non trattata immediatamente dopo l'inoculo;

U<sub>t</sub> = media del log<sub>10</sub> del numero di batteri vitali recuperati dalla superficie non trattata dopo 24 ore di incubazione;

A<sub>t</sub> = media del log<sub>10</sub> del numero di batteri vitali recuperati dal campione trattato dopo 24 ore di incubazione.

Per i campioni di PU antibatterico è stata misurata anche un indice di riduzione della popolazione LR, calcolato come segue:

$$LR = P_0 - PR$$

dove:

P<sub>0</sub> = media del log<sub>10</sub> del numero di batteri vitali inoculati all'inizio del test;

PR = media del log<sub>10</sub> del numero di batteri sopravvissuti ad ogni intervallo di tempo.

La percentuale di riduzione %R è calcolata come segue:

$$\%R = 100 \times (1 - 10^{-LR})$$

Sede Leonardo:

Piazza L. Da Vinci, 32 – 20133 Milano  
Tel. ++39-02 2399.3200  
Fax ++39-02 2399.3209

Cod. fisc. 80057930150  
Partita IVA 04376620150  
Sito web: [www.chem.polimi.it](http://www.chem.polimi.it)

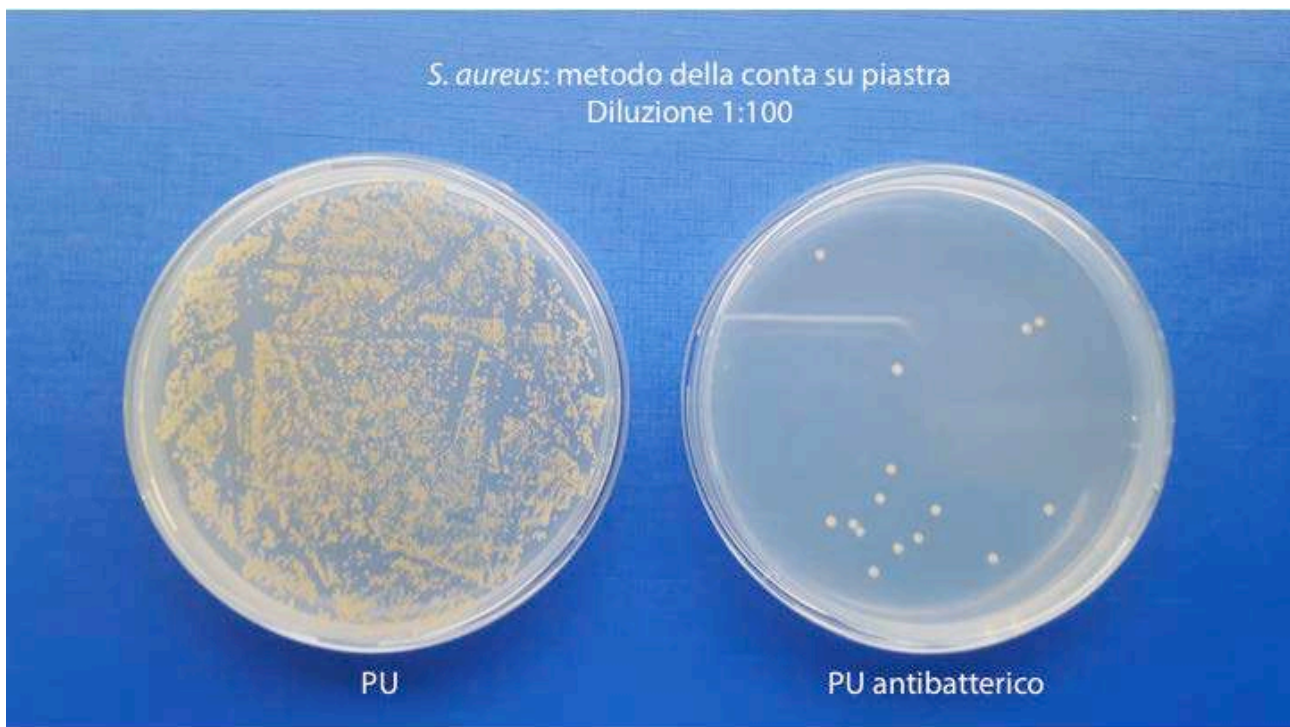
Sede Mancinelli:

Via Mancinelli, 7 – 20131 Milano  
Tel. ++39-02 2399.3100/3000  
Fax ++39-02 2399.3180/3080



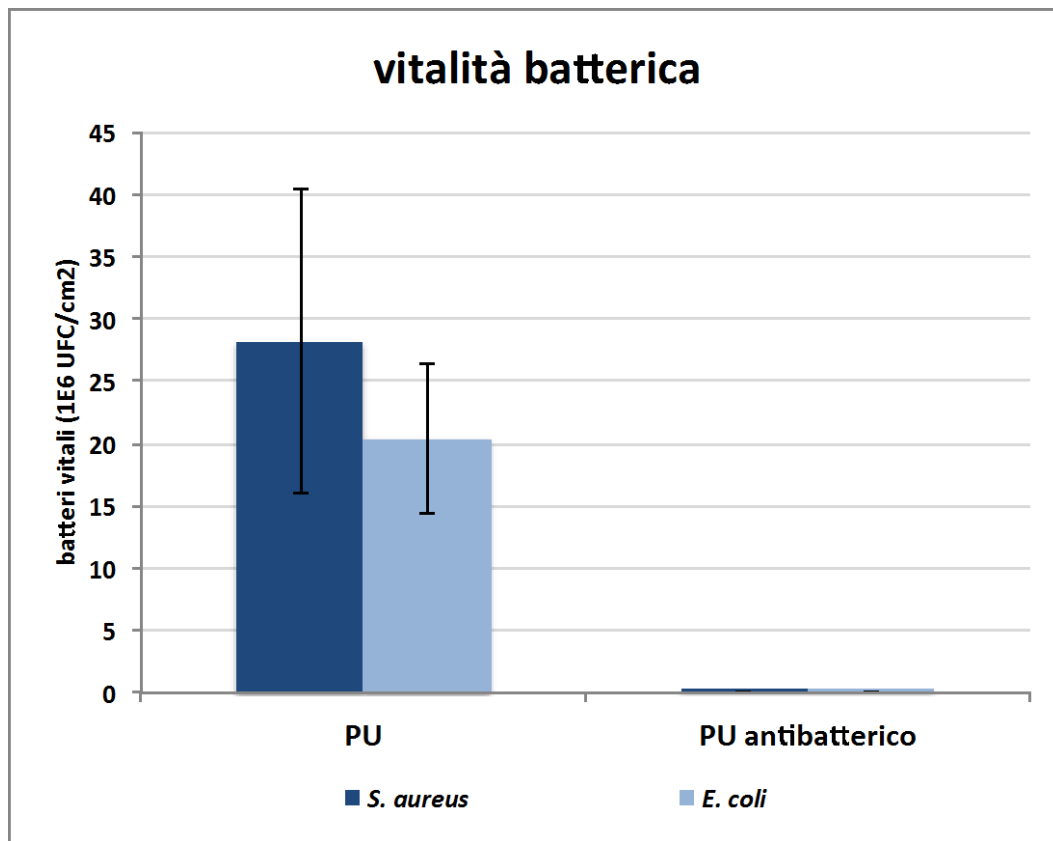
### 3. Risultati

Al termine delle 24 ore dall'inoculo della sospensione batterica sulle superfici in PU e PU additivato con antibatterico, per ogni campione è stato determinato il numero C di unità formanti colonie (UFC) mediante il metodo delle conta su piastre di agar (si faccia riferimento alla Figura 2 a titolo esemplificativo della metodica utilizzata).



**Figura 2:** Esempio di quantificazione del numero di batteri vivi dopo 24 ore dall'inoculo della sospensione batterica mediante il metodo della conta su piastra.

Per ogni campione, è stato determinato il numero N di batteri recuperati, ed espresso in termini di  $10^6$  UCF per  $\text{cm}^2$  del cover film (ovvero la superficie del materiale in contatto con la sospensione batterica). L'istogramma in Figura 3 riporta i valori N relativi ad entrambi i ceppi batterici utilizzati durante la sperimentazione.



**Figura 3:** Quantificazione del numero di batteri vivi dopo 24 ore dall'inoculo della sospensione batterica sulle superfici di PU e PU additivato con antibatterico. I risultati sono riportati per i due ceppi batterici utilizzati.

Come si evince dalla Figura 2 e dall'istogramma riportato in Figura 3, a 24 ore dall'inoculo della sospensione batterica, il numero di batteri vitali nei campioni di PU antibatterico risulta essere trascurabile rispetto a quello nei campioni di controllo (*E. coli*:  $1.766 \pm 972$  UFC/cm<sup>2</sup> vs.  $(20 \pm 6) \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>; *S. aureus*:  $375 \pm 285$  UFC/cm<sup>2</sup> vs.  $(28 \pm 12) \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>).

L'attività antibatterica R delle superfici in PU antibatterico è risultata essere pari a 4,1 nel caso di *E. coli* e 4,9 nel caso di *S. aureus*, a cui corrispondono rispettivamente una riduzione percentuale %R del numero di batteri vitali rispetto a quelli iniziali di inoculo pari a 98,3% e 99,9%.

Le superfici in PU antibatterico risultano pertanto essere altamente antibatteriche, con una efficienza prossima al 100%.



#### **4. Conclusioni**

In questo studio è stata valutata l'attività antibatterica di superfici in PU antibatterico rispetto ad un controllo rappresentato da superfici in PU.

Gli esperimenti sono stati eseguiti in accordo alla normativa ISO 22196:2011 (E). Gli esperimenti hanno mostrato una spiccata attività antibatterica delle superfici in PU addizionate di antibatterico, che si traduce in una riduzione prossima al 100% del numero di batteri vitali a 24 ore dall'inoculo. I risultati sono risultati paragonabili per i due ceppi batterici utilizzati nella sperimentazione.

#### **Bibliografia**

[1] ISO 22196:2011 (E): "Measurement of antibacterial activity on plastics and other non-porous surfaces"

Milano, 02/12/2016

Prof. Gabriele Candiani

Sede Leonardo:

Piazza L. Da Vinci, 32 – 20133 Milano  
Tel. ++39-02 2399.3200  
Fax ++39-02 2399.3209

Cod. fisc. 80057930150  
Partita IVA 04376620150  
Sito web: [www.chem.polimi.it](http://www.chem.polimi.it)

Sede Mancinelli:

Via Mancinelli, 7 – 20131 Milano  
Tel. ++39-02 2399.3100/3000  
Fax ++39-02 2399.3180/3080