



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FERRARA / UNIVERSITY OF FERRARA
DIPARTIMENTO DI MEDICINA SPERIMENTALE E DIAGNOSTICA / DPT. EXP. & DIAGNOSTIC MEDICINE
SEZIONE DI MICROBIOLOGIA / SECTION OF MICROBIOLOGY
via LUIGI BORSARI, 46 – 44100 FERRARA - ITALY

REPORT European standard UNI EN 1500:2000

Valutazione del trattamento igienico delle mani per frizione del prodotto:

/

Evaluation of the hygienic handrub of a product:

PRODOTTO:

<<KILL PLUS NETTUNO>>

LOTTO 131109

Applicazione dei metodi e i criteri di accettabilità della
NORMA EUROPEA UNI EN 1500 / 2000 : **Disinfettanti chimici ed antisettici**
Trattamento igienico delle mani per frizione.
Metodo di prova e prescrizioni (fase 2/stadio 2)

Chemical disinfectants and antiseptics EUROPEAN STANDARD
Hygienic handrub. Test method and requirements
UNI EN 1500/2000 (phase 2/step 2)

COMMITTENTE / CUSTOMER:

NETTUNO SRL

Viale Industria, 16/18
24060 Caselli Calepio (BG)

Ferrara, 18 december 2009
Ferrara: december 18th 2009



Prodotto / Product: << KILL PLUS NETTUNO >>

LOTTO 131109

COMMITTENTE / CUSTOMER:

NETTUNO SRL

Viale Industria, 16/18

24060 Caselli Calepio (BG)

INDICE / CONTENTS:

INTRODUZIONE / FOREWORD	pag./ page	3
1 - DEFINIZIONI / DEFINITIONS	pag./ page	3
2 - CARATTERIZZAZIONE DEL PRODOTTO / PRODUCT IDENTITY	pag./ page	4
Applicazione dei metodi e i criteri di accettabilità della norma europea UNI EN 1500 / 2000		
Disinfettanti chimici ed antisettici: Trattamento igienico delle mani per frizione.		
Metodo di prova e prescrizioni (fase 2/stadio 2) /		
<i>Chemical disinfectants and antiseptics Hygienic handrub. Test method and requirements</i>		
EUROPEAN STANDARD UNI EN 1500/2000 (phase 2/step 2)		
3-METODO DI PROVA / TEST METHOD	pag./ page	5
3.1 – Principio	pag./ page	5
3.2 – Programma della sperimentazione	pag./ page	5
3.3 – Soggetti	pag./ page	5
3.4 – MATERIALI E REAGENT / MATERIAL AND REAGENT	pag./ page	5
3.4.1 MICRORGANISMI TEST / TEST MICROORGANISM	pag./ page	5
3.4.2 TERRENI DI COLTURA E REAGENT / MEDIA AND REAGENTS	pag./ page	5
3.4.3 APPARECCHIATURE	pag./ page	6
4 – PROCEDIMENTO	pag./ page	7
4.1 – Preparazione della sospensione di contaminazione	pag./ page	7
4.2 – Applicazione della sospensione di contaminazione	pag./ page	7
4.3 – Valori iniziali	pag./ page	7
4.4 – Valori finali	pag./ page	8
5 – CALCOLO / CALCULATION	pag./ page	9
6 – CONVALIDA DELLA PROVA / VERIFICATION OF THE METHODOLOGY	pag./ page	9
7 – RISULTATI / RESULTS	pag./ page	10
8 – CONCLUSIONI / CONCLUSIONS	pag./ page	10
9 – APPENDICE / ANNEX	pag./ page	11
9.1- APPENDICE 1 / ANNEX 1 :	pag./ page	11



INTRODUZIONE / FOREWORD

Valutazione del trattamento igienico delle mani per frizione di un prodotto / Evaluation of the hygienic handrub of a chemical disinfectants and antiseptics

NORMA EUROPEA UNI EN 1500 / 2000 (fase 2/stadio 2): Disinfettanti chimici ed antisettici. Trattamento igienico delle mani per frizione. Metodo di prova e prescrizioni.

Chemical disinfectants and antiseptics EUROPEAN STANDARD UNI EN 1500 / 2000 (phase 2/step 2): Hygienic handrub. Test method and requirements

SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

La presente norma europea specifica un metodo di prova che simula condizioni pratiche per stabilire se un certo prodotto, impiegato per il trattamento igienico delle mani per frizione riduce il rilascio della flora batterica transitoria, in conformità con le prescrizioni, quando viene usato per la frizione delle mani di volontari, artificialmente contaminate.

La presente norma europea si applica a prodotti per il trattamento igienico per frizione delle mani, da impiegare in zone e in situazioni nelle quali è indicata la disinfezione delle mani o che è reso necessario nei luoghi di lavoro e nelle abitazioni. Possono anche riguardare settori come le lavanderie e le cucine.

1.DEFINIZIONI / DEFINITIONS

In questo documento sono presenti i seguenti termini e relative definizioni / *For the method of this document, the following definitions apply:*

PRODOTTO (ANTISETTICO E/O PER DISINFEZIONE CHIMICA): Agente o formulazione chimica impiegata come disinfettante chimico e/o antisettico [EN 1040].

TRATTAMENTO IGIENICO DELLE MANI PER FRIZIONE: Procedimento di trattamento di postcontaminazione, che prevede il lavaggio delle mani per frizione senza l'aggiunta di acqua utilizzando un prodotto battericida diretto contro i microrganismi transitori, per impedire la loro trasmissione, indipendentemente dalla flora batterica residente sulla pelle.

VALORE INIZIALE: Numero di unità formanti colonia (ufc), prelevate dalle mani, prima del trattamento.

VALORE FINALE: Numero di unità formanti colonia (ufc), prelevate dalle mani, dopo il trattamento.

FATTORE DI RIDUZIONE (RF): Rapporto tra i valori iniziali ed i valori finali, generalmente espresso mediante logaritmi decimali: $\log_{10} RF = \log_{10} \text{del valore iniziale} - \log_{10} \text{del valore finale}$.



2-CARATTERIZZAZIONE DEL PRODOTTO / PRODUCT IDENTITY:

2.1 - Identificazione del campione ad attività antibatterica:

Nome del prodotto / Product: << KILL PLUS NETTUNO >>

LOTTO 131109

Descrizione del prodotto: è una soluzione igienizzante mani, che deve essere distribuito in modo uniforme sulla cute delle mani senza bisogno dell'utilizzo dell'acqua.

Modalità d'uso: spruzzare o versare direttamente sulle mani la quantità desiderata di prodotto, frizionare fino a quando le mani non sono asciutte.

Concentrazione d'uso: 100% pronto all'uso / Product concentrate: 100% ready to use.

Produttore / Manufacturer:

NETTUNO SRL

Viale Industria, 16/18

24060 Caselli Calepio (BG)

2.2 - Periodo test / Period of testing:

Periodo di analisi del prodotto: 03/12/2009 al 18/12/2009.

Dates of test: 2009-12-03 / 2009-12-18.

Riferimento Normativa:

EUROPEA UNI EN 1500 / 2000 : Disinfettanti chimici ed antisettici Trattamento igienico delle mani per frizione. Metodo di prova e prescrizioni (Fase 2 / Stadio 2)

2.3 - Condizioni sperimentali / Experimental conditions

Concentrazione del prodotto / product concentration:

Prodotto pronto all'uso / ready to use.

Concentrazione del prodotto in esame: 100%.

Product undiluted: concentration of the product tested: 100%.

Condizioni obbligatorie / Obligatory test conditions:

Test-microorganisms:

Escherichia coli ATCC 10536;

Staphylococcus aureus ATCC 6538;

Enterococcus hirae ATCC 10541;

Temperatura test / Test temperature: 20 °C;

Tempo di contatto / Contact time:

- **1 minuto.**



3 - METODO DI PROVA

3.1 - Principio

Viene valutato il numero di microrganismi di prova presenti sulla punta delle dita delle mani contaminate artificialmente, prima e dopo il trattamento igienico per frizione delle mani.

Il rapporto dei due valori risultanti è denominato fattore di riduzione. Esso rappresenta una misura dell'attività antimicrobica del prodotto sottoposto a prova per il trattamento igienico per frizione delle mani.

Viene effettuato il procedimento in parallelo utilizzando una sostanza di riferimento (R), propan-2-olo di riferimento, di trattamento igienico per frizione delle mani, che viene effettuato con gli stessi soggetti, nello stesso giorno ed in condizioni ambientali paragonabili.

3.2 - Programma della sperimentazione

Per sottoporre a prova un dato prodotto per volta, viene utilizzato un programma di sperimentazioni incrociate. I soggetti sono separati a caso in due gruppi, approssimativamente dello stesso numero. La prova è eseguita una prima volta con il gruppo 1, che utilizza il trattamento igienico di riferimento per frizione delle mani, e con il gruppo 2 che utilizza il trattamento igienico per frizione con il prodotto sottoposto a prova.

La prova è quindi ripetuta lo stesso giorno con il gruppo 1, utilizzando il trattamento igienico per frizione con il prodotto di prova, e con il gruppo 2, utilizzando il trattamento di riferimento.

3.3 - Soggetti

La prova deve essere effettuata su di un numero di persone sane adulte, che presentino la pelle delle mani sana, senza tagli o abrasioni e con le unghie corte e pulite.

3.4 - Materiali

3.4.1 - Microorganismi di prova ceppi ATCC:

-*Escherichia coli*

-*Staphylococcus aureus*

-*Enterococcus hirae*

3.4.2 - Mezzi di coltura e reagenti

I reagenti devono essere di qualità analitica e/o idonei per scopi microbiologici.

Acqua

L'acqua deve essere esente da sostanze tossiche o inibitrici rispetto ai batteri. Deve essere acqua distillata recentemente, da apparecchi di vetro e non demineralizzata.

Sterilizzare nell'autoclave.



Tryptone - soia - agar (TSA)

Terreno di coltura per conservare i ceppi batterici ed effettuare le conte vitali.

TSA:

Tryptone, digestione pancreatica di caseina 15,0 g

Peptone di soia, digestione papainica di farina di soia 5,0 g

NaCl 5,0 g

Agar 15,0 g

Acqua demineralizzata fino a 1 000,0 ml

Sterilizzare nell'autoclave. Dopo sterilizzazione il pH del mezzo di coltura deve essere di 7,2 \pm 0,2, se misurato a 20 °C.

Brodo di coltura di triptone di soia (TSB)

Per la preparazione della sospensione di contaminazione:

Tryptone, digestione pancreatica di caseina 15,0 g

Peptone di soia, digestione papainica di farina di soia 5,0 g

NaCl 5,0 g

Acqua demineralizzata fino a 1 000,0 ml

Sterilizzare nell'autoclave. Dopo sterilizzazione, il pH del mezzo di coltura deve essere di 7,2 \pm 0,2, se misurato a 20 °C.

Neutralizzante

È stato scelto il seguente neutralizzante:

Lecitina	3 g	MERCK
Polisorbato 80	30 g	MERCK
Sodio tiosolfato	5 g	MERCK
L-istidina	1 g	MERCK
Saponina	30 g	SIGMA
Acqua distillata q.b. a	100 ml	

Propan-2-olo al 60% (v/v).

3.4.3 - APPARECCHIATURE

- | | |
|---|---------|
| - Stufa per la sterilizzazione a secco | KW |
| - Autoclave a vapore | COLUSSI |
| - Incubatore a temperatura 36 \pm 1°C | MEMMERT |
| - pHmetro | BECKMAN |
| - Agitatore Vortex | VELP |
| - Cronometro | ARBORE |
| - Micropipette | GILSON |
| - Pipette graduate di capacità nominale 10 ml, 1 ml e 0, ml monouso | |
| - Capsule Petri diametro 90 mm. | |
| - Contenitore di capacità sufficiente per contenere una mano immersa fino a metà dei metacarpi. | |



4 - PROCEDIMENTO

4.1 - Preparazione della sospensione di contaminazione

Coltivare i ceppi microbici in provette contenenti ciascuna 5 ml di TSB per un periodo di tempo compreso tra 18 h e 24 h a 36 ± 1 °C. Inoculare queste colture in due flaconi con 1 l di TSB ciascuno, e incubare per un periodo di tempo compreso tra 18 h e 24 h a 36 ± 1 °C. Mescolare la sospensione batterica risultante.

Questa sospensione di contaminazione deve contenere tra 2×10^8 ufc/ml e 2×10^9 ufc/ml.

4.2 - Applicazione della sospensione di contaminazione

Preparare le mani lavandole per 1 min con sapone molle, per eliminare la flora batterica naturale transitoria. Asciugare le mani accuratamente su tovaglioli di carta.

Versare nel contenitore la sospensione di contaminazione ed immergere le mani fino alla metà dei metacarpi per 5 s, con le dita ben distanziate tra loro. Il liquido in eccesso si lascia scolare accuratamente nel contenitore.

Fare asciugare le mani all'aria per 3 min, tenendole in posizione orizzontale, con le dita ben distanziate tra loro, e ruotandole avanti ed indietro per evitare la formazione di goccioline.

Un lotto di sospensione di contaminazione non deve essere più utilizzato, dopo che siano trascorse più di 3 h dal momento in cui sono state contaminate le mani del primo volontario.

Inoltre, in una prova, ci si deve assicurare che le mani di tutti i volontari siano state trattate con lo stesso lotto di sospensione di contaminazione.

4.3 - Valori iniziali

Immediatamente dopo l'essiccazione, strofinare le punte delle dita (incluso quelle dei pollici) per 1 min sulla base di una capsula di Petri contenente 10 ml di TSB senza neutralizzante, al fine di valutare il rilascio di microrganismi di prova, prima del trattamento delle mani (valori iniziali). Usare una capsula di Petri separata per ciascuna mano.

Preparare diluizioni di 10^{-3} e 10^{-4} in TSB di questi fluidi di campionamento. Per ciascuna diluizione distribuire 0,1 ml sulla superficie di una piastra di TSA, utilizzando spatole di vetro. L'intervallo tra campionamento e semina non deve essere maggiore di 30 min.

4.4 - Procedimento di trattamento igienico delle mani per frizione

Immediatamente dopo il campionamento per la misura dei valori iniziali e senza ricontaminare le mani, i gruppi devono procedere al trattamento igienico delle mani per frizione.



Procedimento di riferimento (R) per il trattamento igienico delle mani per frizione

Versare 3 ml di propan-2-olo al 60% (v / v) sulle mani disposte a coppa, asciutte e frizionarne vigorosamente la pelle fino ai polsi per 30 s, in conformità al procedimento normalizzato di trattamento igienico delle mani per frizione, per assicurarne la copertura totale.

Ciascuna fase delle operazioni descritte è ripetuta cinque volte, con movimenti avanti ed indietro, cioè palmo contro palmo, palmo della mano destra sul dorso della mano sinistra, palmo della mano sinistra sul dorso della mano destra, palmo su palmo con le dita intrecciate tra loro, retro delle dita sui palmi opposti con le dita intrecciate, strofinio con rotazione del pollice destro afferrato nel palmo sinistro, e del pollice sinistro afferrato nel palmo destro, strofinio con rotazione con le dita della mano destra congiunte nel palmo della mano sinistra e con le dita della mano sinistra congiunte nel palmo della destra.

Ripetere con ulteriori 3 ml di propan-2-olo, per dare un tempo totale di frizione di 60 s.

Procedimento di trattamento igienico delle mani per frizione con il prodotto di prova (P)

<<KILL PLUS NETTUNO LOTTO 131109>>

Una dose pari a 3 ml di soluzione è versata sulle mani disposte a coppa, asciutte e frizionarne vigorosamente la pelle fino ai polsi per 30 s, in conformità al procedimento normalizzato di trattamento igienico delle mani per frizione, per assicurarne la copertura totale.

Il prodotto test viene distribuito con movimenti avanti ed indietro, cioè palmo contro palmo, palmo della mano destra sul dorso della mano sinistra, palmo della mano sinistra sul dorso della mano destra, palmo su palmo con le dita intrecciate tra loro, retro delle dita sui palmi opposti con le dita intrecciate, strofinio con rotazione del pollice destro afferrato nel palmo sinistro, e del pollice sinistro afferrato nel palmo destro, strofinio con rotazione con le dita della mano destra congiunte nel palmo della mano sinistra e con le dita della mano sinistra congiunte nel palmo della destra.

Il tempo totale di lavaggio è limitato a 30 s.

4.5 - Valori finali

Immediatamente dopo, strofinare le punte delle dita e le punte dei pollici per 1 min sul fondo di una capsula di Petri, contenente 10 ml di TSB, contenente neutralizzante. Usare una capsula di Petri separata per ciascuna mano.

Seminare campioni da 1,0 ml e da 0,1 ml del fluido di campionamento non diluito e 0,1 ml di una diluizione 10^{-1} in TSB, contenente neutralizzante, sulla superficie di piastre di TSA, utilizzando spatole di vetro. Se necessario, ripetere con 0,1 ml di una diluizione 10^{-2} .

L'intervallo tra il prelievo e la semina non deve essere maggiore di 30 min.

4.6 - Incubazione

Incubare tutte le piastre in aerobiosi alla temperatura di 36 ± 1 °C, per un tempo compreso tra 18 h e 24 h. Conteggiare le unità formanti colonia ed incubare per ulteriori 24 h, per rivelare tutte le colonie a crescita lenta.



5 – CALCOLO

Registrare il numero di unità formanti colonia (ufc) per piastra, per ciascuno stadio di diluizione.

Calcolare il fattore di diluizione moltiplicando la diluizione del campione per il volume del campione (in millilitri). Calcolare il numero di ufc per millilitro di sospensione di campionamento, moltiplicando la conta di piastra (ufc) per il fattore di diluizione.

Quando possibile, le conte dovrebbero essere ottenute da piastre che presentino un numero di colonie compreso tra 15 e 300 colonie. Con trattamenti molto efficienti di frizione delle mani, alcune piastre possono presentare meno di 15 colonie oppure una totale assenza di crescita, anche se inoculate con 1 ml di fluido di campionamento non diluito. Questi valori possono venire quindi accettati.

Tutte le conte vitali per ml di fluido di campionamento sono trasformate in logaritmi decimali.

Sia per il procedimento di prova che per il procedimento di riferimento, le conte logaritmiche dalle mani destra e sinistra di ciascun volontario devono essere mediate separatamente per i valori iniziali e finali.

Dalla differenza tra questo valore iniziale logaritmico individuale combinato e il valore finale logaritmico viene stabilito per ciascun soggetto un fattore di riduzione logaritmico.

Quindi, sia per il procedimento di riferimento che per il procedimento di prova sono calcolate le due medie aritmetiche di tutti i fattori individuali di riduzione logaritmica.

6 - CONVALIDA DELLA PROVA

Se sono conformi ai requisiti di seguito elencati, i risultati di una prova devono essere accettati.

I requisiti per l'accettazione dei risultati delle prove sono i seguenti:

- la media complessiva dei valori iniziali logaritmici per il procedimento di prova e di riferimento deve essere almeno 5,00;
- per ciascun procedimento (R) e (P) non più di tre fattori individuali di riduzione logaritmica devono risultare minori di 3,00.

6.1 - Valutazione di P

Se è stato riscontrato che la qualità dei dati è accettabile, essi devono essere impiegati per la valutazione dell'efficacia antimicrobica del prodotto sottoposto a prova, applicando i seguenti criteri di accettazione:

- per il prodotto test il fattore medio di riduzione logaritmica ottenuto, non deve essere significativamente minore di quello ottenuto per il propan-2-olo di riferimento;
- se il fattore medio di riduzione logaritmico di un prodotto di prova è minore di quello ottenuto con il propan-2-olo di riferimento, deve essere sottoposta a prova la differenza per valutare la significatività statistica;
- se il fattore medio di riduzione logaritmica è minore in maniera significativa di quello ottenuto con il propan-2-olo di riferimento, il prodotto di prova non è conforme alla presente norma.



7 – RISULTATI / RESULTS

Risultati sperimentali. Procedimento di trattamento delle mani per frizione con il prodotto test:
 <<KILL PLUS NETTUNO>> - LOTTO 131109:

MICROORGANISMI TEST	Valore Iniziale* \log_{10}	Valore finale* \log_{10} Tempo di contatto: 1 min.	% Rid.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	6,22	3,43	99,8
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	6,30	3,20	99,9
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541	6,35	3,35	99,9

*Valori medi dei valori in \log_{10} dei risultati mano destra e mano sinistra

FR=fattore di riduzione

% Rid= percentuale di riduzione microbica dopo il tempo di contatto del prodotto in esame.

\log_{10} =valori espressi in logaritmo.

8 – CONCLUSIONI / CONCLUSIONS:

In base alla metodica applicata e ai criteri di accettabilità della Normativa europea UNI EN 1500/2000 (Fase 2 / Stadio 2), il prodotto in esame “ **KILL PLUS NETTUNO** ” - **LOTTO 131109**, alla concentrazione del 100%, pronto all’uso, presenta **ATTIVITÀ ANTIMICROBICA** dopo 1 minuto di contatto pari a una riduzione del 99,9% nei confronti dei ceppi *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Enterococcus hirae* ATCC 10541 e pari a una riduzione del 99,8% nei confronti di *Escherichia coli* ATCC 10536



Prof. Balboni

Prof. Balboni
(Signature)

UNIVERSITY OF FERRARA
DPT. EXP. & DIAGNOSTIC MEDICINE
SECTION OF MICROBIOLOGY

Ferrara, 18/12/2009.



9 – ANNEX

9.1 – ANNEX N.1:

TABELLE RISULTATI SPERIMENTALI PER IL TRATTAMENTO DELLE MANI PER FRIZIONE

Prodotto di Trattamento delle mani per frizione <<KILL PLUS NETTUNO>> - LOTTO 131109

Applicazione: frizionare le mani con 3 ml per 30 s, ripetere una sola volta.

Tempo di contrato: 1 minuto dopo l'applicazione.

Microorganismo di prova: *Escherichia coli* Sospensione iniziale: $2,2 \times 10^8$ cfu/ml

N.	mano	Valori iniziale T_0^* 10^{-4}	Valori finali $T_{1 \text{ min}}$ 10^{-3}	FR $T_{1 \text{ min}}$	RID.valore medio %
1	d	300	30	3,25	99,93
	s	290	10		
2	d	140	26	3,50	99,70
	s	110	40		
3	d	150	34	3,20	99,70
	s	140	52		
4	d	120	10	3,40	99,71
	s	120	60		
5	d	110	21	3,40	99,85
	s	300	30		

* Numero di cfu per piastra ottenuto alla diluizione di 10^4

Microorganismo di prova: *Staphylococcus aureus* Sospensione iniziale: $2,0 \times 10^8$ cfu/ml

N.	mano	Valori iniziale T_0^* 10^{-4}	Valori finali $T_{1 \text{ min}}$ 10^{-3}	FR $T_{1 \text{ min}}$	RID.valore medio %
1	d	250	12	3,00	99,96
	s	300	8		
2	d	260	16	3,25	99,90
	s	160	22		
3	d	150	20	3,40	99,80
	s	110	30		
4	d	210	9	3,00	99,94
	s	130	11		
5	d	240	40	3,35	99,89
	s	250	13		

* Numero di cfu per piastra ottenuto alla diluizione di 10^4

Microorganismo di prova: *Enterococcus hirae* Sospensione iniziale: $2,0 \times 10^8$ cfu/ml

N.	mano	Valori iniziale T_0^* 10^{-5}	Valori finali $T_{1 \text{ min}}$ 10^{-3}	FR $T_{1 \text{ min}}$	RID.valore medio %
1	d	200	20	3,30	99,91
	s	200	17		
2	d	150	24	3,35	99,87
	s	180	19		
3	d	170	20	3,35	99,86
	s	170	19		
4	d	330	27	3,30	99,93
	s	320	19		
5	d	250	20	3,45	99,88
	s	240	30		

* Numero di cfu per piastra ottenuto alla diluizione di 10^4



Prodotto di riferimento: Propan-2-olo 60% (v/v)

Applicazione: frizionare le mani con 3 ml per 30 s, ripetere una sola volta

Tempo di contratto: 1 minuto dopo l'applicazione.

Microorganismo di prova: *Escherichia coli* ATCC 10536; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *Enterococcus hirae* ATCC 10541.

Sospensione iniziale: $4,0 \times 10^8$ cfu/ml

N.	mano	Valori iniziale T_0^* 10^{-4}	Valori finali $T_{1\text{min}}$ 10^{-2}	FR $T_{1\text{min}}$	RID.valore medio %
1	d s	150 180	85 90	3,30	99,9
2	d s	100 160	90 90	3,15	99,9
3	d s	150 170	90 90	3,30	99,9
4	d s	120 190	80 90	3,30	99,9
5	d s	120 150	90 90	3,25	99,9

* Numero di cfu per piastra ottenuto alla diluizione di 10^4

Ferrara, 18/12/2009.

