

ASL N. 4 L'Aquila Ospedale San Salvatore	Procedura Operativa Standard	Rev 1.0
Dip. Patologia Clinica U.O. Medicina di Laboratorio	-Esame colturale tampone vaginale -Ricerca Trichomonas -Esame diretto secreto vaginale	Ott. 2002
Settore Batteriologia tel 0862 368688		

6.1. Sinonimi

Esame colturale del tampone vaginale, esame colturale del tampone vaginale per ricerca di Candida, Gardnerella, Streptococco di gruppo B,.Esame diretto tampone vaginale, ricerca Trichomonas

6.2. Principio del Test

Semina del tampone vaginale in terreni di coltura definiti per l'isolamento di agenti patogeni di sospetta vaginite (Candida spp., *Trichomonas vaginalis*) , rilevare una condizione di vaginosi (*Gardnerella vaginalis*) , valutare condizioni di prevalenza di flora endogena potenzialmente causa di infezioni nel neonato (*Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*) e uno stato di vaginosi citolitica.

La ricerca di altri germi potenzialmente patogena e la ricerca della *Garnerella vaginalis* è subordinata all'esame diretto batterioscopico del secreto vaginale per valutare un marcato dismicrobismo .L'esame diretto del secreto vaginale è inoltre importante per dare una carica semiquantitativa della presenza dei lattobacilli .

In età pediatrica non è raro isolare *Streptococcus pyogenes* , *Haemophilus spp.* ,oltre agli altri patogeni citati.

La presenza di Enterobatteriacee e cocchi gram positivi (Enterococcus spp), specialmente in età menopausale è da tenersi presente specie se in forte carica.

6.3. Preparazione del Paziente

Si raccomanda alle pazienti di

- non avere rapporti sessuali nelle 24 ore precedenti l'esame;
- non essere in periodo mestruale;
- non eseguire irrigazioni vaginali nelle 24 ore precedenti l'esame;
- aver cessato qualsiasi intervento chemio-antibiotico locale o generale da almeno 3 giorni prima.

Il prelievo deve essere eseguito dal fornice posteriore vaginale mediante tamponi sterili previa introduzione di uno speculum bivalve sterile.

La ricerca dello Streptococcus agalactiae (SGB) va eseguita verso la 35-36 settimana di gestazione.

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore:Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

In età pediatrica l'esame può essere eseguito su secrezioni vaginali; in caso di sintomatologia a carico dei genitali esterni può essere indicata l'esecuzione di un tampone vulvare.

6.4. Campione

Essudato vaginale raccolto tramite apposito tampone. È importante raccogliere almeno 2 tamponi in quanto l'esame batterioscopico è eseguito di routine anche se non richiesto. Un terzo tampone è richiesto per la ricerca di *Trichomonas vaginalis*.

6.5. Modalità di conservazione e trasporto

- 1) Il tampone deve essere introdotto subito dopo aver effettuato il prelievo dell'essudato vaginale nell'apposito terreno di trasporto che deve essere inviato in laboratorio o conservato a temperatura ambiente fino a un massimo di 24 ore.
- 2) Per la ricerca del *Trichomonas vaginalis* a fresco, il tampone con l'essudato raccolto va stemperato in circa 1mL di soluzione fisiologica. La lettura microscopica va effettuata entro mezz'ora dal prelievo, altrimenti la provetta va mantenuta in termostato a 37°C gradi. Nel caso si voglia eseguire la coltura di *Trichomonas vaginalis*, il tampone va stemperato al più presto nell'apposito terreno di trasporto/coltura che deve essere inviato prontamente in Laboratorio o conservato a temperatura ambiente.

6.6. Strumentazione

Non applicabile

6.7. Metodologia

Complementari all'esame colturale del secreto vaginale è necessario eseguire i seguenti test:

6.7.1 Misura del pH dell'essudato vaginale:

Il pH vaginale va misurato prima dell'inserimento dello speculum, utilizzando cartine indicatrici (a range ristretto 4-7 ad alta sensibilità) o piaccametri monousi speciali per contatto con la parete laterale vaginale. È preferibile la determinazione lungo le pareti vaginali laterali perché al livello del fornice posteriore si possono verificare false alcalinizzazioni dovute alle secrezioni cervicali. Il pH normale vaginale è inferiore a 4.5.

6.7.2 Fishy odor test

Questo test si può eseguire dopo aver tolto lo speculum (preferibilmente usa e getta), sopra lo stesso. A tal fine si aggiunge una goccia di soluzione al 10% di KOH. La positività consiste nella

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

rilevazione olfattiva di un odore di pesce avariato , causato dalla trasformazione delle amine eventualmente presenti nell'essudato dallo stato di sali non volatili alla forma libera volatile.

Nel caso si voglia eseguire questo test in Laboratorio , si puo' usare il tampone per la ricerca diretta del trichomonas stemperato in 1 mL di soluzione fisiologica sterile. A una goccia del tampone cosi' stemperato , si aggiunge una goccia di KOH 10% direttamente su un vetrino.

6.7.3 Esame diretto batterioscopico

L'esame microscopico deve essere effettuato in laboratorio "a fresco" e previa colorazione di Gram. Per l'esame "fresco" ci si puo' avvalere della stessa provetta inviata per la ricerca del trichomonas e/o del "fishy odor test".

Per esperienza , l'esame microscopico "a fresco" è superiore a quello previa colorazione di Gram per individuare oltre al Trichomonas (praticamente invisibile con la colorazione di Gram) , i leucociti , i lieviti .

L'esame microscopico va fatto di routine anche quando non richiesto perché è la fotografia in tempo reale del microbiota vaginale.

Esso consente un valutazione dei seguenti parametri:

1) Flora lattobacillare

E' un indice di equilibrio dell'ecosistema vaginale , tranne forse nel caso della lattobacillosi vaginale. Sono bastoncelli Gram positivi ma possono assumere debolmente la colorazione o presentarsi con una colorazione bandeggiata. L'indicazione semiquantitativa della flora lattobacillare deve sempre essere effettuata (assente, scarsa +, discreta ++, abbondante +++). Spesso pero' capitano casi di "vaginosi citolitica" o "lattobacillosi vaginale" quando l'essudato è biancastro, schiumoso o caseoso con pH fra 3.5 e 4.5 e all'osservazione microscopica si evidenzia un aumento abnorme di lattobacilli, una paucità di PMN e una evidente citolisi che mette in mostra nuclei nudi delle cellule lisate. L'aspetto microscopico della vaginosi citolitica non deve essere confuso con un quadro abbastanza simile che si puo' presentare in preparati microscopici di essudati vaginali di donne in gravidanza.

2) Cellule epiteliali

La valutazione delle cellule epiteliali squamose non è necessaria. Notiamo che nell'età pediatrica e in donne in menopausa hanno una morfologia piu' tondeggiante.

3) "Clue cells"

La valutazione della presenza di "clue cells" caratterizzata da un abnorme presenza di batteri cocco bacillari Gram variabili adese alle cellule epiteliali squamose, in assenza di leucociti e lattobacilli è un quadro morfologico compatibile con la presenza preponderante di *Gardnerella vaginalis* e flora anaerobia.

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

4) Score

Si può determinare un campo detto “score” ricavato dal rapporto fra i diversi morfotipi (*Lactobacillus spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus spp.*, flora anaerobia) osservati al Gram secondo la seguente tabella:

Morfotipi batterici osservabili	0	1+	2+	3+	4+
<i>Lactobacillus spp.</i> (bastoncini Gram +)	4	3	2	1	0
<i>G. vaginalis/Bacteroides</i> (cocco bacilli Gram -/variabili)	0	1	2	3	4
<i>Mobiluncus spp.</i> (bastoncini ricurvi Gram - /variabili)	0	1	2	3	4

Punti: 0-3 Flora normale; 4-6 Dismicrobismo; 7-10 Vaginosi batterica. 0, 1+, 2+, 3+, 4 esprimono il numero di batteri visti al Gram con ingrandimento x100.

5) Lieviti

I lieviti del genere *Candida* sono presenti come cellule ovali, generalmente con una piccola gemma laterale. Sono Gram (+). Si presentano anche sotto forma di pseudoife cioè una serie di cellule allungate, con gemme laterali anche esse allungate. La grandezza delle cellule lievitiformenti è simile a quella di emazie quindi con diametro 3-4 volte quello dei batteri.

6) Trichomonas

Praticamente invisibile alla colorazione di Gram. Si vede meglio colorando il vetrino al Giemsa o con la colorazione di Papanicolaou.

6.8. Reagenti Utilizzati

6.8.1 Reagenti, concentrazioni

Per l'esame colturale dell'essudato vaginale di routine si usano i seguenti terreni:

AGAR SANGUE CNA:

Si usa come base il Muller Hinton o la base Columbia a cui si aggiunge il 5% di sangue defibrinato di montone (preferibilmente). Ha un colore rosso caratteristico. La sua abbondante base nutritiva offre condizioni ottimali di crescita. Il valore di pH di 6.8 è specialmente favorevole alla conservazione degli eritrociti e per la formazione di aloni di emolisi ben chiari. I lattobacilli vi crescono in maniera stentata specie in aerobiosi dando delle colonie alfa emolitiche.

AGAR MacCONKEY:

Agar selettivo per l'isolamento degli enterobatteri, dal nome del suo inventore MacConkey (1905). I sali biliari e il cristal violetto inibiscono la flora Gram (+). Il lattosio,

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

assieme all'indicatore di pH rosso neutro, serve per evidenziare la fermentazione di questo zucchero.

Composizione : petone di carne , peptone di caseina, NaCl, lattosio, miscela di sali biliari, rosso neutro, cristal violetto, agar.

Interpretazione: Colonie lattosio (-) sono incolori e le colonie lattosio (+) sono rosse, con un alone torbido, dovuto all'abbassamento di pH e precipitazione dei sali biliari.

AGAR SABOURAUD

Questo terreno è impiegato per l'isolamento dei lieviti .Gli antibiotici aggiunti ,generalmente CAF cloramfenicolo 5% e gentamicina 10% , servono il primo per aumentare la selettività del terreno verso le specie che possono essere resistenti alla Gentamicina (streptococchi, Proteus), il secondo inibisce la maggior parte dei batteri Gram + e Gram (-).La selettività del terreno è inoltre dovuta al suo pH acido (5.5) che inibisce parzialmente la crescita dei batteri, tranne quelli acidofili.

Composizione:Peptocomplex, Glucosio, agar.

Interpretazione:colonie bianche , cremose , ben evidenti già dopo incubazione overnight appartengono a Candida spp.

Altri terreni specifici:

AGAR GARDNERELLA

Ha una base Columbia con l'aggiunta di 10% di sangue defibrinato sterile umano e l'aggiunta del supplemento antibiotato costituito da gentamicina solfato, acido nalidixico e amfotericina B.G, *vaginalis* si presenta come colonie piccole , beta emolitiche, con uno stretto alone di emolisi solo con l'aggiunta del sangue umano, quando coltivate per 48 ore in atmosfera di CO₂ al 5%.

AGAR ROGOSA

E' un terreno selettivo per l'isolamento e il conteggio dei lattobacilli .

Composizione:Peptozimatic, Triptone, Estratto di lievito,glucosio, arabinosio,saccarosio, sodio acetato,ammonio citrato, potassio fosfato monobasico,magnesio solfato,manganese solfato, ferro solfato, agar.pH finale 5.4 .

Nella tabella riassumiamo i vari terreni in uso:

Terreno	Ricerca	Atmosfera di incubazione	T °C	Tempo
Sabouraud dextrose agar + gentamicina + CAF	Lieviti	aerobia	37°C	24 h

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore:Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

Mac Conkey agar	Enterobatteri	aerobia	37°C	24 h
Columbia CNA 5% sangue di montone	Streptococchi	5% CO2	37°C	24 h
Columbia 10 % sangue umano + gentamicina solfato + acido nalidixico + amfotericina B	Gardnerella Vaginalis	5% CO2	37°C	48 h
Rogosa Agar	Lactobacillus Spp.	5% CO2 anaerobiosi	- 37°C	48 h

-I tamponi vulvari eseguiti in età pediatrica devono sempre essere esaminati per la coltura dello *Streptococcus pyogenes* su Columbia CNA agar sangue e di *Haemophilus spp.* anche su Agar cioccolato che va incubato a 37°C per 24 ore in tensione di CO2 al 5%.

-Nel caso di *G. vaginalis*, la coltura serve unicamente come conferma dell'esame diretto a fresco o previa colorazione di Gram, ossia nei casi di interpretazione microscopica dubbia. La semina su agar Rogosa serve unicamente nel caso si voglia fare una quantificazione più accurata di *Lactobacillus spp.*

6.8.3 Magazzino e stabilità dei reagenti –

Se preparati in laboratorio, i mezzi di coltura devono essere tenuti in frigorifero (4-8 °C), avvolti in buste di plastica per evitare la rapida disidratazione. In questo modo, i terreni preparati in laboratorio hanno una validità di 14 giorni.

6.9. Procedimento dettagliato

ESAME COLTURALE:

L'esame colturale del secreto vaginale deve essere eseguito il più presto dal tampone inviato con il mezzo di trasporto.

Il tampone va stemperato in 1 mL di soluzione fisiologica, 100 uL (2 gocce) vanno seminati per spatolamento su tutta la superficie dei terreni colturali citati (obbligatoriamente i primi 3). La coltura di routine dei batteri anaerobi non deve essere eseguita. Deve essere segnalata la loro presenza unicamente evincendola dall'esame microscopico (presenza di *Mobiluncus spp.*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides spp.*) nell'ambito di una diagnosi di dismicrobismo del microbiota vaginale o di vaginosi batterica.

IDENTIFICAZIONE:

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

1) *Lactobacillus spp.*

Le colonie di lattobacilli, sono alfa emolitiche su agar sangue, crescono molto stentatamente su questo terreno. La speciazione dei lattobacilli ha esclusivamente valore di ricerca, così come la loro differenziazione fra specie H₂O₂ produttori e H₂O₂ non produttori.

2) *Gardnerella vaginalis*

La coltura e l'identificazione di *Gardnerella vaginalis* possono essere eseguite solo nel caso in cui vi siano dei dubbi interpretativi quando l'esame microscopico non è diagnostico.

Esso è agente di vaginite non specifica o vaginosi. La diagnosi di vaginosi o NSV si basa sui seguenti criteri:

- a) eccessivo secreto vaginale
- b) pH vaginale superiore a 4.5;
- c) epitelio vaginale coperto da numerosi bastoncini Gram (-) ("clue cells")
- d) odore "di pesce" dopo aggiunta al secreto vaginale di KOH al 10%.

L'identificazione si basa sulle caratteristiche morfologiche tintoriali (coccobacilli Gram (-), variabili), catalasi positive, sulla presenza di una beta emolisi (ben evidenziabile in 48 h su terreni addizionati di sangue umano ma non in quelle con sangue animale) e sullo studio di alcune caratteristiche biochimiche utilizzando il sistema NHI della Dade-Behring (panelli rapidi alle 4 ore).

I neutrofili non si osservano in queste secrezioni, suggerendo che non vi sia invasione del tessuto sottoepiteliale. Per questa ragione, la condizione è chiamata "vaginosi" e non "vaginite". La produzione di ammine libere e volatili avviene a pH alcalino. L'infezione da *G. vaginalis* è considerata una malattia a trasmissione sessuale poiché il microorganismo può essere recuperato in alte concentrazioni da partner maschili di donne che vanno incontro a reinfezione dopo trattamento.

3) *Candida spp.*

L'identificazione dei lieviti è consigliabile. Un semplice metodo da applicare di routine per speciare *Candida albicans* (specie di più frequente riscontro) è il "germ test tube" o test di filamentazione.

Germ test tube :

- 1) alcune colonie formatesi su Sabouraud agar vengono stemperate in una provetta contenente 1 mL di siero .
- 2) si incuba a 37 °C per 4 ore;
- 3) si procede all'allestimento di un vetrino a fresco che viene sottoposto all'osservazione microscopica;

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

4) la presenza di “germ-tube (piccoli filamenti che protrudono dalla superficie esterna della blastospora) consente la definizione di specie di *Candida albicans*.

Per l'identificazione di altre specie di lieviti è utilizzato da noi il metodo rapido con pannelli RY della dade Behring.

5) *Streptococcus agalactiae* (SGB)

Specie di frequente riscontro. Le colonie crescono su agar sangue presentando la tipica beta emolisi anche se alcuni stipiti sono eccezionalmente non emolitici. Per l'identificazione finale si può ricorrere ai pannelli alle 16 ore Combo 12 della Dade Behring o alla classica rivelazione degli antigeni polisaccaridici gruppo specifici (vedi anche POS sulla faringite streptococcica).

6) *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes sostiene assieme a *S. agalactiae* una gravissima seppur molto rara, setticemia neonatale che si manifesta nei primi giorni di vita in seguito all'infezione contratta durante la vita intrauterina o con il passaggio nel canale del parto. Il batterio si isola su agar sangue 5% di montone CNA usato di routine per la ricerca dello SGB. Esso però si sviluppa più lentamente degli streptococchi in aerobiosi o 5% di CO₂. Sono colonie piccole, traslucide con una piccola zona di beta emolisi. È un corto bastoncino Gram (+) catalasi (+). Ha una caratteristica mobilità a 25°C. I pannelli Dade Behring per i Gram positivi identificano molto bene la *Listeria*.

In casi eccezionali si può ricorrere all'arricchimento a freddo:

- una parte del materiale va mescolata con 9 parti di TSB (tripticase soy broth),
- incubare in frigorifero a 4°C fino a 2 mesi;
- si trapianta ogni settimana in agar CNA per controllare l'eventuale crescita.

7) *Trichomonas vaginalis*

Si identifica con l'esame microscopico a fresco e la coltura.

a) esame microscopico:

Il tampone vaginale va messo in provetta contenente 1 mL di soluzione fisiologica mantenuta a 37°C. Si allestisce il vetrino “a fresco” che va osservato subito perché la mobilità caratteristica del flagellato che unitamente alla morfologia risultano essere i caratteri specifici per la identificazione. Il classico quadro che fa sospettare la presenza del *Trichomonas* mostra molti leucociti, poche cellule epiteliali, scarsa flora lattobacillare.

b) esame colturale:

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

rappresenta il “gold standard” per sensibilità e specificità. L’essudato prelevato con il tampone deve essere stemperato al momento del prelievo in provette contenenti 5 mL di terreno CPLM *Trichomonas* broth con aggiunta di Streptomina (1000 gamma), Penicillina (1000 U/mL), Cloramfenicolo (50 gamma) e siero sterile di cavallo (50 mL/L) preriscaldato a 37° C.

L’incubazione va effettuata a 37° C per 5 giorni. Ogni giorno dal secondo al quinto viene allestito un preparato a fresco per l’osservazione microscopica della tipica morfologia.

Antibiogramma e antimicogramma

Si fa l’antibiogramma sull’isolato di *Streptococcus agalactiae* se isolato da donne in gravidanza nei casi di ipersensibilità nota delle pazienti ai beta lattamici.

L’anti micogramma viene consigliato solo eccezionalmente se si è in presenza di infezioni ricorrenti difficili da eradicare.

6.10. Calibrazione della metodologia

Non applicabile

6.11. Controllo di qualità interno

Settimanalmente sono inoculati campioni batterici con profili fenotipici conosciuti per verificare l’efficacia dei mezzi di coltura utilizzati.

6.12. Criteri per la validazione dei risultati

Supervisione tecnica del responsabile del settore

6.13. Interpretazione e Valori di Riferimento

Il materiale allo studio è per sua natura poli microbico. Se l’esame microscopico e colturale dimostrano la presenza di quadri morfotipici patognomonic (vaginosi batterica) o l’isolamento significativo di specie patogene (es. *Candida spp.*, *Trichomonas vaginalis*), la conclusione diagnostica è verificata.

Nel caso che a segni obiettivi di infiammazione e/o sintomatologia soggettiva denunciata dalla paziente, l’esame diretto e colturale evidenzia solo specie endogene, l’interpretazione del dato di laboratorio diventa critica.

Pertanto è gioco forza assumere la valutazione semi quantitativa comparata delle diverse specie batteriche. E’ importante valutare la carica batterica lattobacillare (tenendo conto del suo dinamismo nelle varie età della vita). L’assenza di lattobacilli è normale in pazienti pre pubere e in post menopausa senza terapia con estrogeni. La presenza di una numerosa flora lattobacillare è sicuramente indice di buon equilibrio del microbiota vaginale. Studi recenti mettono però in evidenza che esistono ceppi di lattobacilli non protettori H202 negativi.

Se i lattobacilli sono poco rappresentati, è possibile che questo stato favorisca lo sviluppo di altra flora endogena. Fra di essi la flora batterica anaerobia e *G. vaginalis*. Ma la sola

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

presenza di *G. vaginalis* , isolata da coltura , da sola non è indice di vaginosi batterica se non accompagnata dagli altri marcatori di cui si è detto.

Va , inoltre, ricordato che la presenza di alcuni batteri quali stafilococchi coagulasi negativi, enterococchi, enterobatteri a bassa carica non vanno presi in considerazione e pertanto non vanno segnalati a meno che nell'esame diretto del secreto vaginale si dimostra un evidente dismicrobismo testimoniato da una totale assenza di lattobacilli e da uno stato flogistico importante evidenziato dalla presenza di un elevato numero di leucociti. In particolare *S. aureus* , pur facendo parte della flora residente, deve essere segnalato anche se in coltura mista quando associato a ascessi labiali, ulcerazioni vaginali o in caso di toxic shock syndrome. Deve essere sempre valutata come significativa e pertanto refertata la presenza in alta carica di *S. aureus*, enterococchi ed Enterobatteriacee.

6.14. Linearità

Non applicabile

6.15. Limite di rilevazione

Non applicabile

6.16. Applicazione clinica

L'esame colturale del secreto vaginale in pratica serve a diagnosticare lo stato di portatore di *Streptococcus agalactiae* di gruppo B , l'isolamento e la carica di *Candida spp.*, l'isolamento in forte carica di *S. aureus*, enterococchi e enterobatteri. Non è applicato di routine per l'isolamento e la carica dei lattobacilli e per l'isolamento e la carica di *G. vaginalis*. Nel caso di vaginite , l'esame diretto a fresco o previa colorazione di Gram basta a fare diagnosi di vaginite da *Trichomonas* o da *Candida*. Anche il semplice esame diretto basta a fare diagnosi di vaginosi batterica quando si osservano grandi aggregati di bastoncelli Gram (-) sopra cellule epiteliali squamose ("clue cells") assieme a un pH > 4.5 del secreto vaginale e al test delle ammine .

6.17. Limitazione del metodo

Paziente sotto terapia con antibiotici, raccolta impropria del campione, terreni disidratati , temperatura di incubazione differente da 35-37°C.

6.18. Biosicurezza

Vedi POS sulla Bio sicurezza

6.19. Referenze bibliografiche

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.

Elaborazione	Verifica		Approvazione
Settore: Batteriologia Nome: Gianfranco Bruno Firma	Sezione: Nome: Firma.	Sezione: Nome: Firma.	Dirigente II liv.: Nome: Firma.