

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)08-0075-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.08.018



15种医院口腔抑菌制剂微生物限度检查方法的建立*

赵慧雯, 冯斌[△]

(军事口腔医学国家重点实验室·国家口腔疾病临床医学研究中心·陕西省口腔生物工程技术研究中心·中国人民解放军空军军医大学第三附属医院药剂科, 陕西 西安 710032)

摘要:目的 建立15种医院口腔抑菌制剂的微生物限度检查方法。方法 以醋酸氯己定口崩片、醋酸氯己定洗剂、复方替硝唑溶液、碘甘油、甲醛甲酚涂剂、硼酸甘油涂剂、人工唾液、脱敏糊剂、干髓糊剂、锌磷酸酯糊剂、牙周塞糊剂、甲硝唑膜、复方克林霉素膜、多聚甲醛新失活剂、多聚甲醛牙髓失活剂为样品(制剂1-15),按2020年版《中国药典(四部)》通则1105,1106,1107项下方法,采用平皿法、薄膜过滤法和培养基稀释法,对5种常见菌(金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌和黑曲霉)进行回收试验,并进行控制菌(金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和大肠埃希菌)检查方法适用性试验。结果 制剂1-5、9-11、14-15需氧菌总数检查均采用薄膜过滤法,其余制剂均采用平皿法;制剂1-3、6-8、12-13霉菌和酵母菌检查均采用平皿法,其余制剂均采用薄膜过滤法,试验组回收比均在0.5~2.0范围内;控制菌检查,制剂1-3、5、9-11、14-15均采用薄膜过滤法,其余制剂均采用培养基稀释法,试验组相应阳性菌均能正常检出。结论 所建立的方法适用于此15种医院口腔抑菌制剂的微生物限度检查。

关键词:微生物限度检查;口腔抑菌制剂;方法适用性试验;平皿法;薄膜过滤法;培养基稀释法

Establishment of Microbial Limit Test Methods for 15 Hospital Oral Antibacterial Preparations

ZHAO Huiwen, FENG Bin

(State Key Laboratory of Military Stomatology · National Clinical Research Center for Oral Diseases · Shaanxi Engineering Research Center for Dental Materials and Advanced Manufacture · Department of Pharmacy, The Third Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, China 710032)

Abstract: **Objective** To establish microbial limit test methods for 15 hospital oral antibacterial preparations. **Methods** With the Chlorhexidine Acetate Orally Disintegrating Tablets, Chlorhexidine Acetate Pigment, Compound Tinidazole Solution, Iodine Glycerol, Formaldehyde and Cresol Pigment, Boric Acid Glycerine Pigment, Artificial Saliva, Desensitizing Paste, Mummification Paste, Xinshefenquan Paste, Surgicalis Paste, Metronidazole Pellicles, Compound Clindamycin Membrane, New Paraformaldehyde Devitalizing Paste and Paraformaldehyde Dental Pulp Devitalizing Agent as the samples (preparations 1-15), the plating method, membrane filtration method and medium dilution method based on the general principles 1105, 1106 and 1107 of the *Chinese Pharmacopoeia* (2020 Edition, Volume IV) were used to perform the recovery test of five common bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*) and applicability test of control bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*). **Results** The aerobic bacterial count could be detected by the membrane filtration method for preparations 1-5, 9-11, 14-15, and that could be detected by the plating method for other preparations. The mold and yeast count could be detected by the plating method for preparations 1-3, 6-8, 12-13, and that could be detected by the membrane filtration method for other preparations. The recovery ratio of test bacteria was in the range of 0.5 to 2.0. The control bacteria could be detected by the membrane filtration method for preparations 1-3, 5, 9-11, 14-15, and that could be detected by the medium dilution method for other preparations. The corresponding positive bacteria in the test group could be detected normally. **Conclusion** The established method is suitable for microbial limit test of the above 15 hospital oral

*基金项目:中国人民解放军空军军医大学军事医学提升计划项目[2021JSTS08]。

第一作者:赵慧雯,女,硕士,主管药师,研究方向为药物分析,(电子信箱)zhaohw928@163.com。

[△]通信作者:冯斌,男,博士,主管药师,研究方向为口腔制剂研发,(电子信箱)kqyjkyx@163.com。

- 药业,2021,30(2):59-62.
- [16] 梁冬牛,陈峰,郑磊.固相萃取-超高效液相色谱法同时测定舒肝和胃丸中5种成分含量[J].中国药业,2021,30(3):53-56.
- [17] 张勇,侯玉,刘晓东,等.固相萃取净化-HPLC法快速测定复方丹参片中5个三萜皂苷类成分的含量[J].药物分析杂志,2022,42(3):510-517.
- [18] 王玮,尤晓惠,郑小敏,等.固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法测定香辛料中去甲乌药碱含量[J].中国药业,2022,31(22):60-64.
- [19] 陈树东,胡文军,孔祥词,等.固相萃取/超高效液相色谱-三重四极杆质谱法测定人参、人参叶与人参花中10种人参皂苷含量[J].分析测试学报,2021,40(9):1348-1354.
- (收稿日期:2023-05-19;修回日期:2023-08-20)

antibacterial preparations.

Key words: microbial limit test; oral antibacterial preparation; applicability test; plating method; membrane filtration method; medium dilution method

医院制剂是指医院制剂室按药品标准或协定处方制成的一类适应本院临床需要而市场未能供应的制剂,具有制备数量少、周期短、品种多、供应及时等优点^[1]。医院制剂应保证质量稳定,微生物是衡量制剂安全性的重要指标,故需建立科学可靠的微生物限度检查方法^[2]。口腔类制剂因临床主要用于抑菌消炎、控制感染、促进修复等,多含有抑菌成分,因此对该类制剂进行微生物限度检查时,应先消除自身的抑菌活性,以保证方法的适用性,从而真实准确地反映制剂被微生物污染的情况^[3]。本研究中基于2020年版《中国药典(四部)》通则1105,1106,1107项下要求,拟采用平皿法、薄膜过滤法和培养基稀释法对15种口腔抑菌制剂进行微生物限度适用性检查^[4],从而保障临床用药的质量可控和安全有效。现报道如下。

1 仪器、试药与菌株

1.1 仪器

LDZX-30KBS型压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂);XY500JC型电子天平(常州市幸运电子设备有限公司,精度为0.01 g);HFSafe-1800TE型生物安全柜(上海力申科学仪器有限公司);BSD-TX345型台式恒温振荡器(上海博讯实业有限公司);HH系列电热恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司);LRH-250F型生化培养箱,M250FI型霉菌培养箱(上海一恒科学仪器有限公司);VORTEX-5型涡旋混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);EX30系列生物显微镜(宁波舜宇仪器有限公司);PHS-4C+型酸度计(成都世纪方舟科技有限公司);API型微生物鉴定系统(法国Bio-Mérieux公司);HTY-602型集菌仪(杭州泰林生物技术有限公司)。

1.2 试药

醋酸氯己定口崩片(成分为醋酸氯己定等,批号为220908),醋酸氯己定洗剂(成分为醋酸氯己定等,批号为211008),复方替硝唑溶液(成分为替硝唑、醋酸氯己定等,批号为211014),碘甘油(成分为碘等,批号为210927),甲醛甲酚涂剂(成分为甲醛、甲酚等,批号为211013),硼酸甘油涂剂(成分为硼酸等,批号为220629),人工唾液(成分为氯化钠、羟苯乙酯等,批号为211021),脱敏糊剂(成分为多聚甲醛、乙醇等,批号为210919),干髓糊剂(成分为多聚甲醛等,批号为211010),锌麝酚醛糊剂(成分为氧化锌、麝香草酚等,批号为211006),牙周塞糊剂(成分为氧化锌、鞣酸等,批号为211007),甲硝唑膜(成分为甲硝唑等,批号为

210922),复方克林霉素膜(成分为克林霉素磷酸酯等,批号为211010),多聚甲醛新失活剂(成分为多聚甲醛、盐酸可卡因等,批号为211020),多聚甲醛牙髓失活剂(成分为多聚甲醛、盐酸可卡因等,批号为211005),分别为制剂1-15,均为空军军医大学第三附属医院的医院制剂;胰酪大豆胨琼脂及液体培养基(TSA,TSB,批号分别为2009032,2103015),沙氏葡萄糖琼脂及液体培养基(SDA,SDB,批号分别为2010302,2009202),麦康凯琼脂及液体培养基(批号分别为2008272,2008202),溴化十六烷基三甲铵琼脂培养基(USP,批号为2009212),甘露醇氯化钠琼脂培养基(MSA,批号为2003262),pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液(批号为2108202),均购自北京三药科技有限公司;0.9% 无菌氯化钠溶液(四川科伦药业股份有限公司,批号为M21030902C)。

1.3 菌株

金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* [CMCC (B) 26003],铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* [CMCC (B) 10104],枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* [CMCC (B) 63501],白色念珠菌 *Candida albicans* [CMCC (F) 98001],黑曲霉 *Aspergillus niger* [CMCC (F) 98003],大肠埃希菌 *Escherichia coli* [CMCC (F) 44102],均购自中国医学细菌保藏管理中心,试验菌株均为第2代。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

菌液:将金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌分别接种于TSB中,35℃培养24 h;将白色念珠菌接种于SDB中,25℃条件下培养3 d。均用0.9% 无菌氯化钠溶液(稀释液1)制成适宜浓度的菌悬液。将黑曲霉接种于SDA中,25℃条件下培养7 d,加入5 mL含0.05% 聚山梨酯80的0.9% 无菌氯化钠溶液,洗脱孢子,收集孢子悬液,并制成适宜浓度的孢子悬液。

供试品溶液:取样品10 g/10 mL/100 cm²,各2份,置250 mL玻璃瓶中,加入pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液(稀释液2)稀释至100 mL,45℃条件下恒温振荡15 min,制成1:10(m/V)的供试品溶液I。取10 mL,加稀释液2适量,混匀,分别制成1:20(m/V)、1:50(m/V)的供试品溶液II、III。

2.2 需氧菌总数、霉菌和酵母菌总数计数方法适用性试验

2.2.1 平皿法

试验组:取2.1项下供试品溶液9.9 mL,置无菌

表 1 需氧菌回收试验结果($n = 3$)

Tab. 1 Results of the recovery test of aerobic bacteria ($n = 3$)

药品名称	方法	金黄色葡萄球菌			铜绿假单胞菌			枯草芽孢杆菌			白色念珠菌			黑曲霉		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
醋酸氯己定口崩片	薄膜过滤法(3次)	1.0	1.1	0.9	0.9	0.9	1.0	0.9	1.0	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	1.0	1.0
醋酸氯己定洗剂	薄膜过滤法(3次)	1.0	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	1.0	0.9	1.0	1.0	0.9	1.0	1.0	1.0
复方替硝唑溶液	薄膜过滤法(3次)	1.0	0.9	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	1.0	0.9	1.0	1.0	0.9
碘甘油	薄膜过滤法(3次)	1.0	1.0	1.0	0.9	0.9	0.9	1.0	1.0	1.0	1.1	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9
甲醛甲酚涂剂	薄膜过滤法(3次)	0.6	0.5	0.6	0.8	0.8	0.7	1.0	0.9	0.9	1.0	0.9	1.0	0.9	1.0	0.9
硼酸甘油涂剂	平皿法[稀释1:10(m/V)]	0.8	0.7	0.8	1.0	1.0	0.9	0.9	0.9	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	0.8	0.8
人工唾液	平皿法[稀释1:10(m/V)]	1.0	0.9	1.0	0.9	0.9	0.9	1.1	1.0	1.0	1.0	1.1	1.0	0.9	1.0	0.9
脱敏糊剂	平皿法[稀释1:20(m/V)]	1.0	1.0	1.0	0.8	0.8	0.8	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
干髓糊剂	薄膜过滤法(8次)	0.7	0.6	0.7	1.0	1.0	1.0	1.0	1.1	1.0	1.0	0.9	1.0	0.9	1.0	1.0
锌麝酚醛糊剂	薄膜过滤法(5次)	0.7	0.6	0.7	0.9	0.8	0.9	1.1	1.0	1.0	0.8	0.9	0.9	0.9	0.9	1.0
牙周塞糊剂	薄膜过滤法(5次)	0.6	0.6	0.7	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	1.0	1.0	0.9	1.0
甲硝唑膜	平皿法[稀释1:50(m/V)]	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.8	0.8	0.8	1.0	0.9	0.9	1.0	1.1	0.9
复方克林霉素膜	平皿法[稀释1:20(m/V)]	0.9	0.9	0.8	1.0	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	1.0	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0
多聚甲醛新失活剂	薄膜过滤法(3次)	1.0	1.0	1.0	0.8	0.9	1.0	1.0	1.1	0.9	0.9	1.0	1.0	1.0	1.1	0.9
多聚甲醛牙髓失活剂	薄膜过滤法(5次)	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0	1.1	1.0	0.9	1.0	0.9	0.8	0.9	1.0	1.0	0.9

试管中,加入含菌量不大于 10 000 cfu / mL 的试验菌液 0.1 mL,混匀。分别取适量,注入 2 个平皿,各 1 mL。分别注 TSA(需氧菌计数)、SDA(霉菌和酵母菌计数)各 20 mL,温度均不超过 45 ℃。前者 35 ℃条件下倒置培养 2~3 d,后者 25 ℃条件下倒置培养 2~5 d。

供试品对照组:取 2.1 项下供试品溶液适量,以稀释液 2 替代菌液,同试验组方法操作。

菌液对照组:取稀释液 2 适量替代供试品溶液,加入试验菌,同试验组方法操作。

2.2.2 薄膜过滤法

试验组:取 2.1 项下供试品溶液 I 1 mL,加入含 100 mL 稀释液 2 的滤器中,滤过,用稀释液 2 冲洗滤膜 3~8 次,每次 100 mL,最后 1 次冲洗液中加入含菌量不大于 100 cfu 的试验菌液 1 mL,取出滤膜,贴于相应平板培养基,按规定条件倒置培养、计数。

供试品对照组:取 2.1 项下供试品溶液 I 适量,以稀释液 2 替代菌液,同试验组方法操作。

菌液对照组:取稀释液 2 适量替代供试品溶液,加入试验菌,同试验组方法操作。

2.2.3 回收比计算

菌株回收比(%)=(试验组菌落数-供试品对照组菌落数)/菌液对照组菌落数×100%。

2.2.4 验证试验

制剂 1-5、9-11、14-15 需氧菌总数检查均采用薄膜过滤法,其余制剂均采用平皿法;制剂 1-3、6-8、12-13 霉菌和酵母菌检查均采用平皿法,其余制剂均采用薄膜过滤法,试验菌回收比均在 0.5~2.0 范围

表 2 霉菌及酵母菌回收试验结果($n = 3$)

Tab. 2 Results of the recovery test of molds and yeasts ($n = 3$)

药品名称	方法	白色念珠菌			黑曲霉		
		1	2	3	1	2	3
醋酸氯己定口崩片	平皿法[稀释1:10(m/V)]	1.0	1.0	0.9	1.0	1.0	1.1
醋酸氯己定洗剂	平皿法[稀释1:10(m/V)]	0.9	0.9	1.0	0.9	1.1	0.9
复方替硝唑溶液	平皿法[稀释1:10(m/V)]	0.9	0.9	1.0	0.9	1.1	0.9
碘甘油	薄膜过滤法(3次)	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	1.0
甲醛甲酚涂剂	薄膜过滤法(3次)	0.9	0.9	0.9	0.9	1.0	1.0
硼酸甘油涂剂	平皿法[稀释1:10(m/V)]	1.0	1.0	1.1	0.8	0.8	0.9
人工唾液	平皿法[稀释1:10(m/V)]	0.9	1.0	0.9	1.1	1.0	1.0
脱敏糊剂	平皿法[稀释1:10(m/V)]	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
干髓糊剂	薄膜过滤法(3次)	0.9	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9
锌麝酚醛糊剂	薄膜过滤法(5次)	0.9	0.9	1.0	0.9	0.9	1.0
牙周塞糊剂	薄膜过滤法(5次)	0.9	1.0	0.9	1.1	1.1	0.9
甲硝唑膜	平皿法[稀释1:10(m/V)]	1.0	1.0	1.0	0.9	1.0	1.0
复方克林霉素膜	平皿法[稀释1:10(m/V)]	1.0	1.0	1.0	1.1	1.0	1.0
多聚甲醛新失活剂	薄膜过滤法(3次)	1.0	0.9	1.0	1.1	0.9	1.0
多聚甲醛牙髓失活剂	薄膜过滤法(3次)	0.9	1.1	1.0	1.0	1.1	0.9

内。详见表 1 和表 2(仅列出了最优检查方法)。

2.3 控制菌检查法适用性试验

2.3.1 金黄色葡萄球菌

培养基稀释法:取 2.1 项下供试品溶液 I 10 mL,加入不少于 100 mL 的 TSB 中,加入不大于 100 cfu 的相应试验菌液 1 mL,混匀,35 ℃条件下培养 18 h;取 TSB 划线接种于 MSA,35 ℃条件下培养 18 h,观察结果。以此作为试验组。

薄膜过滤法:取 2.1 项下供试品溶液 I 10 mL,加入含 100 mL 稀释液 2 的滤器中,滤过,用稀释液 2 冲洗滤膜 3~8 次,每次 100 mL,取出滤膜,接种至 100 mL TSB 中,同时加入不大于 100 cfu 的试验菌液 1 mL,35℃条件下培养 18 h。将上述培养物接种于 MSA,35℃条件下培养 18 h,观察结果。以此作为试验组。

2.3.2 铜绿假单胞菌

采用培养基稀释法和薄膜过滤法,按 2.3.1 项下方法操作,以 TSB 35℃条件下培养 18 h 后,将其划线接种于 USP,35℃条件下培养 18 h,观察结果。以此作为试验组。

2.3.3 大肠埃希菌

采用培养基稀释法和薄膜过滤法,按 2.3.1 项下方法操作,以 TSB 35℃条件下培养 18 h 后,取 1 mL 接种至 100 mL 麦康凯液体培养基中,42℃条件下培养 24 h,取培养物划线接种于麦康凯琼脂培养基上,35℃条件下培养 18 h,观察结果。以此作为试验组。

以上 3 种控制菌检查均另设阳性对照组(以稀释液 2 替代供试品溶液,加入试验菌,同试验组方法操作)、阴性对照组(以稀释液 2 替代供试品溶液,不加试验菌,同试验组方法操作)。

2.3.4 验证试验

控制菌检查,制剂 1-3、5、9-11、14-15 采用薄膜过滤法,其余采用培养基稀释法,试验组相应阳性菌均能正常检出。详见表 3(仅列出最优检查方法)。

3 讨论

常见的口腔疾病包括牙龈炎、牙周炎、牙髓炎、复发性口腔溃疡等,临床用药多采用局部治疗方式以消除口腔炎症,控制术后感染,故医院口腔制剂多含有抑菌成分。不同单位生产的制剂,即使所含主要成分相同,由于采用的制备工艺和辅料不同,制剂仍可能表现出不同的抑菌特性,故微生物限度检查方法应具有针对性和适用性^[1]。

本研究中建立了 15 种含抗菌药物及消毒防腐剂的医院口腔制剂的微生物限度检查方法。抗菌药物中替硝唑和甲硝唑均属硝咪唑类,能抑制细菌 DNA 的合成,从而干扰其生长、繁殖,对厌氧菌的活性较高^[5-6];克林霉素磷酸酯为克林霉素衍生物,主要通过作用于细菌核糖体的 50 S 亚基,从而抑制细菌合成蛋白质,对革兰阳性菌的抑制作用较强^[7],对于含上述成分的制剂可采用平皿法和培养基稀释法进行检查。消毒防腐剂中醋酸氯己定为季铵盐类阳离子表面活性剂,通过破坏细胞膜而产生抑制活性^[8];碘、氧化锌具有化学活性,可与细菌内的多种有机物发生氧化反应,从而把大部分细菌杀灭^[9-10];甲醛、甲酚、羟苯乙酯可使菌体蛋白变性从而发挥杀菌作用^[11-13];硼酸通过与氨基结合,鞣酸和麝香草酚通过与氢键或疏水键结合,从而使菌体蛋白变性,还可通过抑制细菌代谢所需酶的活性发挥抑菌作用^[14-16],上述成分组成复方制剂后抑菌作用更强,故需联合采用培养基稀释法、薄膜过滤法等方法进

表 3 控制菌检查法适用性试验结果

Tab.3 Results of applicability test of control bacteria detection

药品名称	金黄色葡萄球菌				铜绿假单胞菌				大肠埃希菌			
	方法	试验组	阴性对照组	阳性对照组	方法	试验组	阴性对照组	阳性对照组	方法	试验组	阴性对照组	阳性对照组
醋酸氯己定口崩片	薄膜过滤法(5次)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	薄膜过滤法(3次)	+	-	+
醋酸氯己定洗剂	薄膜过滤法(5次)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	薄膜过滤法(3次)	+	-	+
复方替硝唑溶液	薄膜过滤法(5次)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	薄膜过滤法(3次)	+	-	+
碘甘油	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+
甲酚甲酚涂剂	薄膜过滤法(3次)	+	-	+	薄膜过滤法(3次)	+	-	+	培养基稀释法(500 mL TSB)	+	-	+
硼酸甘油涂剂	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+
人工唾液	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+
脱敏糊剂	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+
干髓糊剂	薄膜过滤法(3次)	+	-	+	薄膜过滤法(3次)	+	-	+	薄膜过滤法(8次)	+	-	+
锌磷酸酯糊剂	薄膜过滤法(5次)	+	-	+	薄膜过滤法(3次)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+
牙周塞糊剂	薄膜过滤法(8次)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+
甲硝唑膜	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	培养基稀释法(300 mL TSB)	+	-	+
复方克林霉素膜	培养基稀释法(200 mL TSB)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+	培养基稀释法(100 mL TSB)	+	-	+
多聚甲醛新失活剂	薄膜过滤法(3次)	+	-	+	薄膜过滤法(3次)	+	-	+	薄膜过滤法(5次)	+	-	+
多聚甲醛牙髓失活剂	薄膜过滤法(5次)	+	-	+	薄膜过滤法(5次)	+	-	+	薄膜过滤法(5次)	+	-	+

注: + 表示检出, - 表示未检出。

Note: + indicates the corresponding bacteria are detected, while - indicates the above bacteria aren't detected.