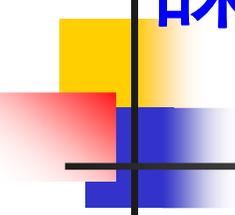


一般製劑之微生物限量試驗

永信藥品工業股份有限公司 品管處

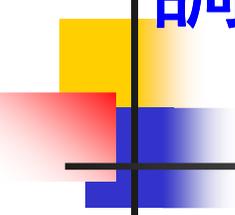
劉正斌

日期：2010 年 10 月 29 日



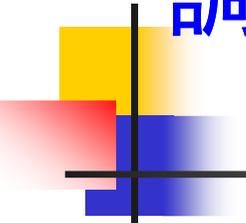
課程內容

- 非無菌產品：微生物計數
- 非無菌產品：特定微生物測試



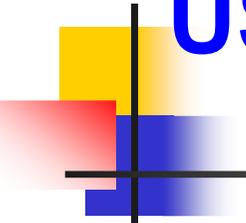
調和狀態

- USP – 新章節已公布 (*USP 29*，第二增補版)
- 生效日期：2009年 5月1日



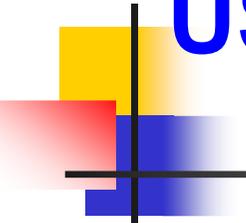
調和問題

- 目前出版的文件是第 4階段官方調查版本
USP – 新章節已公布 (USP 29，第二增補版)
- 目前藥典討論小組的調合過程完成簽署
(第5b階段) 生效日期： 2009年 5月1日
- 必須密切注意第 4階段文件



USP <61> 介紹

- 下述的測試方法用於需氧條件下生長的嗜溫細菌和真菌的定量計數。
- 該法主要為確定原料或製劑是否符合微生物品質規格所設計。使用該法時，應依循下述指示，包括取樣數量，並解釋結果。
- 該法不適用於以微生物為主成分的產品。
- 另類替代微生物程序，包括自動化方法，若經證明與藥典方法等效，也可以使用。



USP <61> 微生物限度檢查

- 不得檢出沙門氏菌和大腸桿菌，並且需氧微生物計數不得超過 100個/ml

USP <61> 微生物限度檢查

Dosage Form	TAMC cfu/g or mL	TCYMC cfu/g or mL	Absence of Specified Organism Requirement (1 g or mL)
Oral Solids	1000	100	<i>E. coli</i>
Oral liquids	100	10	<i>E. coli</i>
Rectal products	1000	100	-
Topical and nasal products	100	10	<i>S. aureus; P. aeruginosa</i>
Vaginal products	100	10	<i>S. aureus; P. aeruginosa; C. albicans</i>
Inhalants	100	10	<i>S. aureus; P. aeruginosa</i> <i>Bile-tolerant Gram-negative bacteria</i>

USP <61> 微生物限度檢查

劑型	TAMC cfu/g or mL	TC YMC cfu/g or mL	無特定微生物 (1 g or mL)
口服固體	1000	100	大腸桿菌
口服液體	100	10	大腸桿菌
直腸用藥	1000	100	-
外用及鼻腔用藥	100	10	金黃色葡萄球菌; 綠 膿桿菌
陰道用藥	100	10	金黃色葡萄球菌; 綠 膿桿菌; 白色念珠菌
吸入劑	100	10	金黃色葡萄球菌; 綠 膿桿菌; 耐膽鹽革蘭 氏陰性菌

USP <61> 微生物限度檢查

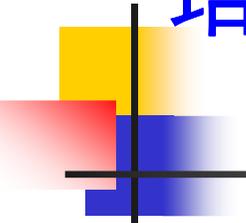
方法	USP <61>	調合後
方法 - 膜過濾法	未列出	有描述
方法 - 平板計數： 傾注平板法	未列出	有描述
方法 - 平板計數： 塗抹平板法	未列出	有描述
方法 - 最大可能性 數量法 (MPN)	有描述	有描述

USP <61> 微生物限度檢查

主題	USP <61>	調合後
培養基效能 - 大豆酪蛋白消化培養基用微生物	<ul style="list-style-type: none"> · 金黃色葡萄球菌 · 大腸桿菌 · 綠膿桿菌 · 沙門氏菌 	<ul style="list-style-type: none"> · 金黃色葡萄球菌 ATCC6538 (NCIMB 9518, CIP 4.83, NBRC13276) · 綠膿桿菌 ATCC 9027(NCIMB 8626, CIP82.118, NBRC 13275) · 枯草桿菌 ATCC 6633(NCIMB 8054, CIP5262, NBRC 3134)
培養基效能 - 薩氏葡萄糖培養基用的微生物	未提及	有描述
培養基效能 - 方法	未詳述	有描述
培養基無菌檢查	未詳述	有建議
計數方法適用性	有描述但非量化	可量化
方法 - 最大可能性數量法 (MPN)	有描述	有描述

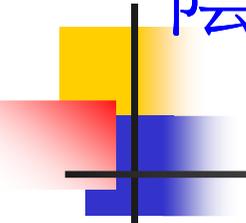
培養基效能試驗和計數方法的適用性

- 培養基效能:
 - 一般考量
 - 測試菌株製備
 - 緩衝液
 - 陰性對照
 - 培養基效能
- 計數方法適用性:
 - 樣品製備
 - 接種與稀釋
 - 中和/去除抗菌活性
 - 產品中微生物的回收
 - 結果與解釋



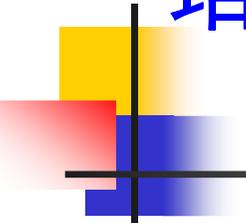
培養基效能一般考量

- 必須建立在產品存在的情況下，仍可檢出微生物的方法。
- 如果測試方法變更或產品變更而可能影響測試結果時，方法適用性必須再確認。



陰性對照

- 為確認測試條件，用選擇好的稀釋劑替代測試品為陰性對照，且不得有微生物生長。

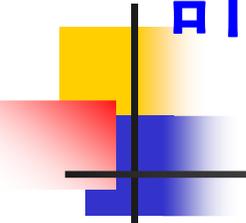


培養基效能: 緩衝液, 對照, 培養基

- 本章節包含了用於製備接種懸浮液及陰性對照所用的緩衝液，並且描述如何測試培養的生長促進能力。
- 為何必須證明培養基能支持微生物的生長呢？

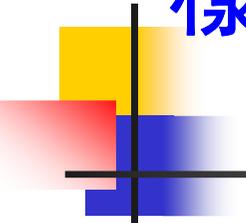
培養基效能

- 測試每批“可現用”培養基及每批從乾粉培養基製備或根據配方配製的培養基。
- 按表1在大豆酪蛋白水解培養基液或平板中加入少量（不超過100cfu）微生物，每個菌種使用的培養基分開。按表1在薩氏葡萄糖瓊脂平板上加入少量（不超過100cfu）微生物，每個菌種使用的培養基分開。按表1中的條件培養。
- 固体培養基，計數結果與標準接種物的計算數量差別小於系數 2。對新鮮製備的菌液，生長與前批已通過測試的培養基的前次測試結果一致。液体培養基，有明顯生長，並與前一批已通過測試的培養基的前次測試結果一致。



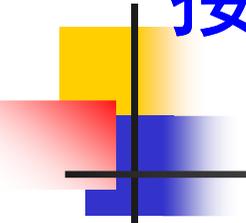
計數方法的適用性

- 本章節的段落描述計數法的適用性，包括討論樣品製備、接種、稀釋、中和抗菌活性、由產品回收細菌、結果和解釋。
- 為何稱之“適用性”，而非“確效”呢？



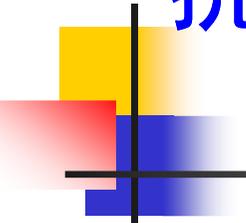
樣品製備

- 樣品製備方法須依據待檢產品的物理特性。如果下述程序均被證明不適用，則必須開發適合的替代方法。



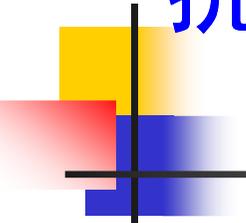
接種和稀釋

- 按上述方法製備的樣品及對照（不含測試樣品） 中加入適量的微生物懸浮液，取得不超過 100cfu 的接種物。



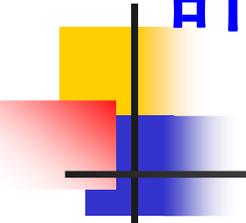
抗菌活性的中和/去除

- 產品存在的情況下，按接種與稀釋描述的稀釋樣品 經微生物回收率描述的培養得到的微生物數量與對照比較
- 如果生長被抑制（減少系數大於2），則必須修改程序，以保證測試的有效性。修改方式包括：
 - 增加稀釋液或培養基的量
 - 稀釋劑中加入中和劑
 - 濾膜過濾
 - 或上述方法的組合



抗菌活性的中和/去除

- 如果無法找到適用的中和方法，則可假設產品的殺菌性導致微生物的回收失敗。表示該產品不易受到特定微生物的污染。

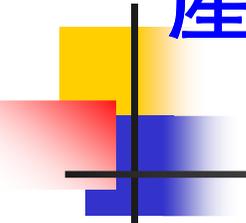


計數方法的適用性: 回收率方法

- 微生物回收率方法包括:
 - 膜過濾法
 - 平板法
 - 傾注平板法
 - 表面塗抹法
 - 最大可能數量法 (MPN)

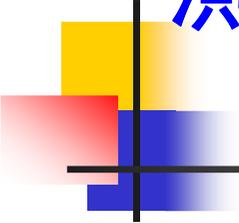
表 3. MPN 法微生物數據

每組中發現生長的試管數			MPN 每 g 或 ml 產品	95% 可信區間
每管中產品的 g 數或 ml 數				
0.1	0.01	0.001		
--	--	--	--	--
2	2	1	28	9–94



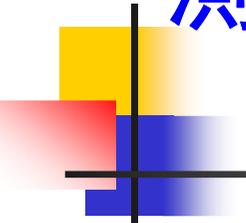
產品測試

- 使用經證明過適用性的方法：
 - 膜過濾法
 - 傾注平板法
 - 表面塗抹法
 - 最大可能數量法 (MPN)



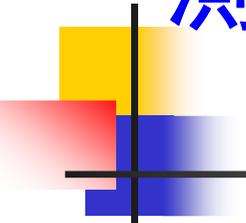
測試樣品數量

- 除非另有指示，使用 10 g 或 10 ml
- 噴霧劑：取 10 個容器
- 皮膚貼劑：取 10 片



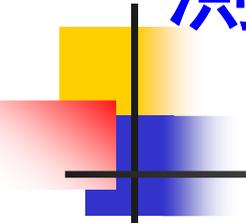
測試樣品數量 (活性物)

- 下列情況下，可減少測試數量：
 - 每劑量單位的數 ≤ 1 mg
 - 每 g 或每 mL (不以劑量單位表示的製劑) 小於 1mg
- 樣品數量不得少於 10 個劑量單位，或 10g 或 10ml 產品。



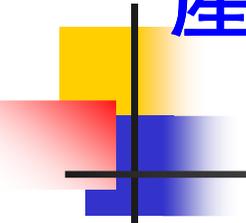
測試樣品數量 (活性物)

- 下列情況下，可減少測試數量：
 - 樣品數量有限或批量太小（例如，小於 1000 ml 或 1000 g）
- 樣品數量應為批量的 1%，除非被授權允許使用更少的用量。



測試樣品數量 (製劑)

- 批量小於200的成品:
 - 樣品量可降至2個單位，或1個單位（批量小於 100）



產品檢查

- 本段落詳細說明測試步驟:
 - 膜過濾法
 - 傾注平板法
 - 表面塗抹法
 - 最大可能數量法 (MPN)

結果和解釋

- 需氧微生物總數 TAMC = 大豆酪蛋白消化培養基上的所有菌落
- TAMC 有效菌落數 $\leq 250\text{cfu}$
- 黴菌酵母菌總數 TCYM = 薩氏葡萄糖培養基上所有菌落
- TYMC 有效菌落數 $\leq 50\text{cfu}$
- 如果預期TCYM超過標準，要考慮使用抗生素
- MPN 方法產生 TAMC結果

接受標準

101	cfu : 最大接受限度	=	20
102	cfu : 最大接受限度	=	200
103	cfu : 最大接受限度	=	2000

附件

1. **USP 生菌數檢驗歸納**
2. **培養基配製注意事項**
3. **微生物染色方法**
4. **Positive Control 使用對照菌種**
5. **試驗菌種保存方法**
6. **菌種名稱及代碼明細表**
7. **菌種移殖銷毀記錄表**

Microlimit Test

	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6
Total count * TAMC	1. 1ml(g)檢品以 9ml PH7.2 buffer sol.製1:10稀釋 2. 取1ml稀釋液至空plate上與20ml TSA 混合均勻--33°C/3天			觀察結果	X	
Mold/Yeast * TYMC	1. 1ml(g)檢品以 9ml PH7.2 buffer sol.製1:10稀釋 2. 取1ml稀釋液至空 plate上與20ml SDA 混合均勻--23°C/7天					
Salmonella spp. ATCC 6539	10ml(g)檢品至90ml Lactose Medium增菌--33°C/2天 * 10g檢品至100ml TSB--33°C/1天 (for 6539-14028) * 1g檢品至10ml TSB--33°C/1天 (for 8739)	取增菌1天 1ml 之 Lactose Medium至 9ml 之 T-TB ; S-CB--33°C/1天 * 取 0.1ml 稀釋液接種於 10ml RV Broth--33°C/1天	由T-TB畫線接種 於BGA , BSA , XLD上--33°C/2天 由S-CB畫線接種 於BGA , BSA , XLD上--33°C/2天 * 畫線接種於XLD上--33°C/2天	觀察結果(具有或不具有黑色中心且呈紅色則為疑似沙門氏菌) *生長在 XLD agar的菌落需要加以鑑定		
E.coli ATCC 10536	X		取增菌2天之 Lactose Medium畫線接種於EMB , MAC--33°C/2天 * 取1ml增菌液接種於100ml MacConkey Broth 42 °C/2天	* 畫線接種至MacConkey agar上33°C/3天 *生長在 MacConkey agar的菌落需要加以鑑定		
Staphylococcus aureus ATCC 6538			畫線接種於Mannitol Salt Agar上--33°C/2天	觀察結果		
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	10ml(g)檢品至90ml TSB增菌--33°C/2天 * 1g檢品至10ml TSB-33°C/1天			畫線接種於Cetrimide agar上--33°C/2天	觀察結果 *生長在Cetrimide agar的菌落需要加以鑑定: 1)Gram stain 2)Oxidase test 3)呈色試驗 -- (A)Pseudomonas agar P--- (B)Pseudomonas agar F	

調和後新增項目

C.albicans Clostridium spp. Bile-tolerant Gram-negative

C.albicans ATCC 10231	* 1g檢品至10ml SDB--33°C/3天	X		畫線接種於SDA上--33°C/2天	X		若生長的菌落呈現乳白色需進行鑑定---1)發芽管試驗 2)BD/Chromogenic agar for yeast 3)RapID Yeast plus
Clostridium spp. ATCC 11437 ATCC 19404	* 10g檢品至100ml TSB (A)50ml於80°C水浴中加熱10min , 快速冷卻後取10ml 加入 100ml RC (B)另一份50ml培養液中取10ml , 加入100ml RC (A)(B)同時厭氧培養33°C/2天	X		(A)(B)分別畫線接種於Columbia agar上 , 於厭氧及嗜氧下同時培養33°C/2天	* 觀察結果 1.RC Medium混濁 2.Columbia agar嗜氧不生長, 厭氧生長 3.Gram stan--G(+) 4.Catalase test--(-) 符合上述4項結果則為Clostridium		
Enterobacterial count ; Bile-tolerant Gram-negative	1g檢品至10ml TSB--25C/2-5hrs. 取1ml至 9ml EEB-33°C/2天	X		畫線接種於VRBGA上--33°C/1天	觀察結果 * 若細菌生長良好而呈現紅色菌落的G(-)桿菌將為腸內菌		

* 劃底線文字為USP32版更新內容

調和後新增項目 *C.albicans Clostridium spp. Bile-tolerant Gram-negative*

檢品量(除Salmonella spp.)減少為至少1g , 但仍為10倍稀釋後進行後續檢測 , 稀釋液皆為TSB

RV Broth(Rappaport Vassiliadis Broth)-Salmonella 偵測用

EEB (Enterobacteria Enrichment Broth Mossel)-Bile-tolerant Gram-negative 增殖用

VRBGA (Violet Red Bile Glucose Agar)-Bile-tolerant Gram-negative 偵測用

RC(Reinforced clostridium medium)-Clostridium spp. 偵測用

SDB(Sabouraud Dextrose Broth)--C.albicans 偵測用

注意事項

1. 若培養基有脫水現象(表面有裂紋或與培養皿之邊緣分離者)都必須丟棄。
2. 配製培養基分裝所含的量不宜太多或太少，尤其診斷用之培養基。Ex. “TSI” 分離用之平板培養基，量較多時較不影響細菌分離，量太少時培養易乾燥，儲存易脫水。
3. 培養基保存不良時。Ex. 水份減少，培養基內之指示劑或抑制劑(Ex. EMB) 濃度增加，會使致病菌檢測時，不生長或生長不良須注意！
4. 培養基之使用：先配製或先購買或效期短者優先使用。
5. 不定時檢視庫存量及消耗情形以免過期未使用，或缺貨出現。
6. 以煮沸法配製時，須注意培養基，因沸騰溢出影響分離或鑑定結果。
7. 培養基加熱時間太久會影響固化能力，使培養基過軟，不易劃種檢品。
8. 培養基 50°C 保存時，5hr 後培養基會軟化，最好分批配製。
9. 配製用器皿選擇：不會被腐蝕之不銹鋼、鋁、玻璃或塑膠製品。
10. 斜面培養基之高度低於瓶口 3cm 以上。
11. 新購入之培養基檢收。
12. 培養基冷藏後，回溫時間 30 分以上。
13. 配製培養基時，分裝用之培養皿、試管及其他器具須為無菌，並無菌操作，避免污染。
14. 培養基設定批號及制定使用期限。
15. 配製容量：不得有溢出(噴出)之疑。
16. 配製完成之培養基保溫時間需制定，時間勿過長。

微生物染色方法〈微生物診斷學〉

(1) Grams Stain〈革蘭氏染色〉

目的:細菌染色

鑑別染色需用經熱固定之抹片，且連續使用三種化學藥劑。最初試劑是謂初染劑(primary stain)，其目的使細菌著色。為形成顏色對比。第二試劑為脫色劑(decolorizing agent)，依細胞化學組成之不同，脫色劑可完全除去初染或僅除去部份細胞構造之顏色。最後試劑是謂複染劑(counterstain)，與初染呈對比顏色。脫色時若初染未洗去，則複染不能吸收，細胞與其組成將保留初染顏色。若初染脫色，則細胞組成即吸收複染之對比顏色。因此細胞之形成或其構造，可依保留之染色劑而鑑別之。用於細菌學上最重要之鑑別染色法是謂革蘭氏染色。此法乃微生物分類與鑑別之主要工具，可將細菌區分為兩大組，即革蘭氏陽性菌與革蘭氏陰性菌。

Procedure:

- ↓ 製作抹片(Smear):注意取自液體培養基需用自然乾燥,不可用火乾燥固定.
- ↓ Crystal Violet Sol.染色 1Min.水沖洗
- ↓ Add Iodine Sol.(媒染劑) 染色 1Min. 水沖洗
- ↓ 1:1 95% Alc.:Acetone 脫色 10 秒 or 無藍色(切勿過分脫色)
- ↓ 水沖洗
- ↓ Safranin Sol.複染 30~60 秒 水沖洗 Dry
- ↓ 1000x 油鏡(顯微鏡),觀察型態(球狀,桿狀,鏈狀)

Result:

陽性菌:藍色(Blue)

陰性菌:紅色(Red)

配製:

品名	成分	備註
Crystal violet Sol.	a.Crystal violet 20g + Ethanol 95% 100ml Mix b.Ammonium oxaiate 1g + 100ml H ₂ O Mix	使用前,取 a.10x 稀釋 + 4x 量 b. mix, 玻璃瓶保存
Iodine Sol.	Iodine 1g + KI 2g + H ₂ O 240ml + 5%NaHCO ₃ 60ml Mix	棕色玻璃瓶保存
Decolorizer(脫色液)	Ethanol 95% + Acetone = 1:1 Mix	玻璃瓶保存
Stock Safranin(複染劑)	Safranin O 2.5g + Ethanol 95% 100ml ,Mix	Stock Safranin 5x or 10x 稀釋

進行此實驗時，宜注意事項：

1. 染色時，脫色步驟可影響抹片之製備成敗與否。切記脫色過度會使初染流失，使革蘭氏陽性菌成革蘭氏陰性菌。但脫色不足，則不能完全除去 CV-I 複合物，結果是革蘭氏陰性菌成革蘭氏陽性菌。
2. 將玻片以蒸餾水充分輕洗，以除去剩餘之染液。
3. 宜使用未超過 24 小時之新鮮培養，製備抹片。因菌齡老化，尤以革蘭氏陽性菌易失去保留初染之能力，而顯示革蘭氏易變性(gram-variable)。此時，部份菌體呈紫色，部份呈紅色。

(2)Lactophenol Cotton Blue Stain < 乳酸酚棉蘭染色 >

目的:Mold(黴菌)&Yeast (酵母菌)染色

Procedure:

- ↓ Slide(玻片)加一滴染液
- ↓ 取少量菌和染液混合
- ↓ 蓋上蓋玻片
- ↓ 100x 顯微鏡 or 1000x(油鏡),觀察型態
(一般呈現藍色)

配製:

品名	Wt.(g)	備註
Phenol	20g	用 Water-Bath 緩慢加熱溶解
Lactic Acid	20g	
Glycerin	40g	
Distilled Water	20ml	

Growth Promotion Test (Positive Control) 使用之對照菌種

Test Item		對照菌種 (ATCC)	對照菌種 (Name)
Total aerobic count test		6633 10231	Bacillus subtilis Candida albicans
Total yeasts& molds test		10231	Candida albicans
E. coli test		8739	E.coli
Salmonella sp. test		6539 **14028(UPS32)	Salmonella choleraesuis Salmonella enterica subsp. Enterica (優先使用此菌種)
Staphylococcus aureus test		6538	Staphylococcus aureus
Pseudomonas aeruginosa test		9027	Pseudomonas aeruginosa
Sterility test	TGM	6633(or 6538) 10231 11437 9027(or 9341)	Bacillus subtilis Candida albicans Clostridium sporogenes Pseudomonas aeruginosa
	TSB(SCDM)	6633 10231 16404	Bacillus subtilis Candida albicans Aspergillus niger
環控	TSA(SC)	6633	Bacillus subtilis
		9027	Pseudomonas aeruginosa
		6538	Staphylococcus aureus
		10231	Candida albicans
		16404	Aspergillus niger

試驗菌種保存之方法：

1. 乾燥凍晶菌種(長期)：

*菌種到貨時,記錄到貨來源、到貨日期、到貨數量、編號等。

*乾燥凍晶菌 2-8°C 保存備用

菌種活化繼代簡易流程

菌株來源

BCRC 凍晶菌株

↓ 活化(ACTIVE)

復水 → culture medium with liquid meium & specific solid agar
→ Incubation,subculture 2 次 (active)

↓ identification

API System 合格標準: ID(鑑別值):90%T(典型值):0.8

↓ 保存

10%(or 45%) Glycerin -25°C store , 3 years

↓ subculture

移殖 5 代(five passages)、 更換新之甘油保存菌移殖，API System 鑑別/3M

↓ 銷毀

Autoclave 121°C 60 分

加生理食鹽水洗成菌液,分裝成數支,一次使用一支,用完即丟棄,使用期限為一星期,(斜面培養菌一星期移殖一次,做為繼代用,使用 5 代,即更換)。

7.鑑別頻率:三個月一次,視情況可增加。

※Bioassay 試驗用菌液:可參考力價試驗中之試驗菌液調製。

- ↓ 取上述移殖完成之菌種。
- ↓ 以生理食鹽水洗成懸浮液。
- ↓ 作成 Transmittance about 25%之菌液。
- ↓ 於 2~8°C 以下保存。
- ↓ 使用期限:一星期。

Growth Promoting test 試驗菌數:

1.使用期限:1week

2.Method:

- ↓ 試驗菌以 McFarland No.5 濁度液比對,調成約 7.5×10^8 cfu/ml 之菌液。
- ↓ 以 1:10 dilute 成 7.5×10^7 、 10^6 、 10^5 、 10^4 、 10^3 、 10^2
- ↓ 取 7.5×10^2 cfu/ml 0.1ml,三重覆,直接加培養基混合或以無菌 L 棒塗抹於培養上。

Bacteria:Nutrient Agar (N.A)

Fungi& yeast:Sabourand Dextrose Agar (SDA)

↓ Incubation Bacteria: 30~35°C ; 24~48hrs

Fungi: 20~25°C ; 48~72hrs (for ATCC 10231 ; ATCC 16404 5~7 天)

※ ATCC 10231 也可於 30~35°C 24-48hrs 培養

- ↓ Count cfu 取平均值
- ↓ 依計算之平均菌數,
- 將試驗菌液調製成 750cfu/ml±10% (675~825cfu/ml)

注意:

- ※ 1. mold 類之試驗菌(ex: ATCC 16404 Aspergillus niger)則以調成 T%約 25-30%之菌液,執行菌數計算,計算時取 0.1ml 操作三重覆,最終再換算成 1ml 相當於 750cfu/ml±10%
- 2. McFarland No.5 濁度液配製:
 - ↓ 1% H₂SO₄ 9.5ml + 1% BaCl₂ 0.5ml
 - ↓ mix
 - 有效期限: 6M

菌種名稱及代碼明細表

ATCC	BCRC	安全等級	菌種名稱	備註
6633	10447	1	<i>Bacillus subtilis</i> 枯草桿菌	G(+) 菌 產孢菌
12228	11030	1	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 白色葡萄球菌	G(+) 菌
6538-p	10451	2	<i>Staphylococcus aureus</i> 金黃色葡萄球菌	G(+) 菌
6538	12154	2	<i>Staphylococcus aureus</i> 金黃色葡萄球菌	G(+) 菌
9341	10449	1	<i>Micrococcus luteus</i> 微球菌	G(+) 菌
10240	10452	1	<i>Micrococcus luteus</i> 微球菌	G(+) 菌
10536	10450	1	<i>E. coli</i> 大腸桿菌	G(-) 菌
25619	10734	2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 綠膿桿菌	G(-) 菌
6539	10746	2	<i>Salmonella choleraesuis</i> 沙門氏豬霍亂桿菌	G(-) 菌
10031	11546	2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 克雷白氏肺炎菌	G(-) 短桿菌
4617	11548	2	<i>Bordetella bronchiseptica</i> 支氣管敗血桿菌	G(-) 菌
9027	11633	2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 綠膿桿菌	G(-) 菌
8739	11634	1	<i>E. coli</i> 大腸桿菌	G(-) 菌
NCTC10490	12030	2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 綠膿桿菌	G(-) 菌
10231	21538	2	<i>Candida albicans</i> 白色念珠菌	Fungi 黴菌
9763	20822	1	<i>Saccharicoccus cerevisial</i> 類酵母菌	Fungi 黴菌
16404	30506	1	<i>Aspergillus niger</i> 黑麴菌	Mold 黴菌
13311	*****	2	<i>Salmonella typhimurin</i> 鼠傷寒桿菌	G(-) 菌
7953	*****	****	<i>Bacillus stearothermophilus</i> 嗜熱桿菌	G(+) 菌
**14028	10747	2	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Enterica</i> 腸炎沙門氏菌	G(-) 菌
11437	*****	****	<i>Clostridium sporogenes</i> 產芽孢梭菌	G(+) 厭氧 產孢菌

菌種移殖銷毀記錄表

日期	1	2	3	4	5	6	#7	#8	#9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	記錄者	銷毀方法	銷毀時間	銷毀者
ATCC	6633	12228	6538p	9341	10536	25619	9763	10231	16404	6539	10031	10240	4617	9027	8739	6538	NCTC 10490	14028	21100				
BCRC	10447	11030	10451	10449	10450	10734	20822	21538	30506	10746	11546	10452	11548	11633	11634	12154	12030	10747	12855				
MARK	# 表示黴菌 * 表示新凍晶菌活化移殖(需標示購入之原始批號)													主管									