ICS 71.100.70

中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX/ISO 4973:2023

化妆品 微生物学 化妆品标准中使用的培养基和稀释剂的质量控制

Cosmetics — Microbiology — Quality control of culture media and diluents used in cosmetics standards

（ISO 4973:2023，IDT）

（征求意见稿）

（本草案完成时间：2026-08-26）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布　　XXXX - XX - XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会　发布

目　　次

前言 …… III
1　范围 …… 1
2　规范性引用文件 …… 1
3　术语和定义 …… 1
4　原则 …… 2
5　稀释液、中和剂和培养基 …… 3
6　仪器和玻璃器皿 …… 4
7　微生物菌株 …… 4
8　程序 …… 4
9　结果表述 …… 9
10　结果解释和验收标准 …… 9
附录A（规范性）　培养基促生长、抑制及指示特性规范 …… 11
附录B（资料性）　培养基质量控制报告 …… 13
参考文献 …… 16

前　　言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件等同采用ISO 4973：2023《化妆品 微生物学 化妆品标准中使用的培养基和稀释剂的质量控制》。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国香料香精化妆品标准化技术委员会（SAC/TC 257）归口。

本文件起草单位：珀莱雅化妆品股份有限公司、上海香料研究所有限公司、浙江省食品药品检验研究院、杭州海关技术中心。

本文件主要起草人：孙淑蓉、马临科、廖峰、孙培文、洪灯、康薇、李珏、刘婷。

化妆品 微生物学 化妆品标准中使用的培养基和稀释剂的质量控制

1 范围

本文件规定了微生物培养基和稀释液质量控制的最低要求，以证明其检测微生物的能力，并确保ISO化妆品微生物学标准中所述微生物检测方法的可靠性。

本文件主要描述促生长试验和微生物控制试验，适用于商业即用型培养基，以及实验室中由脱水培养基或基础成分制备的培养基。

若能证明等效性，其他方法可替代使用。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T ****-****化妆品 微生物学 微生物检验总论(ISO 21148:2017，IDT)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 培养基 culture medium

根据配方制备的液体或固体混合物，用于支持微生物在特定条件下生长。

注1：根据配方中营养物质和化学物质的不同，存在适用于培养不同类型微生物的多种培养基类型。

3.1.1 培养基批次 batch of culture medium

培养基完整的可追溯单位，是指在特定的生产周期生产，符合生产质量要求的一定数量的产品，这些产品批号相同。

3.1.2 即用型培养基 ready-to-use culture medium

以即用型形式提供的、盛装于平板、试管或其他容器中的已灭菌液体培养基（3.1.3）或固体培养基（3.1.4）。

3.1.3 液体培养基 liquid culture medium

由一种或多种成分（如蛋白胨或营养肉汤）的水溶液组成的培养基（3.1）。

注1：试管、烧瓶或瓶装的液体培养基通常称为“肉汤”。

注2：增菌培养基通常为液体培养基，其成分可为微生物生长繁殖提供有利条件。

3.1.4 固体培养基 solid culture medium

含有不同浓度凝固物质（如琼脂、明胶）的培养基（3.1）。

3.1.5 选择培养基 selective culture medium

允许特定微生物生长，同时部分或完全抑制待测产品中可能存在的非目标微生物生长的液体培养基（3.1.3）或固体培养基（3.1.4）。

注：若为固体培养基，其可能具有指示特性，能够指示特征性菌落的生长。

3.2 稀释液 diluent

用于从固体培养基（3.1.4）中分离微生物和/或通过稀释降低其浓度，且在接触期间不引起微生物增殖或受抑制的溶液。

注：稀释液可含有中和剂，使产品失去抗菌特性。

3.3 测试菌株 strain

用于培养基（3.1）质量控制的测试微生物。

3.3.1 标准菌株 reference strain

由标准菌种保藏中心提供的测试微生物。

3.3.2 标准储备菌株 reference stock culture stored reference strain

用标准菌株（3.3.1）在实验室转接一代后得到的一套完全相同的独立菌株。

注：标准储备菌株可通过种子批系统（如一次性小瓶或微珠）进行储存，以在实验室中保存标准菌株。

3.3.3 储备菌株 stock culture

从标准储备菌株（3.3.2）转接一代获得的独立菌株。

3.3.4 工作菌株 working culture

从标准储备菌株（3.3.2）或储备菌株（3.3.3）转接一代获得的直接用于测试使用的菌株。通常以斜面或平板形式保存，用于制备校准微生物悬液。

3.3.5 传代培养 subculture

继代，将活体培养物转移至新鲜培养基并使其生长的过程。

注：任何形式的培养均视为一次继代/转接。

4 原则

4.1 概述

培养基的质量控制涉及以下不同参数：

——pH 值；

——无菌性检查；

——促生长能力；

——选择性和指示特性（适用时）。

这些是确保和控制培养基质量的关键参数。

但还应特别注意：

——制造商的说明；

——制备条件（体积、称量、配制用水水质）；

——灭菌条件（循环时间、温度、压力、包装）；

——储存条件（温度、时长）。

若未能遵守这些说明和条件，可能会影响到制造商指南中规定的外观和功能特性，如颜色、凝胶稠度、澄清度和均匀性。

注：关于灭菌条件及/或其他条件，见 ISO 21148 和 ISO 11133。

实验室应确保其自身制备过程的准确性。

4.2 pH 值

pH 值是所有培养基的重要物理参数。当实验室使用脱水培养基或基础成分制备培养基时，高压灭菌后应达到目标 pH 值。

4.3 无菌性检查

该测试的目的是检查培养基不含任何可能干扰微生物检测结果的微生物污染。

4.4 促生长能力

本试验的目的是确保微生物在培养基上的生长能力。

注：促生长能力也称为培养基的“生产能力”。

4.5 选择性和指示特性

本试验的目的是验证培养基允许目标微生物生长的能力及/或在培养时间和温度范围内确认其菌落形态。

本试验的目的是确保预期受抑制的微生物不生长。

5 稀释液、中和剂和培养基

5.1 概述

适用于微生物计数和检测的稀释液、中和剂和培养基见 ISO 11930、ISO 16212、ISO 18415、ISO 18416、ISO 21149、ISO 21150、ISO 21322、ISO 22717 和 ISO 22718。其他稀释液、中和剂和培养基若经证明适用，也可使用。

本文件中提及“水”时，应符合 ISO 21148 中对水的要求。

5.2 稀释液和中和剂

稀释液可用于制备和稀释校准微生物悬液，以及分散样品。在此情况下，若待测样品具有抗菌特性或含有防腐剂，则稀释液需包含中和剂。稀释液及中和剂见 ISO 11930、ISO 16212、ISO 18415、ISO 18416、ISO 21149、ISO 21150、ISO 21322、ISO 22717 和 ISO 22718。

5.3 培养基

用于微生物计数和/或检测的培养基见 ISO 11930、ISO 16212、ISO 18415、ISO 18416、ISO 21149、ISO 21150、ISO 21322、ISO 22717 和 ISO 22718。

培养基可使用脱水培养基，按特定标准说明或培养基制造商提供的说明制备。

符合本文件规定标准的商业预制即用型液体或固体培养基也可使用。

6 仪器和玻璃器皿

实验室设备、仪器和玻璃器皿见 ISO 21148。

7 微生物菌株

应根据标准菌株供应商提供的程序复苏培养物。菌株可按 EN 12353 描述的方法或其他合适方法储存。

促生长试验使用以下菌株，待检培养基与试验微生物的对应关系见附录 A。

——铜绿假单胞菌 ATCC 9027（等效菌株：CIP 82.118、NCIMB 8626、NBRC 13275、KCTC 2513、WDCM 00026 或其他等效国家保藏菌株）；

——金黄色葡萄球菌 ATCC 6538 （等效菌株：CIP 4.83、NCIMB 9518、NBRC 13276、KCTC 1916、NCTC 10788、WDCM 00032 或其他等效国家保藏菌株）；

——大肠埃希氏菌 ATCC 8739（等效菌株：CIP 53.126、NCIMB 8545、NBRC 3972、KCTC 2571、NCTC 12923、WDCM 00012 或其他等效国家保藏菌株）；

——白色念珠菌 ATCC 10231（等效菌株：IP 48.72、NCPF 3179、NBRC 1594、KCTC 7965、WDCM 00054 或其他等效国家保藏菌株）；

——巴西曲霉 ATCC 16404（等效菌株：IP 1431、IMI 149007、NBRC 9455、KCTC 6196、WDCM 00053 或其他等效国家保藏菌株）。

必要时，可使用其他相关菌株或实验室内部分离株补充本条提及的菌株。

8 程序

8.1 通用建议

实验室使用脱水培养基或基础成分制备培养基时，应遵循 ISO 21148 中的通用说明，并核查供应商的质量规格证书以确保其符合技术规范。

对于商业即用型培养基，应核查供应商的质量规格证书以确保其符合技术规范。

建议对每个批次的培养基进行以下测试：

1）pH 值：实验室使用脱水培养基或基础成分制备的培养基，pH 值应按照 ISO 21148 的规定进行测量。

2）无菌性检查：为确认培养基不存在微生物污染，需将部分培养基在规定时间和温度下培养。

3）促生长试验：进行促生长试验时，需将已知数量的微生物接种至部分培养基。

在规定时间和温度下培养后：

——对于固体培养基，计数菌落并与理论接种量和/或参比培养基进行比较。

——对于液体培养基，可观察到明显可见的生长现象（浑浊、颗粒、絮凝等），并与阴性对照（未接种培养基）和/或先前核准的接种批次对照进行比较。

每批次培养基检测，一次仅接种一种微生物。

推荐的试验微生物列于表 A.1。也可从培养基制造商的建议中选择，或包括具有代表性的环境分离株。

4）选择性和指示特性测试

除促生长特性外，可通过接种目标和非目标微生物进行定性分析以评估选择性特性，应观察到目标微生物生长而非目标微生物不生长。

在规定时间和温度下培养后，通过目标微生物的菌落形态来评估指示特性。

8.2 菌株制备

8.2.1 概述

商业来源的测试菌株可用于培养基性能的微生物质控。

试验用微生物详见附录 A。

进行试验时，使用实验室储存的菌株制备储备菌株和工作菌株。

工作菌株是通过将储备菌株划线接种于斜面试管或平板获得的融合培养物。培养后，根据微生物种类，工作菌株可在 2° C～8° C 保存至多两个月。

储备菌株的的制备和使用可以根据实验室情况自行决定。

工作菌株在需要进行试验时制备，用于获得已知微生物含量的校准菌悬液（接种物）。

应使用传代 5 代以内的菌株用于培养基验收。

制备储备菌株和工作菌株适用同样的生长条件（琼脂培养基、温度和培养时间，见 8.2.2 和 8.2.3）。

测试微生物的制备应符合图 1 的流程规范。

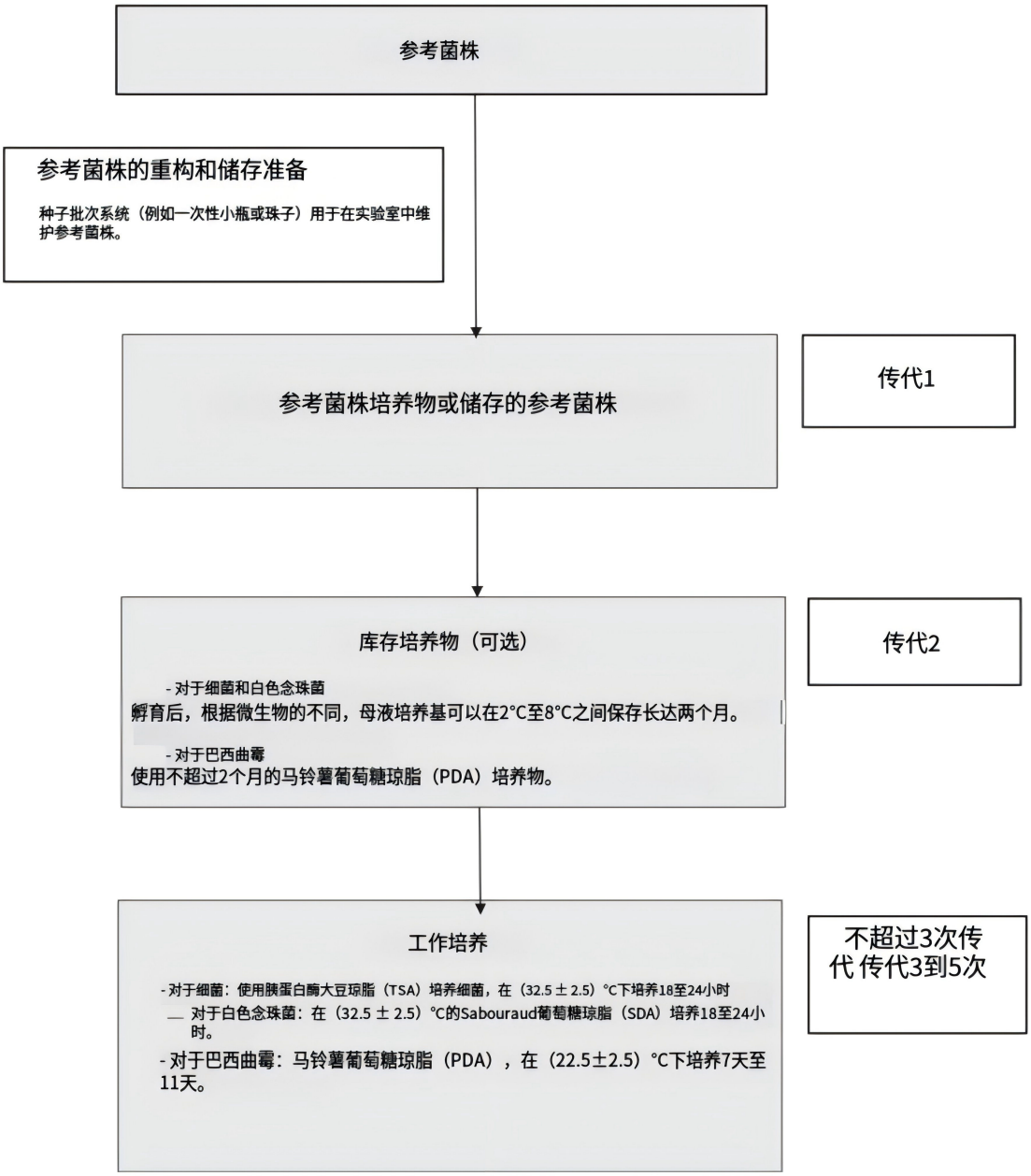

图 1 试验微生物制备对应流程图

注 1：有限的连续传代次数以及使用新鲜培养物（而非分离菌落）可降低菌株敏感性改变的风险。生长条件和接种物制备的标准化可提高试验的可重复性。

注 2：使用多剂量容器储存菌株时（例如，从冷冻柜中取出含有多个磁珠的容器取用一个磁珠后，再将容器放回冷冻柜），可能会观察到菌株敏感性因反复热激而发生变化。

注 3：可根据标准菌株保藏中心的建议使用其他培养基。

注 4：经校准的商业制备即用型菌株可用于培养基性能的微生物质控。

8.2.2 细菌和白色念珠菌悬液的制备

为制备试验微生物的工作菌株，需用储备菌株进行传代培养，将其涂布于斜面试管或平板上培养生长[细菌使用胰酪大豆胨琼脂（TSA），白色念珠菌使用沙氏葡萄糖琼脂（SDA）]。

在 32.5℃±2.5℃下培养 18h～24h。

可从第一代开始以相同方式制备第二代传代培养物，并在 32.5℃±2.5℃下培养 18h～24h。可从第二代开始以相同方式培养第三代传代培养物。第二代和第三代（若进行）构成工作菌株。若无法及时进行第二代传代培养，第一代传代培养物可在 32.5℃±2.5℃的培养箱中保存至多 48h，用于制备第二代传代培养物。在此情况下，制备培养第三代传代培养物 18h～24h 并用于试验。

取 10 mL 细菌或酵母菌悬液用稀释液置于合适的无菌容器中。从琼脂培养基上刮取一接种环的菌体转移至稀释液中；用接种环蘸取少量稀释液在容器壁上摩擦，使菌体脱落并悬浮于稀释液中。

注：可在合适的无菌容器中加入 5 g 无菌玻璃珠。

手动或机械振荡容器，最长振荡 3 min，使悬液均匀。吸取悬液上层部分（避免接触玻璃珠），并将获得的悬液转移至无菌容器中。

使用细菌和酵母菌悬液用稀释液，根据实验室生成的校准数据（例如使用分光光度计，参见 ISO 21148:2017 附录 C），将细菌和白色念珠菌悬液中的细胞数调整至约 1×10^3 CFU/mL。

此校准悬液需在 2h 内使用，若储存于 2℃～8℃，可在 24h 内使用。

8.2.3 巴西曲霉孢子储备悬液的制备

为获得测试微生物的工作菌株，使用在马铃薯葡萄糖琼脂（PDA）上保存不超过 2 个月的菌株培养物，并在制备巴西曲霉孢子悬液用的稀释液中制备悬液。通过将悬液覆盖鲁氏烧瓶（或适当数量的培养皿）中的 PDA 表面进行接种，以获得融合培养物。在 22.5℃±2.5℃下培养 7 天～11 天。

培养后，吸取 10 mL 聚山梨醇酯溶液至 PDA 表面。轻柔地使孢子从培养物表面脱离，也可使用刮铲或玻璃珠。

将悬液转移至合适的烧瓶中，加入玻璃珠轻轻搅拌约 1 min。使用孔径为 40 μm～100 μm 过滤器过滤孢子悬液。

使用放大 400 倍的显微镜检查孢子悬液是否存在出芽孢子或菌丝碎片。

——若存在出芽孢子，该悬液应丢弃。

——若十个视野中超过一个视野内存在菌丝，则该悬液应丢弃。然而，也可将过滤后的悬液在离心力 2000 g 的条件下离心 20 min。将孢子重新悬浮于聚山梨醇酯溶液中并至少离心清洗两次，然后进行显微镜检查（放大 400 倍）清洗/离心的效果。

使用适宜的稀释液，将孢子悬液中的孢子数调整至约 1×10^3 个/mL。

可以使用细胞计数装置（如血细胞计数板）调整孢子数。若使用合适的细胞计数装置，需严格按照说明操作。

该悬液应在制备当天使用，若储存于 2℃～8℃，可在次日使用。对于更长的储存期，稳定的孢子悬液可在 2℃～8℃下保存经验证的一段时间（无出芽孢子）。

8.2.4 校准菌悬液浓度的控制

检查校准菌悬液的初始浓度。

——用适当的稀释液对校准菌悬液进行 10 倍梯度稀释。

——根据所使用的方法（倾注平板法或表面涂布法），确定 8.2 中制备的校准菌悬液的稀释倍数。

——取 1ml 校准菌悬液，做适当的稀释，每个稀释度两块平板：

细菌接种于胰酪大豆胨琼脂（TSA），白色念珠菌接种于沙氏葡萄糖琼脂（SDA），培养皿于32.5℃±2.5℃培养24h～48h；

巴西曲霉接种于SDA，培养皿于22.5℃±2.5℃培养3～5天。

8.3 无菌性检查

8.3.1 固体培养基

取部分培养基，在与测试菌株相同的时间、温度下培养，且培养时间为最长培养时长。

8.3.2 液体培养基和稀释液

取部分培养基和/或稀释液，在与测试菌株相同的时间、温度下培养，且培养时间为最长培养时长。

8.4 生长促进试验

8.4.1 固体培养基

可使用两种方法：倾注平板法或表面涂布法。

倾注平板法：接种体积为1 mL浓度为10^2 CFU/mL的测试菌株菌悬液。

——表面涂布法：接种体积为100 μL浓度为10^3 CFU/mL的测试菌株菌悬液。

注：也可采用过滤法。

对于每种测试菌株，根据所使用的方法（倾注平板法或表面涂布法），无菌操作将相应体积（1 mL 或100 μL）的校准菌悬液平行接种（一式两份），使接种至每部分培养基中的菌落数不超过100CFU。

按附录A中规定的时间和温度条件下培养。

8.4.2 液体培养基

对于每种测试菌株，无菌操作将相应体积的校准菌悬液转移至试管或瓶中，使每部分培养基中菌落数不超过100 CFU。

按附录A中规定的时间和温度条件下培养，并通过肉眼观察培养基是否有生长迹象。

对于变色和/或浑浊的液体培养基，可以通过倾注平板法或表面涂布法，将培养物转接到固体培养基上进行培养。

8.5 选择性特性

8.5.1 固体培养基——指示特性

按照附录A推荐的适用微生物，采用无菌操作，将8.2中制备的校准菌悬液按相应体积（采用倾注平板法或表面涂布法时）转移至两份平行的培养基中或培养基表面，使用涂布器将接种物分散并均匀分布于整个琼脂平板，确保每份培养基中的接种量不超过100 CFU。

按照附录A中规定的条件，在适宜的时间和温度条件下进行培养。

8.5.2 固体培养基——抑制特性

按照附录 A 推荐的适用微生物，采用无菌操作，将 8.2 中制备的校准菌悬液按相应体积（采用倾注平板法或表面涂布法时）转移至两份平行的培养基中或培养基表面，使用涂布器将接种物分散并均匀分布于整个琼脂平板，确保每份培养基中的接种量至少为 100 CFU。

按照附录 A 中规定的条件，在适宜的时间和温度条件下进行培养。

9 结果表述

9.1 无菌性检查

9.1.1 固体培养基

记录有无菌落生长。

9.1.2 液体培养基

记录液体培养基中是否有肉眼可见的生长。

对于变色和/或浑浊的液体培养基，记录转接到固体培养基后是否有菌落生长。

9.2 促生长能力

9.2.1 固体培养基

计算新批次培养基的两个培养皿上菌落数的平均值。

9.2.2 液体培养基

记录液体培养基中是否有肉眼可见的生长。

对于变色和/或浑浊的液体培养基，记录转接到固体培养基后是否有菌落生长。

9.3 选择性和指示特性

9.3.1 固体培养基 —— 指示特性

记录新批次培养基的培养皿上的菌落特征。

9.3.2 固体培养基 —— 抑制特性

记录有无菌落生长。

10 结果解释和验收标准

10.1 概述

建议将培养基质控结果记录在报告中，培养基质量控制报告示例见附录 B。

10.2 无菌性检查

部分培养基在与测试菌株相同温度和培养时间下培养，培养后应无生长，新批次培养基方可验收。

10.3 促生长能力

10.3.1 固体培养基

新批次培养基需满足以下针对每种测试菌株的验收标准：

——微生物定性检测试验中，琼脂平板上应有生长。

——微生物计数试验中，新批次培养基平板的菌落数平均值与初始微生物菌悬液的菌落数平均值差异不得超过 2 倍（即介于 50%～200%之间），见表 1。

注：该系数用于考虑方法的变异性，即结果可为接种量的一半或两倍。例如，接种量为 100 CFU 时，可接受的计数值介于 100/2 = 50 CFU～100×2 = 200 CFU 之间。

表 1 培养基质量控制报告示例

促生长能力	
微生物及试验条件	
菌株：	金黄色葡萄球菌
培养时间：	48 h
温度：	（32.5±2.5）℃
涉及培养基：	胰酪大豆胨琼脂（TSA）
接种量：	100
预期结果：	50<CFU 数 < 200
CFU 计数结果：	74
是否合格：	是

10.3.2 促生长能力——液体培养基

新批次培养基验收批准时，每一种测试菌株的液体培养基中应可观察到生长现象。

对于变色和/或浑浊的液体培养基，转接到固体培养基上应出现生长现象。

10.4 固体培养基的选择性特性

10.4.1 指示特性

验收新批次培养基时，对于每种测试菌株，需满足以下验收标准：

——选择性琼脂平板上应出现微生物生长。

——为证明培养基的指示性能，按照附录 A，将平板上的菌落与初始悬液中计数的菌落进行目视对比，菌落特征应相似。

10.4.2 抑制特性

新批次培养基验收时，非目标测试微生物应无生长。

附 录 A
（规范性）
培养基促生长、抑制及指示特性规范

表 A.1～A.4 给出了培养基促生长、抑制及指示特性规范内容。

表 A.1 计数培养基

培养基	国际标准	微生物	特性	培养温度	培养时间[a]
Eugon LT 琼脂培养基	ISO 21149	金黄色葡萄球菌 大肠埃希氏菌 铜绿假单胞菌	促生长	（32.5±2.5）℃	≤48 h
马铃薯葡萄糖琼脂（PDA）	ISO 11930	巴西曲霉	促生长	（22.5±2.5）℃	≤3 天
沙氏葡萄糖琼脂培养基（SDA）	ISO 11930	白色念珠菌	促生长	（32.5±2.5）℃	≤48 h
沙氏葡萄糖琼脂培养基（SDA）	ISO 16212	白色念珠菌	促生长	（22.5±2.5）℃	≤5 天
	ISO 21322	白色念珠菌	促生长	（22.5±2.5）℃	≤5 天
含氯霉素的沙氏葡萄糖琼脂（SDCA）	ISO16212	白色念珠菌	促生长	（25±2.5）℃	≤3 天
	ISO 21322	白色念珠菌	促生长	（25±2.5）℃	≤3 天
胰酪大豆胨琼脂（TSA）或大豆酪蛋白消化琼脂培养基（SCDA）	ISO 21149	金黄色葡萄球菌 大肠埃希氏菌 铜绿假单胞菌白色念珠菌	促生长	（32.5±2.5）℃	≤66 h
[a] 对于促生长试验，指定温度下的培养时间为相关化妆品国际标准中规定的最短时间。					

表 A.2 增菌液体培养基

培养基	国际标准	微生物	特性	培养温度	培养时间[a]
Eugon LT100、改良 Eugon LT 及其他增菌肉汤	ISO 18415	金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌	促生长	（32.5±2.5）℃	≤20 h
[a] 对于促生长试验，指定温度下的培养时间为相关化妆品国际标准中规定的最短时间。					

表 A.3 选择性培养基

培养基	国际标准	微生物	特性	培养温度	培养时间[a]
血琼脂平板（Baird Parker）	ISO 22718	金黄色葡萄球菌	促生长	（32.5±2.5）℃	≤24 h
			指示性（黑色、有光泽的菌落，周围有 2 mm～5 mm 直径的透明圈 ）	（32.5±2.5）℃	24 h - 48 h
		大肠埃希氏菌	抑制	（32.5±2.5）℃	≥48 h

表 A.3 选择性培养基 （续）

溴棕三甲铵琼脂（Cetrimide Agar）	ISO 22717	铜绿假单胞菌	促生长	（32.5±2.5）℃	≤24 h
			指示性（产生黄绿色色素（绿脓菌素），在紫外光下会发荧光 ）	（32.5±2.5）℃	24 h - 48 h
		大肠埃希氏菌	抑制	（32.5±2.5）℃	≥48 h
麦康凯琼脂（MacConkey）	ISO 21150	大肠埃希氏菌	促生长	（32.5±2.5）℃	≤24 h
			指示性（砖红色；可能有沉淀的胆汁环 ）	（32.5±2.5）℃	24 h - 48 h
		金黄色葡萄球菌	抑制	（32.5±2.5）℃	≥48 h
含氯霉素的沙氏葡萄糖琼脂（SDCA）	ISO 18416	白色念珠菌	促生长	（32.5±2.5）℃	≤24 h
			指示性（白色至米色，呈乳脂状且凸起 ）	（32.5±2.5）℃	24 h - 48 h
		大肠埃希氏菌	抑制	（32.5±2.5）℃	≥48 h

[a] 对于促生长试验，指定温度下的培养时间为相关化妆品国际标准中规定的最短时间。 对于指示特性试验，指定温度下的培养时间为相关化妆品国际标准中规定的中等时间。 对于抑制特性试验，指定温度下的培养时间为相关化妆品国际标准中规定的最长时间。

表 A.4 确证培养基

培养基	国际标准	微生物	特性	培养温度	培养时间[a]
含 1% 聚山梨醇酯-80 的玉米粉琼脂	ISO 18416	白色念珠菌	促生长	（32.5±2.5）℃	≤3 天
			指示性（大的、高折光性、厚壁的厚垣孢子 ）	（32.5±2.5）℃	≤3 天
莱文伊红美蓝琼脂培养基	ISO 21150	大肠埃希氏菌	促生长	（32.5±2.5）℃	≤24 h
			指示性（反射光下呈金属光泽，透射光下呈蓝黑色 ）	（32.5±2.5）℃	24 h - 48 h
铜绿假单胞菌 P 琼脂	ISO 22717	铜绿假单胞菌	促生长	（32.5±2.5）℃	≤24 h
			指示性（因产生绿脓菌素形成蓝绿色晕圈，或因产生绿脓红素形成红至深棕色晕圈 ）	（32.5±2.5）℃	24 h - 72 h

[a] 对于促生长试验，指定温度下的培养时间为相关化妆品国际标准中规定的最短时间。 对于指示特性试验，指定温度下的培养时间为相关化妆品国际标准中规定的中等时间。 对于抑制特性试验，指定温度下的培养时间为相关化妆品国际标准中规定的最长时间。

附　录　B
（资料性）
培养基质量控制报告

表 B.1　化妆品微生物学标准用培养基质量控制报告示例

制造商说明及制备条件	
培养基名称：	
制备体积：	
制备日期：	
内部批号：	
脱水培养基：	
供应商代码：	
供应商说明：	
重量：	
批号：	
补充成分：	
供应商代码：	
供应商说明：	
重量：	
批号：	
含水量：	
重量/体积：	
工艺细节：	

表 B.2

灭菌条件及储存	
循环时间：	
温度：	
包装形式：	
储存条件：	

表 B.3

pH 值	
预期值：	
测量值：	
是否合格：	是□　否　□
日期：	

表 B.4

无菌性检查	
预期结果：	无菌性检查
是否合格：	是 □ 否 □
日期：	
签名：	

表 B.5

促生长能力	
微生物及试验条件	
菌株：	
培养时间：	
温度：	
参考培养基：	
接种量：	
预期结果：	CFU 数<100 且在 2 倍系数范围内
CFU 计数结果：	
是否合格：YES □ NO □	是 □ 否 □
日期：	
签名：	

表 B.6

指示特性	
微生物及试验条件	
菌株：	
培养时间：	
温度：	
参考培养基：	
接种量：	
预期结果（外观）：	
结果（外观）：	
是否合格：	是 □ 否 □
日期：	
签名：	

表 B.7

抑制特性	
微生物及试验条件	
菌株：	

表 B.7 （续）

培养时间：	
温度：	
参考培养基：	
接种量：	
预期结果：	非目标微生物无生长
结果（外观）：	
是否合格：	是□ 否 □
日期：	
签名：	

参 考 文 献

[1] [1] ISO 11133 《食品、动物饲料和水的微生物学——培养基的制备、生产、储存和性能测试》

[2] [2] ISO 11930 《化妆品 — 微生物学 — 化妆品产品抗菌保护评估》

[3] [3] ISO 16212 《化妆品 — 微生物学 — 酵母菌和霉菌计数》

[4] [4] ISO 17516 《化妆品 — 微生物学 — 微生物限度》

[5] [5] ISO 18415 《化妆品 — 微生物学 — 特定和非特定微生物的检测》

[6] [6] ISO 18416 《化妆品 — 微生物学 — 白色念珠菌的检测》

[7] [7] ISO 21149 《化妆品 — 微生物学 — 需氧嗜温菌的计数和检测》

[8] [8] ISO 21150 《化妆品 — 微生物学 — 大肠埃希氏菌的检测》

[9] [9] ISO 21322 《化妆品 — 微生物学 — 浸渍或涂层湿巾和面膜的测试》

[10] [10] ISO 22717《化妆品 — 微生物学 — 铜绿假单胞菌的检测》

[11] [11] ISO 22718《化妆品 — 微生物学 — 金黄色葡萄球菌的检测》

[12] [12] ISO 29621《化妆品 — 微生物学 —微生物低风险产品的风险评估和识别指南》

[13] [13] EN 12353《化学消毒剂和防腐剂 — 用于测定杀菌（包括军团菌）、分枝杆菌、孢子、真菌和病毒（包括噬菌体）活性的试验生物的保存》

[14] [14] 《日本药典》第 18 版（JP18）

[15] [15] 《美国药典》USP 44 NF 39

[16] [16] 《欧洲药典》第 11 版