

T/YHPACIA

云南省健康产品和化妆品行业协会团体标准

T/YHPACIA 0—0000

牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品中 微生物快速检测方法 实时荧光光电法

Rapid detection of microorganisms in toothpaste, cosmetics and detergent
raw materials and products real-time optical sensing with electronic records method

(征求意见稿)

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。

20XX—XX—XX 发布

202X—XX—XX 实施

云南省健康产品和化妆品行业协会 发布

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。

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。

本文件由云南省健康产品和化妆品行业协会提出并归口。

本文件起草单位：云南白药集团健康产品有限公司、云南省食品药品监督检验研究院、上海美凯纯生物科技有限公司、云南天正检测技术有限公司、云南天创科技有限公司、云南玉溪万方天然药物有限公司、三樱包装（江苏）有限公司、广州市瑞高包装工业有限公司、云南英格生物技术有限公司、山东天力药业有限公司、东明俱进化工有限公司、中山市联昌喷雾泵有限公司、安徽山河药用辅料股份有限公司、天津北方食品有限公司、金三江（肇庆）硅材料股份有限公司、广东美捷时控股股份有限公司。

本文件主要起草人：李海军、王静、贾绍强、杨丽娟、郭莉、刘燕、琚童霞、张艳、宋文斌、闵莎位、彭志刚、陈永萍、黄闰、曾云恒、刘磊、徐子博、王早、王建哲、肖娜、莫恒进、王闪、姜毅、史立兵、郑洁仪。

牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品中 微生物快速检测方法 实时荧光光电法

1 范围

本文件规定了牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品中微生物快速检测方法实时荧光光电法的技术要求、检验方法、检验规则。

本文件适用于牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品中菌落总数、霉菌和酵母菌数、耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌的检测。

本方法的检出限1CFU/g（或/mL）。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 27405 实验室质量控制规范 食品微生物检测

GB 19489 实验室 生物安全通用要求化妆品安全技术规范

《化妆品安全技术规范》

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

目标微生物在检测管培养基中的生长和测定可通过感光试剂进行检测（色彩和荧光染色）。当代谢过程发生时，该试剂的光谱模式发生改变，光传感器检测到这些变化，以预先设定好的时间间隔进行监控。检测管分为孵育区和检测区，检测区内置半透明的固态CO₂传感器，只有气体可以渗透进入底部的传感器，而液体、微生物和颗粒状物质都不能透过。微生物释放出来的CO₂渗透进入传感器内，与传感器内的染色剂发生化学反应。在无菌的检测管内暗色的传感器逐渐变为黄色，表明有CO₂产生和微生物生长代谢发生，因而报告微生物检测的结果。限定值检测法：实时多温区微生物快速荧光光电检测系统能够检测检测管中一个活的细菌或者霉菌和酵母菌，基于此原理，将样品按放行的限量稀释后接种到检

测管中,根据检测管的阳性变化来判断原始样品是否合格的检测方法称为限定值检测法,该法是一种半定量方法,菌落总数、霉菌和酵母菌数采用此法。定性检测法:对于要求包括致病菌在内的一些微生物不得检出的样品,需要进行定性检测,即先将样品在适合的培养基中进行增菌,然后将增菌后的样液接种到特异性的检测管中,根据检测管是否呈阳性变化来判断样品中是否存在有目标微生物,耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌采用此法。

5 仪器设备

- 5.1 实时多温区微生物快速荧光光电检测系统:需具备 2-8 个温区可自动控温培养,三光谱光源自动扫描光密度,使用耐高温的二氧化碳传感器。
- 5.2 电子天平:感量 0.01 g。
- 5.3 恒温水浴锅。
- 5.4 二级生物安全柜。
- 5.5 三角瓶 250mL、150mL、30mL。
- 5.6 玻璃珠。
- 5.7 高压灭菌锅。
- 5.8 普通冰箱。
- 5.9 pH 计。
- 5.10 恒温培养箱: $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。
- 5.11 恒温培养箱: $44.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。

6 培养基和试剂

- 6.1 菌落总数检测管(商品化即用型增菌培养基)。
- 6.2 霉菌酵母菌检测管(商品化即用型增菌培养基)。
- 6.3 耐热大肠菌群检测管(商品化即用型增菌培养基)。
- 6.4 铜绿假单胞菌检测管(商品化即用型增菌培养基)。
- 6.5 金黄色葡萄球菌检测管(商品化即用型增菌培养基)。
- 6.6 灭菌生理盐水:见附录 A 中 A.1。
- 6.7 灭菌中和生理盐水(含卵磷脂 10g/L、吐温 80 50g/L):见附录 A 中 A.2。
- 6.8 卵磷脂。
- 6.9 吐温 80。
- 6.10 SCDLP 液体培养基:见附录 A 中 A.3。
- 6.11 乳糖胆盐培养基:见附录 A 中 A.4。
- 6.12 铜绿假单胞菌阳性确认套件:氧化酶试纸、钠氏试剂、空检测管。

6.13 兔血浆。

7 样品检液的制备

牙膏原料使用 SCDLP 液体培养基作为稀释剂,化妆品和洗涤用品原料使用灭菌生理盐水作为稀释剂,牙膏、化妆品和洗涤用品产品使用灭菌中和生理盐水(含卵磷脂 10g/L、吐温 80 50g/L)作为稀释剂,按照《化妆品安全技术规范》第五章微生物检验方法规定的供试样品制备方法,制成 1:10 的检液,对于抑菌性较强的产品,可通过增加卵磷脂和吐温 80 添加量或使用其他适宜中和剂等方法,消除产品的抑菌性;牙膏、化妆品和洗涤用品内包材取供试品 10 支(个),加入 100mL 灭菌生理盐水清洗内壁,倒出使成 1:10 的检液。

8 试验步骤

8.1 菌落总数限定值检测法试验步骤

8.1.1 上机检测

取1:10的检液根据样品限量值做进一步稀释,取稀释的检液1mL 加入到菌落总数检测管内,将检测管拧紧混匀,放入检测仪,设置温度36℃,在软件对应的孔位输入样品信息后开始检测;运行时间设定为20小时。

8.1.2 限量值结果判读

按照限量稀释,在机器运行过程出现DT(检测时间),则表明样品中的菌落总数大于限量值;仪器未检出(无DT),则表明样品中菌落总数小于限量值。

8.2 霉菌和酵母菌数限定值检测法试验步骤

8.2.1 上机检测

取1:10的检液根据样品限量值做进一步稀释,取稀释的检液1mL 加入到霉菌和酵母菌检测管内,将检测管拧紧混匀,放入检测仪,设置温度28℃,在软件对应的孔位输入样品信息后开始检测;运行时间设定为48小时。

8.2.2 限量值结果判读

按照限量稀释,在机器运行过程出现DT(检测时间),则表明样品中的霉菌和酵母菌数大于限量值;仪器未检出(无DT),则表明样品中霉菌和酵母菌数小于限量值。

8.3 耐热大肠菌群有和无定性试验步骤

8.3.1 增菌

取10mL1:10的检液加入到90mL乳糖胆盐培养基中,将稀释液于44.5℃±0.5℃培养箱中培养18-24h。

8.3.2 上机检测

取增菌后的样液1mL加入到耐热大肠菌群检测管，将检测管拧紧混匀，放入检测仪，设置温度45℃，在软件对应的孔位输入样品信息后开始检测。

8.3.3 结果报告

运行时间设定为20小时，机器运行过程中，如果出现DT（检测时间），则样品报告为阳性；仪器未检出（无DT），则报告为耐热大肠菌群阴性。

8.4 铜绿假单胞菌有和无定性试验步骤

8.4.1 增菌

取1:10的检液10mL加入到90mL的SCDLP液体培养基中，于36℃±1℃培养箱中培养18-24h。

8.4.2 上机检测

取增菌后的样液0.1 mL加入到铜绿假单胞菌检测管，将检测管拧紧混匀，放入检测仪，设置温度36℃，在软件对应的孔位输入样品信息后开始检测。

8.4.3 结果报告

运行时间设定为20小时，机器运行过程中，如果出现DT检测时间，则进行阳性确认试验；仪器未检出（无DT），则报告为阴性。阳性确认实验：氧化酶试验：用细玻璃棒或一次性吸管从检测管中取少量菌液，涂在氧化酶试纸上，在30s内变为蓝色或蓝紫色则氧化酶试验阳性，不变色则样品报告为阴性。如果氧化酶试验阳性，则继续产氨试验：取检测管中的液体约2mL加入到任一试管中，滴入1-2滴钠氏试剂，生成砖红色沉淀为产氨试验阳性，未变色则样品报告为阴性。如果产氨试验阳性，继续荧光确认实验：取一支空检测管（不带传感器），加入1mL纯净水，放入仪器，点击光测试软件上对应孔位的荧光测试按钮，瞬间得到第一个荧光值，然后从已经检测阳性的铜绿检测管中吸取样液2mL，加入到测试完荧光的1mL 纯净水的检测管里，轻摇一下，立即放入刚才同一个孔位，再次点击光测试软件上对应孔位的荧光测试按钮，瞬间得到第二个荧光值。第二个荧光值比第一个荧光值的差大于500，证明仪器检测阳性的检测管中确有铜绿假单胞菌，样品报告为铜绿假单胞菌阳性，否则样品报告为阴性。

8.5 金黄色葡萄球菌有和无定性试验步骤

8.5.1 增菌

取1:10的检液10mL加入到90mL的SCDLP液体培养基中，于36℃±1℃培养箱中培养18-24h。

8.5.2 上机检测

取增菌后的样液0.5mL加入到金黄色葡萄球菌检测管，将检测管拧紧混匀，放入检测仪，设置温度36℃，在软件对应的孔位输入样品信息后开始检测。

8.5.3 结果报告

运行时间设定为20小时，机器运行过程中，如果出现DT检测时间，则进行阳性确认试验；仪器未检出（无DT），则报告为阴性。阳性确认实验：取0.2mL检测为阳性的检测管中的样品到0.5mL的兔血浆中，在 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 孵育6小时，每30min观察一次，血浆有凝固现象则报告金黄色葡萄球菌阳性；如果血浆仍为液体，则报告为阴性。

8.6 实时多温区微生物快速荧光光电检测系统参数设置

检测项目	温度	运行时间	忽略值	灵敏度	分辨率
菌落总数	36℃	20h	30	5	1
霉菌和酵母菌数	28℃	48h	80	5	2
耐热大肠菌群	45℃	20h	30	5	1
铜绿假单胞菌	36℃	20h	30	8	1
金黄色葡萄球菌	36℃	20h	30	8	1

附 录 A
(规范性)
培养基成分及制法

A. 1 灭菌生理盐水

A. 1.1 成分

氯化钠	8.5 g
蒸馏水加至	1000 mL

A. 1.2 制法

溶解后，分装到加玻璃珠的三角瓶内，每瓶90mL，121℃高压灭菌20min。

A. 2 灭菌中和生理盐水

A. 2.1 成分

氯化钠	8.5 g
卵磷脂	10 g
吐温80	50 g
蒸馏水加至	1000 mL

A. 2.2 制法

先将卵磷脂、吐温80溶解到少量热的蒸馏水中，搅拌至完全溶解。再加入到溶解完全的生理盐水中混匀，加水至1000mL，分装到加玻璃珠的三角瓶内，每瓶90mL，121℃高压灭菌20min。注意振荡，使沉淀于底层的吐温80充分混合。

A. 3 SCDLP 液体培养基

A. 3.1 成分

酪蛋白胨	17 g
大豆蛋白胨	3 g
氯化钠	5 g
磷酸氢二钾	2.5 g
葡萄糖	2.5 g
卵磷脂	1 g
吐温80	7 g
蒸馏水	1000 mL

A. 3.2 制法

先将卵磷脂在少量蒸馏水中加温溶解后，再与其他成分混合，加热溶解，调pH为7.2—7.3，分装，每瓶90 mL，121℃高压灭菌20 min。注意振荡，使沉淀于底层的吐温80充分混合，冷却至25℃左右使用。

A. 4 乳糖胆盐培养基

A. 4. 1 成分

蛋白胨	20 g
猪胆盐	5 g
乳糖	5 g
0. 4%溴甲酚紫水溶液	2. 5 mL
卵磷脂	1 g
吐温80	7 g
蒸馏水	1000 mL

A. 4. 2 制法

先将卵磷脂、吐温80溶解到少量蒸馏水中；将蛋白胨、猪胆盐及乳糖溶解到其余的蒸馏水中，加到一起混匀，调pH到7. 4，加入0. 4%溴甲酚紫水溶液，混匀分装，每瓶90mL，115℃高压灭菌20min。

《牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品中微生物快速检测方法实时荧光光电法（征求意见稿）》编制说明

一、标准起草的基本情况

对牙膏、化妆品和洗涤用品原材料进行微生物检验，可以避免使用被微生物污染的原材料进行生产，造成更大的损失，确保牙膏、化妆品和洗涤用品产品的微生物质量符合国家、市场所在地以及公司内控标准的要求。随着牙膏、化妆品和洗涤用品产量的不断增加，原材料面临着用量大，周转快，时间紧的局面，市场竞争的日益激烈也要求牙膏、化妆品和洗涤用品产品在保证质量的基础上提高供货效率，目前按照《化妆品安全技术规范》（2015 年版）微生物检验周期为 5-7 天，急需成本低，检测快的微生物检测方法，保证检验结果准确可靠的前提下有效缩短牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品中微生物的检测时间，提高检验效率，加快放行速度，减少仓储时间，减少物流压力，提高周转效率。

以传统微生物培养理论为基础，将光子探测技术、二氧化碳传感技术结合在一起，来监控微生物生长代谢，研制出适用于牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品中微生物检测用检测管，按照样品特性采用不同的前处理中和方案，建立了牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品中微生物快速检测方法实时荧光光电法，实现菌落总数、耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌及霉菌和酵母菌数 48 小时检测出结果，特别是菌落总数 20 小时检测出结果。参照《中华人民共和国药典》（2020 版），开展实时荧光光电法对牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品的方法适用性研究及作为替代方法的可行性验证，同步和《化妆品安全技术规范》（2015 年版）微生物检

验法该方法进行平行实验，研究发现该法和化妆品安全技术规范法检验结果基本一致，和化妆品安全技术规范法相比该法简便省时、实时快速、准确灵敏、检测量大，在得到准确的检测结果的同时，大大缩短检测时间，避免了配制分装培养基及倾注平板的步骤、简化样品前处理程序，且准确的检测结果使样品微生物检测变得更加快速、方便，有利于产品在获得准确检测结果下的快速放行和质量管理人员的科学决策。

先进技术的开发及标准化研究有利于提高企业微生物风险监控水平，促进化妆品行业的高质量发展，拟制定团体标准《牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品中微生物快速检测方法实时荧光光电法》，界定牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品中微生物快速检测方法实时荧光光电法的适用范围、试验步骤和结果判定等。

（一）主要工作过程

2025年2月，云南白药集团健康产品有限公司作为立项申请单位向云南省健康产品和化妆品行业协会提出《牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品中微生物快速检测方法实时荧光光电法》团体标准立项提案。

2025年3月，云南省健康产品和化妆品行业协会组织立项论证会，根据专家意见汇总形成的立项结论建议，《牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品中微生物快速检测方法实时荧光光电法》团体标准正式获得批准立项，并在协会官网进行7天的公示。

2025年4月，云南白药集团健康产品有限公司作为立项单位，联合云南省食品药品监督检验研究院、上海美凯纯生物科技有限公司、云南天正检测技术有限公司、云南天创科技有限公司、云南玉溪万方天然药物有限公司、三樱包装（江苏）有限公司、广州市瑞

高包装工业有限公司、云南英格生物技术有限公司、山东天力药业有限公司、东明俱进化工有限公司、中山市联昌喷雾泵有限公司、安徽山河药用辅料股份有限公司、天津北方食品有限公司、金三江（肇庆）硅材料股份有限公司、广东美捷时控股股份有限公司成立团体标准起草小组。

2025 年 5 月~6 月，广泛收集国内外微生物快速检测方法的相关标准及法律法规，并收集整理相关资料，经过多次讨论探讨形成标准的草案。经进一步验证结合反馈的意见，对标准工作组讨论稿进行了认真的修改，于 2025 年 6 月形成了标准征求意见稿，由组长审核后报云南省健康产品和化妆品行业协会。

2025 年 7 月，经云南省健康产品和化妆品行业协会初审完毕，将《牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品中微生物快速检测方法实时荧光光电法》团体标准征求意见稿及编制说明发出广泛征求意见。

（二）主要参加单位和工作组成员及其所做的工作等

主要起草单位：云南白药集团健康产品有限公司

协作起草单位：云南省食品药品监督检验研究院、上海美凯纯生物科技有限公司、云南天正检测技术有限公司、云南天创科技有限公司、云南玉溪万方天然药物有限公司、三樱包装（江苏）有限公司、广州市瑞高包装工业有限公司、云南英格生物技术有限公司、山东天力药业有限公司、东明俱进化工有限公司、中山市联昌喷雾泵有限公司、安徽山河药用辅料股份有限公司、天津北方食品有限公司、金三江（肇庆）硅材料股份有限公司、广东美捷时控股股份有限公司

主要成员：李海军、王静、贾绍强、杨丽娟、郭莉、刘燕、琚

童霞、张艳、宋文斌、闵莎位、彭志刚、陈永萍、黄闰、曾云恒、刘磊、徐子博、王早、王建哲、肖娜、莫恒进、王闪、姜毅、史立兵、郑洁仪

二、与我国有关法律法规和其他标准的关系

我国化妆品微生物检验国家标准为《化妆品安全技术规范》（2015 版），标准方法为传统培养法，采用不同培养基和培养条件观察结果，检测周期至少为 5 天，较长的检测周期带来企业较大的库存压力和较慢的仓库周转，实时荧光光电法可在 48 小时内检测出结果，提高检验效率，提高原料包材及产品的周转率，减轻库存压力；本标准方法微生物限度按照相应的国家标准制定，无国家标准的按照相应的行业标准制定；本标准方法验证部分参照《中国药典》（2020 版）指导原则 9201 药品微生物检验替代方法验证指导原则的验证要求从专属性、检测限、重现性和耐用性四个方面完成相关验证；在国内实时荧光光电法广泛应用于政府食品药品监管、卫生监督、市场监管、疾病控制与预防、科研院所、乳制品、肉类制品、饮料等多个领域，该法也进入中国药典的推荐方法，但未查询到化妆品行业实时荧光光电法相关国内、国际标准。

三、国外有关法律、法规和标准情况的说明

欧盟化妆品微生物检验标准为《ISO 21149-2017 化妆品-微生物学-好氧嗜温菌的计数和检测》和《ISO16212-2017 化妆品-微生物学-霉菌和酵母菌的计数》，《ISO21150:2015 化妆品-微生物学-大肠埃希氏菌的检测》、《ISO22717:2015 化妆品-微生物学-铜绿假单胞菌的检测》、《ISO 22718:2015 化妆品-微生物学-金黄色葡萄球菌的检测》和《ISO18416:2015 化妆品-微生物学-白色假丝酵母的检测》；美国化妆品微生物检验标准为《美国药典 USP61 非无

菌产品微生物限度检查:微生物计数法》、《美国药典 USP62 非无菌产品微生物限度检查:控制菌检查法》，标准方法均为传统培养法。

四、标准的制（修）订与起草原则

本标准的制定符合产业发展的原则，本着先进性、科学性、合理性和可操作性的原则以及标准的目标、统一性、协调性、适用性、一致性和规范性原则来进行本标准的制定工作。

本标准起草过程中，主要按 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》进行编写。本标准制定过程中，主要参考了以下标准或文件：

《化妆品安全技术规范》（2015 版）

《中华人民共和国药典》（2020 版）

五、各项技术内容确定依据

（一）方法适用性研究

实时荧光光电法基于传统的微生物培养理论、最新的二氧化碳传感技术及染色技术、新光源和光传感器来完成对微生物的检测，该方法使用专用检测管，微生物释放出来的 CO₂ 渗透进入检测管底部传感器内，在无菌的检测管内暗色的传感器逐渐变为黄色，表明有 CO₂ 产生和微生物生长代谢发生，光传感器实时识别到这些变化并记录，报告微生物检测的结果。实时多温区微生物快速荧光光电检测系统能够检测检测管中一个活的细菌或者霉菌和酵母菌数，基于此原理，将样品按放行的限量稀释后接种到检测管中，经过恒温培养，根据检测管的阳性变化可在 20 小时内报告样品菌落总数结果，48 小时内报告霉菌和酵母菌数结果，相比化妆品安全技术规范法可以更早提示风险，该法为一种半定量方法；对于要求包括耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌等致病菌在内的一些微生物

不得检出的样品，需要进行定性检测，即先将样品在适合的培养基中进行前增菌，然后将增菌液样品接种到特异性的检测管中，根据检测管是否呈阳性变化来判断样品中是否存在有目标微生物。

针对样品的特性，研制出了适用于牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品微生物检测的专用检测管；根据牙膏、化妆品和洗涤用品产品的防腐特性，在样品的前处理过程中添加不同浓度的中和剂卵磷脂和吐温 80，选取 4 种不同类型产品对卵磷脂和吐温 80 的添加浓度以及其对实验结果的影响做详细验证，验证结果表明卵磷脂和吐温 80 能够消除绝大部分牙膏、化妆品和洗涤用品中的抑菌作用，其本身不会影响检测管的使用，有利于微生物的检出，并确定卵磷脂和吐温 80 添加浓度为灭菌中和生理盐水（含卵磷脂 10g/L、吐温 80 50g/L）。

实验选取 104 种牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及其 4 种不同类型产品，采用实时荧光光电法与化妆品安全技术规范法对其中的菌落总数、霉菌和酵母菌数、耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌进行平行实验，验证实时荧光光电法对牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品微生物检测的适用性。菌落总数加菌选取枯草芽孢杆菌 [ATCC6633] 和大肠埃希菌 [ATCC25922] 作为菌种，霉菌和酵母菌数加菌选取白色念珠菌 [ATCC12031]、黑曲霉 [ATCC16404] 作为菌种，耐热大肠菌群加菌选取大肠埃希菌 [ATCC25922] 作为菌种，铜绿假单胞菌加菌选取铜绿假单胞菌 [ATCC27853] 作为菌种，金黄色葡萄球菌加菌选取金黄色葡萄球菌 [ATCC6538] 作为菌种，将代表菌种按每 1ml 样品稀释液含菌量不大于 100cfu 加入，实时荧光光电法与化妆品安全技术规范法同步进行实验，结果表明实时荧光光电法对牙膏、化妆品和洗涤用

品原材料及产品适用性良好，与化妆品安全技术规范法检测结果基本一致，能够作为牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品快速检测和放行的可靠方法。

（二）替代方法验证研究

经过实验验证实时荧光光电法对牙膏、化妆品和洗涤用品原材料及产品的良好适用性后，参照《中国药典》（2020 版）指导原则 9201 药品微生物检验替代方法验证指导原则的有关内容，选取牙膏、化妆品和洗涤用品的原材料两种，不同类型产品 4 种，代表菌种选取同方法适用性，分别考察专属性、检测限、重现性以及耐用性这四个方面实时荧光光电法与《化妆品安全技术规范（2015 版）》微生物检验方法相比是否存在差异。

将代表菌种按每 1ml 样品稀释液含菌量不大于 100cfu 加入，每个样品重复进行 3 次，按规定要求处理后分别加入菌落总数、霉菌和酵母菌数、耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌检测管上机检测，化妆品安全技术规范法同步进行，加菌样品均报阳性，与化妆品安全技术规范法检验结果一致，证明该方法专属性良好；于不同的时间、由不同的实验人员使用相同样品进行重现性试验，试验方法同专属性试验方法，采用 Fisher 确切概率法，分别对不同人员采用的两种方法的实验结果进行统计分析，两种方法实验结果均显示无显著性差异 ($p>0.05$)，证明该方法重现性良好；菌落总数、耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌采用降低培养温度 8℃ 培养，霉菌和酵母菌数采用升高培养温度 8℃ 培养，检测结果不受影响，均为阳性，证明该方法耐用性良好；将代表菌种按每 1ml 样品稀释液含菌量不大于 5cfu 加入，每个样品重复进行 7 次，按规定要求处理后分别加入菌落总数、霉菌和酵母菌数、耐热大肠菌群、

铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌检测管上机检测，化妆品安全技术规范法同步进行，采用 Fisher 确切概率法，对两种方法的检测限结果进行统计分析无显著性差异 ($p>0.05$)，证明该方法检测限和化妆品安全技术规范法一致。综上，荧光光电法与化妆品安全技术规范法检验结果基本一致，无显著性差异，荧光光电法可以作为化妆品安全技术规范法检测菌落总数、霉菌和酵母菌数、耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌的替代方法。

(三) 不同厂家样品方法适用性研究

试验收集 12 个不同品种不同厂家的牙膏、化妆品和洗涤用品产品，采用实时荧光光电法和化妆品安全技术规范法进行平行试验，对其进行方法适用性检查，以确认该方法是否适用于所收集牙膏、化妆品和洗涤用品产品的菌落总数、霉菌和酵母菌数、耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌的微生物检测，12 种牙膏、化妆品和洗涤用品产品加菌样品均全部检出，结果表明该方法适用于这 12 种牙膏、化妆品和洗涤用品产品，可推广应用于牙膏、化妆品和洗涤用品相关领域。因收集样品有限，使用该方法进行微生物检测需根据样品特性进行方法适用性试验后确认方可开展。

六、其他需要说明的事项(含涉及专利情况说明)

无。