

中华人民共和国国家标准

化妆品微生物标准检验方法 细菌总数测定

UDC 668.58 : 576
.85.07

GB 7918.2—87

Standard methods of microbiological
examination for cosmetics
Standard plate count

细菌总数系指 1 g 或 1 ml 化妆品中所含的活菌数量。测定细菌总数可用来判明化妆品被细菌污染的程度,以及生产单位所用的原料、工具设备、工艺流程、操作者的卫生状况,是对化妆品进行卫生学评价的综合依据。

本标准采用标准平板计数法。

1 方法提要

化妆品中污染的细菌种类不同,每种细菌都有它一定的生理特性,培养时对营养要求,培养温度、培养时间、pH 值、需氧性质等均有所不同。在实际工作中,不可能做到满足所有菌的要求,因此所测定的结果,只包括在本方法所使用的条件下(在卵磷脂、吐温 80 营养琼脂上,于 37℃ 培养 48 h)生长的一群嗜中温的需氧及兼性厌氧的细菌总数。

2 培养基和试剂

2.1 生理盐水:见 GB 7918.1—87《化妆品微生物标准检验方法 总则》。

2.2 卵磷脂、吐温 80 - 营养琼脂培养基

成分:	蛋白胨	20g
	牛肉膏	3g
	氯化钠	5g
	琼脂	15g
	卵磷脂	1g
	吐温 80	7g
	蒸馏水	1000ml

制法:先将卵磷脂加到少量蒸馏水中,加热溶解,加入吐温 80 将其他成分(除琼脂外)加到其余的蒸馏水中,溶解。加入已溶解的卵磷脂、吐温 80,混匀,调 pH 值为 7.1~7.4,加入琼脂,121℃ (15 lb) 20 min 高压灭菌,储存于冷暗处备用。

3 仪器

3.1 锥形烧瓶。

3.2 量筒。

3.3 pH 计或精密 pH 试纸。

3.4 高压消毒锅。

- 3.5 试管。
- 3.6 灭菌平皿:直径 9cm。
- 3.7 灭菌刻度吸管:10ml、2ml、1ml。
- 3.8 酒精灯。
- 3.9 恒温培养箱。
- 3.10 放大镜。

4 操作步骤

4.1 用灭菌吸管吸取 1:10 稀释的检样 2ml,分别注入到两个灭菌平皿内,每皿 1ml。另取 1ml 注入到 9ml 灭菌生理盐水试管中(注意勿使吸管接触液面),更换一支吸管,并充分混匀,使成 1:100 稀释液。吸取 2ml,分别注入到两个灭菌平皿内,每皿 1ml。如样品含菌量高,还可再稀释成 1:1000, 1:10000,……等,每种稀释度应换 1 支吸管。

4.2 将融化并冷至 45~50℃的卵磷脂、吐温 80、营养琼脂培养基倾注平皿内,每皿约 15ml,另倾注一个不加样品的灭菌空平皿,作空白对照。随即转动平皿,使样品与培养基充分混合均匀,待琼脂凝固后,翻转平皿,置 37℃培养箱内培养 48h。

5 菌落计数方法

先用肉眼观察,点数菌落数,然后再用放大 5~10 倍的放大镜检查,以防遗漏。记下各平皿的菌落数后。求出同一稀释度各平皿生长的平均菌落数。若平皿中有连成片状的菌落或花点样菌落蔓延生长时,该平皿不宜计数。若片状菌落不到平皿中的一半,而其余一半中菌落数分布又很均匀,则可将此半个平皿菌落计数后乘 2,以代表全皿菌落数。

6 菌落计数及报告方法

6.1 首先选取平均菌落数在 30~300 之间的平皿,作为菌落总数测定的范围。当只有一个稀释度的平均菌落数符合此范围时,即以该平皿菌落数乘其稀释倍数(见表中例 1)。

6.2 若有两个稀释度,其平均菌落数均在 30~300 个之间,则应求出两者菌落总数之比值来决定。若其比值小于或等于 2,应报告其平均数,若大于 2 则报告其中较小的菌落数(见表中例 2 及例 3)。

6.3 若所有稀释度的平均菌落数均大于 300 个,则应按稀释度最高的平均菌落数乘以稀释倍数报告之(见表中例 4)。

6.4 若所有稀释度的平均菌落数均少于 30 个,则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数报告之(见表中例 5)。

6.5 若所有稀释度的平均菌落数均不在 30~300 个之间,其中一个稀释度大于 300 个,而相邻的另一稀释度小于 30 个时,则以接近 30 或 300 的平均菌落数乘以稀释倍数报告之(见表中例 6)。

6.6 若所有的稀释度均无菌生长,报告数为每克或每毫升小于 10 个。

6.7 菌落计数的报告,菌落数在 10 以内时,按实有数值报告之,大于 100 时,采用二位有效数字,在二位有效数字后面的数值,应以四舍五入法计算。为了缩短数字后面零的个数,可用 10 的指数来表示(见下表报告方式栏)。在报告菌落数为“不可计”时,应注明样品的稀释度。

细菌计数结果及报告方法

例次	不同稀释度的平均菌落数			两稀释度菌数之比	菌落总数 个/g 或 个/ml	报告方式 个/g 或 个/ml
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³			
1	1365	164	20	—	16400	16000 或 1.6×10^4
2	2760	295	46	1.6	38000	38000 或 3.8×10^4
3	2890	271	60	2.2	27100	27000 或 2.7×10^4
4	不可计	4650	513	—	513000	510000 或 5.1×10^5
5	27	11	5	—	270	270 或 2.7×10^2
6	不可计	305	12	—	30500	31000 或 3.1×10^4

附加说明：

本标准由中国预防医学科学院环境卫生监测所归口。

本标准由“化妆品微生物标准检验方法”起草小组起草。

本标准主要起草人周淑玉。

本标准由中国预防医学科学院环境卫生监测所负责解释。