|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 71.100.70 |
| CCS | |  | | --- | | D:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T.pngD:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T后面的反斜杠.png CMA |   Y 42 |

中国计量协会团体标准

T/CMA YX XXX—2024

眼部化妆品防腐挑战试验检测方法

Evaluation of the antimicrobial protection of eye area cosmetic products

2024 - XX - XX发布

2024 - XX - XX实施

中 国 计 量 协 会  发布

目次

[前言 II](#_Toc162430170)

[1 范围 3](#_Toc162430171)

[2 规范性引用文件 3](#_Toc162430172)

[3 术语和定义 3](#_Toc162430173)

[4 生物安全措施 3](#_Toc162430174)

[5 仪器和设备 3](#_Toc162430175)

[6 试剂和材料 4](#_Toc162430176)

[6.1 菌悬液制备用稀释剂 4](#_Toc162430177)

[6.2 中和稀释剂 4](#_Toc162430178)

[6.3 细菌活菌计数琼脂培养基 4](#_Toc162430179)

[6.4 真菌活菌计数琼脂培养基 4](#_Toc162430180)

[6.5 测试菌种 4](#_Toc162430181)

[7 操作步骤 4](#_Toc162430182)

[7.1 菌种选择 4](#_Toc162430183)

[7.2 菌液制备 5](#_Toc162430184)

[7.3 样品背景微生物检测 5](#_Toc162430185)

[7.4 中和剂鉴定试验 5](#_Toc162430186)

[7.5 防腐挑战试验 6](#_Toc162430187)

[8 结果判断 7](#_Toc162430188)

[8.1 判定标准 7](#_Toc162430189)

[8.2 结果判定 7](#_Toc162430190)

[附录A（规范性） 培养基和试剂 8](#_Toc162430191)

[A.1 D/E中和肉汤（Dey/Engley 中和肉汤） 8](#_Toc162430192)

[A.2 Eugon LT 100 肉汤 8](#_Toc162430193)

[A.3 胰酪胨大豆琼脂培养基(TSA) 8](#_Toc162430194)

[A.4 沙氏琼脂培养基（SDA） 9](#_Toc162430195)

[附录B（资料性） 常见中和剂参考表 10](#_Toc162430196)

[参考文献 11](#_Toc162430197)

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。

本文件由中国计量协会提出。

本文件由中国计量协会医学计量专业委员会归口。

本文件起草单位：上海市徐汇区疾病预防控制中心、上海海关动植物与食品检验检疫技术中心、上海市黄浦区疾病预防控制中心、上海市疾病预防控制中心、埃欧孚（上海）检测技术有限公司、上海天祥质量技术服务有限公司、上海市浦东新区疾病预防控制中心。

本文件主要起草人：钱子煜、刘夏、宋黎黎、李晓虹、刘志勇、邵晶、黄佳琪、骆爱华、戴潇瀚、李梦、陶艳琳、安洪海、杨诗珍、烟利亚、周雪雯、俞龙、郝莉鹏、赵冰、吴美琪、刘司琪。

眼部化妆品防腐挑战试验检测方法

* 1. 范围

本文件规定了易触及眼睛的眼部个人护理产品和眼部化妆品防腐性能的检测评价方法。

本文件适用于各种眼部护理产品和眼部化妆品的防腐体系性能测试及评价，其他产品也可根据用途选择采用。

* 1. 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 19489 实验室生物安全通用要求

《化妆品安全技术规范》2015年版

《消毒技术规范》2002年版

* 1. 术语和定义

3.1

防腐挑战试验（preservation testing）

即微生物挑战性实验：是通过向化妆品中添加特定浓度的试验菌悬液，模拟化妆品中可能出现的污染情况，并于特定时间点测定接种后样品中的活菌数量，通过比较初始活菌浓度N0与特定时间点活菌浓度Nx的对数减少值，判断化妆品的防腐体系效能的实验方法。

3.2

中和剂（neutralizer）

在微生物杀灭试验中，用以消除试验微生物与杀菌剂的混悬液中和微生物表面上残留的杀菌剂，使其失去对微生物抑制和杀灭作用的试剂。

3.3

中和产物（productofneutralization）

指中和剂与杀菌剂作用后的产物。

* 1. 生物安全措施

为了保护实验室人员的安全，应在生物安全二级实验室内由经过培训的工作人员进行检测，所有培养物和废弃物应参照GB 19489中的有关规定执行。

* 1. 仪器和设备

恒温水浴振荡器；

恒温培养箱 (32.5 ℃±2.5 ℃ 22.5 ℃±2.5 ℃)；

恒温水浴锅（48 ℃±2 ℃）；

生物安全柜；

移液枪及无菌吸管（10 mL、1 mL、100 µL）；

电子天平；

漩涡震荡器；

均质器；

三角瓶（200 mL）；

玻璃试管（18 mm×180 mm）；

广口具塞玻璃瓶（120 mL）。

* 1. 试剂和材料
     1. 菌悬液制备用稀释剂

无菌生理盐水

吐温80

* + 1. 中和稀释剂

D/E中和液体培养基

Eugon LT 100液体培养基

* + 1. 细菌活菌计数琼脂培养基

胰蛋白胨大豆琼脂 (TSA)

* + 1. 真菌活菌计数琼脂培养基

沙氏葡萄糖琼脂（SDA）

* + 1. 测试菌种

1. 菌株推荐表

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 菌株类型 | 菌株名称/编号 | 使用建议 |
| 革兰氏阳性球菌 | *Straphylococcus aureus*金黄色葡萄球菌ATCC6538 | 至少选择一种 |
| *Straphylococcus epidermidis*  表皮葡萄球菌ATCC 12228 |
| 革兰氏阴性杆菌（发酵菌） | *Escherichia coli*大肠杆菌ATCC 8739 | 至少选择两种 |
| *Klebsiella pneumonia*肺炎克雷伯氏菌ATCC 10031 |
| *Enterobacter cloacae*阴沟肠杆菌ATCC 13047 |
| *Enterobacter gergoviae*日沟维肠杆菌 |
| 革兰氏阴性杆菌（非发酵菌） | *Pseudomonas aeruginosa*铜绿假单胞菌ATCC 9027 | 除铜绿假单胞菌必选外，还需至少选择一种 |
| *Pseudomonas fluorescens*荧光假单胞菌 |
| *Pseudomonas putida*恶臭假单胞菌 |
| *Flavobacterium* species黄杆菌属 |
| *Burkholderia cepacia*洋葱伯克霍尔德菌ATCC 25416 |
| 酵母 | *Candida albicans*白色假丝酵母菌ATCC 10231 | 至少选择一种 |
| *Candida parapsilosis*光滑念珠菌 |
| 霉菌 | *Aspergillus niger*黑曲霉ATCC 16404 | 至少选择一种 |
| *Penicillium* species青霉菌属 |
| 芽孢杆菌 | *Bacillus subtilis*枯草芽孢杆菌黑色变种ATCC 9372 | 可选 |
| 其它 | 产品相关菌株 | 可选 |

* 1. 操作步骤
     1. 菌种选择

选择表1中菌株进行防腐挑战试验；若样品对某些菌株出现过防腐问题，应增加这些菌株作为挑战菌，对样品进行防腐挑战试验。采用单菌法进行挑战试验时，所得数据为单一菌株的防腐挑战结果，缺点是耗时且工作量大。采用混菌法进行挑战试验，省时且减少工作量，但不同菌种间可能出现拮抗作用。为了降低菌种拮抗作用，建议将试验菌株按照相关性进行分组接种，例如按照革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、酵母菌和霉菌进行分组接种。

* + 1. 菌液制备

7.2.1 白色假丝酵母菌菌液的制备：从保存好的试管斜面上（或菌种保存管中）取适量的菌体或菌种吸附小磁珠接种于沙氏葡萄糖琼脂（SDA）斜面，32.5 ℃±2.5 ℃，培养18h~24 h。用接种环取第1代培养物，划线接种于SDA平板，32.5 ℃±2.5 ℃，培养18h~24 h。挑取上述第2代培养物中典型菌落，划线接种于SDA琼脂斜面，32.5 ℃±2.5 ℃，培养18h~24 h，即为第3代培养物。吸取适量的无菌生理盐水加入斜面试管内，反复吹洗，洗下菌苔。将洗液转移至另一无菌试管中，涡旋混匀20 s。用无菌生理盐水将其稀释成约1🞨107CFU/mL~9.0🞨107 CFU/mL的菌悬液。制备好的菌悬液应在2 h内使用，或在2 ℃~8 ℃保存不超过24 h。

7.2.2 黑曲霉孢子悬液的制备：从保存好的试管斜面上（或菌种保存管中）取适量的菌体或菌种吸附小磁珠接种于沙氏葡萄糖琼脂（SDA）斜面，22.5 ℃±2.5 ℃，培养6d~10 d。吸取适量的无菌0.05%(v/v) 吐温80生理盐水加入斜面试管内，刮洗黑曲霉分生孢子于溶液中。将孢子悬液转移至装有玻璃珠的无菌三角瓶中，轻轻振摇1 min后，用无菌玻璃棉过滤除去菌丝。过滤后，显微镜下（400倍）观察悬液中是否存在菌丝，若悬液中有菌丝存在，可经2000r/min，离心20 min除去菌丝。再次在显微镜下观察，若仍有菌丝存在，需再次离心。用无菌0.05%(v/v) 吐温80生理盐水将其稀释成约1🞨107CFU/mL~9.0🞨107 CFU/mL的孢子悬液。制备好的孢子悬液应当天使用；或在2 ℃~8 ℃保存不超过2 d，使用前混合均匀并在显微镜下观察是否有孢子出芽，若有孢子出芽，则弃之不用。

7.2.3 革兰氏阴性杆菌\革兰氏阳性球菌：从保存好的试管斜面上（或菌种保存管中）取适量的菌体或菌种吸附小磁珠接种于胰蛋白胨大豆琼脂（TSA）斜面，32.5 ℃±2.5 ℃，培养18h~24 h。用接种环取第1代培养物，划线接种于TSA平板，32.5 ℃±2.5 ℃，培养18h~24 h。挑取上述第2代培养物中典型菌落，划线接种于TSA琼脂斜面，32.5 ℃±2.5 ℃，培养18~24 h，即为第3代培养物。吸取适量的无菌生理盐水加入斜面试管内，反复吹洗，洗下菌苔。将洗液转移至另一无菌试管中，涡旋混匀20 s。用无菌生理盐水将其稀释成约1🞨108CFU/mL~9.0🞨108 CFU/mL的菌悬液。制备好的菌悬液应在2 h内使用，或在2 ℃~8 ℃保存不超过24 h。

注意：除黑曲霉外，其余接种所用菌种培养物应为新鲜培养物，最好处于对数生长期。所用菌种传代不超过5代。

7.2.4 采用平板计数法确定各菌液或孢子悬液浓度，每个稀释度至少做双平行检测。利用计数确定的菌液/孢子悬液浓度N推算接种完成的样品中初始活菌浓度N0（N0=N/100）。

计数平板培养条件为：白色假丝酵母菌所用培养基为SDA，在32.5 ℃±2.5 ℃培养，48h~72 h；黑曲霉菌所用培养基为SDA，在22.5 ℃±2.5 ℃培养，3 d~5 d；革兰氏阴性杆菌\革兰氏阳性球菌所用培养基为TSA，在32.5 ℃±2.5 ℃培养，48h~72 h。

适宜的平板计数范围是：细菌和白色念珠菌≤300 CFU，最佳计数范围是30 CFU~300 CFU；黑曲霉≤50 CFU，最佳计数范围是5 CFU~50 CFU。

7.2.5 相关菌种的稀释液和培养基也可使用其他经过验证的培养基。

* + 1. 样品背景微生物检测

进行中和剂鉴定试验和防腐挑战试验前，应先根据《化妆品安全技术规范》2015年版对产品进行菌落总数、耐热大肠菌群、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、霉菌和酵母菌数检测，以避免产品中可能存在的微生物对试验结果产生影响。

* + 1. 中和剂鉴定试验

7.4.1 每种试验菌株的中和剂鉴定试验应分别进行。

7.4.2 对防腐剂的中和可以通过添加化学中和剂或者物理稀释法完成，也可两种方法结合使用。化学中和剂的选择：为了中和化妆品中的防腐剂，可采用“6.2中和稀释剂”中的D/E中和肉汤、Eugon LT 100液体培养基或者其它液体培养基。若中和效果不理想，可根据产品中添加的防腐剂类型，参考附录B进行选择。

7.4.3 化学中和剂鉴定流程为：

7.4.3.1 将7.2中准备的菌液10倍系列稀释至浓度为1🞨103CFU/mL~9.0🞨103 CFU/mL的标准菌悬液，用于中和鉴定试验。

7.4.3.2将1g或1 mL样品加入到9 mL中和剂中，彻底混匀，室温作用30min±15 min，制成中和产物；若中和效果不理想，可用中和剂作为稀释液进行二次倍比稀释。将1 mL稀释液（生理盐水）加入到9 mL中和剂中，彻底混匀，室温作用30 min±15 min，作为对照组。

7.4.3.3分别接种1 mL 7.2中制备的菌液至测试管（含10 mL中和产物）和对照管中，涡旋混匀。同时接种1 mL 7.2中制备的菌液至10 mL稀释液（生理盐水）中，作为阳性对照组。

7.4.3.4分别对测试组、对照组和阳性对照组进行平板计数，每个稀释度进行双平行实验。

7.4.3.5对各组进行计数，测试组计数结果记作Nvf，对照组计数结果记作Nvn，阳性对照组计数结果记作Nv。当Nvn接近Nv，并且Nvf≥0.5Nvn时，认为中和剂有效。

7.4.4 其余中和方法：除化学中和剂方法外，还可采用稀释法、过滤冲洗法对产品中残留的防腐剂进行中和，具体操作方法可参照《消毒技术规范》2002年版2.1.1.4.3。采用稀释法时，应采取适当措施补偿活菌回收率灵敏度的降低，以避免假阴性结果（例如，可采用膜过滤计数法代替稀释液平板计数法）。

* + 1. 防腐挑战试验
       1. 接种
          1. 接种菌悬液制备

7.5.1.1.1 水溶性标准菌悬液，制备方法同7.2；

7.5.1.1.2 乳化的标准菌悬液，通过加入不超过1 %的分散剂（乳化剂），如吐温80、去山梨糖醇单油酸酯或甘油，将7.2中制备的水溶性标准菌悬液乳化；

7.5.1.1.3 油性标准菌悬液：利用液体石蜡/轻矿物油制备油性标准菌悬液。

* + - * 1. 水溶性眼部产品

将样品分为等份分别装在无菌玻璃瓶中，每份样品10 g（mL）~20 g（mL）。每份样品分别加入一种7.2中制备好的水溶性标准菌悬液0.1~0.2 mL，使每克或每毫升样品含菌量约为1🞨106 CFU~9.0🞨106CFU/mL（细菌）或1🞨105 CFU~9.0🞨105CFU/mL（真菌），彻底混合均匀。

* + - * 1. 非水溶性眼部化妆品

接种方式：a、接种后混匀：将菌悬液加入样品后，利用无菌玻璃棒、压舌板、均质器或者涡旋仪等，将样品与菌悬液彻底混合均匀。b、表面接种法：b.1 擦拭法将拭子用已知浓度的菌悬液浸湿后，擦拭整个产品表面；b.2 涂布法将一定体积的接种菌悬液滴加到产品表面后，均匀涂布；b.3 浸泡法将容器/载体内的样品浸泡在已知浓度的菌悬液中作用一定时间；b.4 喷雾法将接种菌悬液装入雾化器内，均匀喷洒在样品表面；此法应注意采取适当的防护措施。

* + - 1. 计数

接种后的样品置于22.5 ℃±2.5 ℃培养，分别在接种后7 d，14 d，28 d天计数，计作Nx（X=7，14，28）。培养至特定时间后（7d，14d，28d），将样品彻底混匀后，取1 mL接种后的样品，加入含有9 mL无菌中和剂的试管中，充分涡旋混匀。（若中和剂鉴定试验中，对样品进行百倍稀释后测定了中和剂的有效性，则接种后的样品进行计数时也应进行百倍稀释。）室温，与中和剂作用30±15 min后，采用平板倾注法或平板涂布法进行计数。倾注法：分别吸取1.0 mL样液于2个无菌平皿中进行平板计数。如平板上生长菌落数较多，用中和剂作为稀释液继续进行10倍系列稀释，取2~3个适宜稀释度的样液进行平板计数。每个稀释度至少进行双平行计数。涂布法：分别吸取0.1mL~0.2 mL样液滴加到平板表面，用涂布棒均匀涂布，正置至样液被完全吸收后，进行培养。

计数平板培养条件以及适宜的平板计数范围同7.2.4。按照Nx=C/(Vd)计算样品中的活菌浓度（C代表计数平板上的菌落平均数；V代表计数平板上的加菌样品接种量，一般为1 mL；d代表计数平板对应的稀释倍数）。

注意：不同产品类型，适用的特定检测时间点不同。应根据产品具体情况进行选择。

* 1. 结果判断
     1. 判定标准

将微生物对数减少值Rx与表2中的评价标准A或标准B所要求的最小值进行比较：

1. 化妆品防腐效果评价标准

| 微生物对数减少值Rxa | | | | | | | | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 菌种 | 细菌 | | | 酵母 | | | 霉菌 | |
| 测试时间 | T7 | T14 | T28 | T7 | T14 | T28 | T14 | T28 |
| 标准A | ≥3 | ≥3且NIb | ≥3且NIb | ≥1 | ≥1且NIb | ≥1且NIb | ≥0c | ≥1且NIb |
| 标准B | 不评价 | ≥3 | ≥3且NIb | 不评价 | ≥1 | ≥1且NIb | ≥0c | ≥0且NIb |
| 1. 在防腐剂挑战试验中，可接受的偏差范围为0.5 log。 2. NI表示Nx与前一测试时间点相比未增长。 3. 当logN0=logNx，且Nx与初始浓度N0相比未增长时，Rx=0。 | | | | | | | | |

* + 1. 结果判定

8.2.1当化妆品防腐挑战实验结果满足标准A时，认为该产品防腐性能符合要求；

8.2.2当化妆品防腐挑战实验结果不满足标准A，但满足标准B时，若产品采取了合理的附加控制措施，如使用具有单向阀的泵式包装，可以认为该产品防腐性能符合要求；

8.2.3当化妆品防腐挑战实验结果既不满足标准A又不满足标准B时，需要对产品进行微生物风险分析，若风险分析表明产品采取的加强控制措施（如单剂量包装）可以有效降低微生物污染风险，并且“菌落总数”、“耐热大肠菌群”、“金黄色葡萄球菌”、“铜绿假单胞菌”和“霉菌和酵母菌数”检测结果均符合《化妆品安全技术规范》的要求，则可以认为该产品防腐性能符合要求；

8.2.4若化妆品均不满足上述三种情况，则判定该产品的防腐性能不符合要求。

2. （规范性）  
   培养基和试剂
   1. D/E中和肉汤（Dey/Engley 中和肉汤）
      1. 成分

| 葡萄糖 | 10.0 g |
| --- | --- |
| 大豆磷脂 | 7.0 g |
| 硫代硫酸钠 | 6.0 g |
| 吐温80 | 5.0 g |
| 酪蛋白胰酶消化物 | 5.0 g |
| 亚硫酸氢钠 | 2.5 g |
| 酵母抽提物 | 2.5 g |
| 硫代乙酸钠 | 1.0 g |
| 溴甲酚紫 | 0.02 g |
| 蒸馏水 | 1 000 mL |

* + 1. 制法

将上述各成分或脱水完全培养基依次加入水中加热至完全溶解，待溶液冷却后，调节pH至7.0±0.2，将培养基分装至合适容器中，于121 ℃高压灭菌 15 min。

* 1. Eugon LT 100 肉汤
     1. 成分

| 酪蛋白胰酶消化物 | 15.0 g |
| --- | --- |
| 大豆粉木瓜酶消化物 | 5.0 g |
| L-胱氨酸 | 0.7 g |
| 氯化钠 | 4.0 g |
| 亚硫酸钠 | 5.0 g |
| 葡萄糖 | 0.2 g |
| 卵磷脂 | 5.5 g |
| 吐温80 | 5.0 g |
| 辛苯聚醇—9 | 1.0 g |
| 蒸馏水 | 1 000 mL |

* + 1. 制法

将上述各成分，吐温80，辛苯聚醇—9及卵磷脂依次加入到沸水中煮沸至完全溶解，溶液冷却后，调节pH至7.0±0.2，将培养基分装至合适容器中，于121 ℃高压灭菌15 min。

* 1. 胰酪胨大豆琼脂培养基(TSA)
     1. 成分

| 酪蛋白胰酶消化物 | 15.0 g |
| --- | --- |
| 大豆粉木瓜酶消化物 | 5.0 g |
| 氯化钠 | 5.0 g |
| 琼脂 | 15.0 g |
| 蒸馏水 | 1 000 mL |

* + 1. 制法

除琼脂外其他成分溶解于蒸馏水中，调pH至7.2~7.4，加入琼脂，加热溶解，分装；121 ℃灭菌15 min后备用。

* 1. 沙氏琼脂培养基（SDA）
     1. 成分

| 葡萄糖 | 40.0 g |
| --- | --- |
| 琼脂 | 20.0 g |
| 蒸馏水 | 1 000 mL |

* + 1. 制法

用700 mL蒸馏水将琼脂溶解，300 mL蒸馏水将葡萄糖与蛋白胨溶解，混合上述两部分，调pH至5.6±0.2，摇匀后分装，115 ℃压力蒸汽灭菌15 min；使用前，用过滤除菌方法加入0.1 g/L的氯霉素或者0.03 g/L的链霉素。

1. （规范性）  
   常见中和剂参考表

表B.1列举了常见杀菌剂的中和剂配方。

* 1. 常见中和剂参考表

| 杀菌剂类型 | 中和剂 | 中和剂和洗涤剂（膜过滤法） |
| --- | --- | --- |
| 酚类化合物：对羟苯甲酸酯，苯氧乙醇，苯基乙醇等；酰替苯胺 | 卵磷脂，吐温80，脂肪醇环氧乙烷冷凝液，非离子型表面活性剂 | 中和剂：吐温80，30 g/L+卵磷脂，3 g/L；  脂肪醇环氧乙烷冷凝液，7 g/L +卵磷脂，20 g/L +吐温80，4 g/L；  D/E中和肉汤；SDCLP液体培养基；  洗涤剂：蒸馏水；胰蛋白胨，1 g/L +NaCl，9 g/L；吐温80，5 g/L |
| 季铵盐，阳离子表面活性剂 | 卵磷脂，皂素，吐温80，十二烷基磺酸钠(SDS)，脂肪醇环氧乙烷冷凝液 | 中和剂：吐温80，30 g/L +SDS，4 g/L+卵磷脂，3 g/L  吐温80，30 g/L +皂素，30 g/L+卵磷脂，3 g/L；  D/E中和肉汤；SDCLP液体培养基；  洗涤剂：蒸馏水；胰蛋白胨，1 g/L +NaCl，9 g/L；吐温80，5 g/L |
| 醛，甲醛生成剂 | 甘氨酸，组氨酸 | 中和剂：卵磷脂，3 g/L +吐温80，30 g/L +L-组氨酸，1 g/L；  吐温80，30 g/L +皂素，30 g/L+L-组氨酸，1 g/L+L-半胱氨酸，1 g/L；  D/E中和肉汤；SDCLP液体培养基；  洗涤剂：吐温80，3 g/L+ L-组氨酸，0.5 g/L |
| 氧化剂 | 硫代硫酸钠 | 中和剂：硫代硫酸钠，5 g/L  洗涤剂：硫代硫酸钠，3 g/L |
| 异噻唑啉酮，咪唑类 | 卵磷脂，皂素胺，硫酸盐，硫醇，亚硫酸氢钠，硫代乙酸钠 | 中和剂：吐温80，30 g/L +皂素，30 g/L +卵磷脂，3 g/L；  洗涤剂：胰蛋白胨，1 g/L +NaCl，9 g/L；吐温80，5 g/L |
| 双胍类 | 卵磷脂，皂素，吐温80 | 中和剂：吐温80，30 g/L +皂素，30 g/L + 卵磷脂，3 g/L；  洗涤剂：胰蛋白胨，1 g/L +NaCl，9 g/L；吐温80，5 g/L |
| 金属盐（铜，锌，汞），有机汞 | 亚硫酸氢钠，L-半胱氨酸巯基化合物，巯基乙酸 | 中和剂：硫代乙酸钠，0.5 g/L或5 g/L；  L-半胱氨酸，0.8 g/L或1.5 g/L；  D/E中和肉汤；SDCLP液体培养基；  洗涤剂：硫代乙酸钠，0.5 g/L |

参考文献

［1］ EUROPEAN PHARMACOPOEIA 11.0 5.1.3 Efficacy of antimicrobial preservation

［2］ ISO 11930:2019(E) Cosmetics-Microbiology-Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product

［3］ PCPC Microbiology Guidelines (2022) M-3 A Method for Preservation Testing of Water-Miscible Personal Care Products

