

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2206.3—2009

化妆品微生物检验方法 第3部分：肺炎克雷伯氏菌

Determination of microbiological in cosmetics—
Part 3: *Klebsiella pneumoniae*

2009-02-20 发布

2009-09-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

SN/T 2206《化妆品微生物检验方法》分为以下部分：

- 第 1 部分：沙门氏菌；
- 第 2 部分：需氧芽孢杆菌和蜡样芽孢杆菌；
- 第 3 部分：肺炎克雷伯氏菌；
- 第 4 部分：链球菌；
- 第 5 部分：肠球菌。

本部分为 SN/T 2206 的第 3 部分。

本部分的附录 A 为规范性附录。

本部分由中华人民共和国国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分起草单位：中华人民共和国广东出入境检验检疫局、中华人民共和国上海出入境检验检疫局。

本部分主要起草人：许龙岩、胡科锋、刘静宇、易敏英、杨捷林、翁文川、凌莉、阳静、袁幕云、陈碧玲。

本部分系首次发布的出入境检验检疫标准。

化妆品微生物检验方法

第3部分:肺炎克雷伯氏菌

1 范围

SN/T 2206 的本部分规定了化妆品中肺炎克雷伯氏菌的检验方法。
本部分适用于化妆品中肺炎克雷伯氏菌的检验。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 SN/T 2206 的本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分,然而,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本部分。

GB/T 7918.1 化妆品微生物标准检验方法 总则

3 材料和设备

- 3.1 吸管:2.0 mL 和 10.0 mL,分刻度 0.1 mL。
- 3.2 三角瓶:150 mL,250 mL。
- 3.3 培养皿:直径 90 mm。
- 3.4 接种针、接种环。
- 3.5 载玻片。
- 3.6 样品处理器具:镊子、剪刀、勺子。
- 3.7 天平:0 g~600 g,感量 0.1 g。
- 3.8 均质器:转速 1 000 r/min 以上。
- 3.9 恒温培养箱:36 °C ±1 °C。
- 3.10 高压灭菌器。
- 3.11 VITEK 全自动微生物鉴定系统或类似设备。

注:VITEK 是由法国生物梅里埃公司提供的产品的商品名。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的唯一认可。如果其他等效产品具有相同的效果,也可使用这些等效产品。

4 培养基和试剂

- 4.1 0.85%生理盐水。
- 4.2 SCDLP 液体培养基(见附录 A 中第 A.1 章)。
- 4.3 胆硫乳琼脂(DHL)(见附录 A 中第 A.2 章)。
- 4.4 营养琼脂斜面培养基(见附录 A 中第 A.3 章)。
- 4.5 动力半固体琼脂(见附录 A 中第 A.4 章)。
- 4.6 氧化酶试剂(见附录 A 中第 A.5 章)。
- 4.7 API 20E 生化鉴定试剂条或其他等效产品。

注:API 20E 生化鉴定试剂条是由法国生物梅里埃公司提供的产品的商品名。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的唯一认可。如果其他等效产品具有相同的效果,也可使用这些等效产品。

4.8 GN 测试卡。

注：GN 测试卡是由法国生物梅里埃公司提供的产品的商品名。给出这一信息是为了方便本标准的使用者，并不表示对该产品的唯一认可。如果其他等效产品具有相同的效果，也可使用这些等效产品。

5 方法提要

化妆品中肺炎克雷伯氏菌检验方法是通过增菌、分离、生化鉴定对化妆品中可能存在的肺炎克雷伯氏菌进行定性检验。

6 检验程序

肺炎克雷伯氏菌检验程序见图 1。

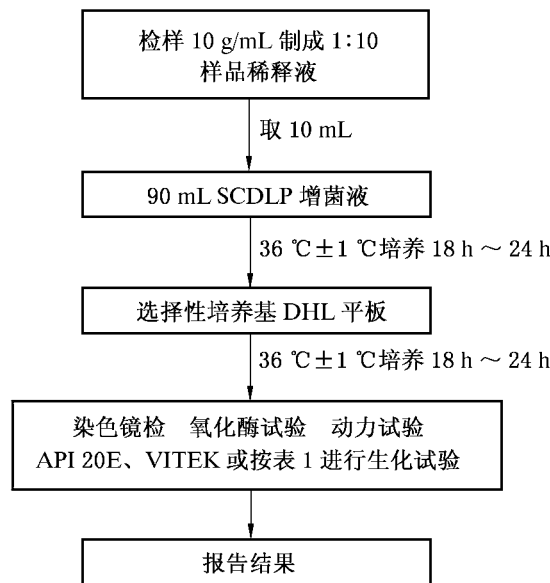


图 1

7 样品制备

化妆品中不同类型的检样制备参照 GB/T 7918.1 进行制样。

8 操作步骤

8.1 取 1 : 10 样品稀释液 10 mL 接种到 90 mL SCDLP 液体培养基中，置 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h ~ 24 h。

8.2 自上述培养液中，取 (1 ~ 2) 接种环，划线接种于胆硫乳琼脂平板 (DHL) 中，置 $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h ~ 24 h。在 DHL 平板上肺炎克雷伯氏菌菌落呈淡粉红色，大而隆起，光滑湿润，粘液状，相邻菌落容易融合成脓汁样，接种针挑取菌落时呈丝状粘连。

8.3 从 DHL 平板上至少挑取 5 个典型或可疑菌落，如果平板上可疑菌落少于 5 个，则全部挑取，把挑取的可疑菌落分别穿刺于动力半固体琼脂，并接种到营养琼脂斜面培养基， $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h ~ 24 h。

8.4 将 8.3 中营养琼脂斜面培养基上的纯培养物做革兰氏染色、氧化酶试验。无动力，革兰氏染色阴性，氧化酶试验阴性者，用 API 20E 生化鉴定试剂条或 VITEK 生化鉴定系统进行生化鉴定，或按表 1 进行生化试验。

表 1 肺炎克雷伯氏菌生化特性

试验项目	肺炎克雷伯氏菌肺炎亚种	肺炎克雷伯氏菌臭鼻亚种	肺炎克雷伯氏菌鼻硬结亚种
尿素酶	+	d	—
淀粉酶	—	—	—
MR	-/+	+	+
VP	+	—	—
西蒙氏枸橼酸盐	+	d	—
D-酒石酸盐	+/-	-/+	—
丙二酸盐	+	—	+
ONPG	+	+	—
赖氨酸脱羧酶	+	d	—
分解葡萄糖产气	+	d	—
乳糖	+	d	—
卫矛醇	-/+	—	—

注：“+”≥90%阳性，“+/-”75-88%阳性，“d”为不定，“-/+”75-89%阴性，“—”≥90%阴性。

9 结果报告

根据生化鉴定结果报告样品中检出或未检出肺炎克雷伯氏菌。

附 录 A
(规范性附录)
培养基和试剂

A.1 SCDLP 液体培养基

成分:酪蛋白胨	17.0 g
大豆蛋白胨	3.0 g
氯化钠	5.0 g
磷酸氢二钾	2.5 g
葡萄糖	2.5 g
卵磷脂	1.0 g
吐温-80	7.0 g
蒸馏水	1 000 mL

制法:将卵磷脂在 400 mL 蒸馏水中加热至完全溶解,再将其他成分混合加入 600 mL 蒸馏水中,加热完全溶解。将上述两种溶液混合后,充分搅拌均匀。调 pH 为 7.2~7.3 分装,121 °C 20 min 高压灭菌。注意振荡,使沉淀于底层的吐温-80 充分混合,待冷却至 25 °C 左右使用。

A.2 胆硫乳琼脂(DHL)

成分:蛋白胨	20.0 g
牛肉膏	3.0 g
乳糖	10.0 g
蔗糖	10.0 g
牛胆盐	1.0 g
硫代硫酸钠	2.2 g
柠檬酸钠	1.0 g
柠檬酸铁铵	1.0 g
中性红	0.03 g 或 5 g/L 水溶液 6 mL
琼脂	18.0 g~20.0 g
蒸馏水	1 000 mL

制法:除中性红和琼脂外,将其他成分加入 400 mL 蒸馏水中,搅拌均匀,静置约 10 min,加热煮沸至完全溶解,调 pH 为 7.3 ± 0.1 ,再将琼脂加入 600 mL 蒸馏水中,搅拌均匀,静置约 10 min,加热煮沸至完全溶解。将两种溶液混合后,再加入 5 g/L 中性红水溶液 6 mL,搅拌均匀,待冷却至 50 °C~55 °C,倾注平皿备用。

A.3 营养琼脂斜面培养基

成分:蛋白胨	10.0 g
牛肉膏	3.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000 mL

制法:除琼脂外,将其余成分溶解于蒸馏水中,pH 为 7.2~7.4,加入琼脂,加热溶解,分装试管,

121 ℃ 15 min 高压灭菌后,制成斜面备用。

A.4 动力半固体琼脂

成分:胰蛋白胨	10.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	5.0 g
蒸馏水	1 000 mL

制法:将各成分加入蒸馏水中,加热溶解,调节 pH 至 7.3 ± 0.1 ,分装 15 mm×100 mm 试管,121 ℃ 高压灭菌 15 min,制成半固体高层。

A.5 氧化酶试验试剂

成分:四甲基对苯二胺	1.0 g
蒸馏水	100 mL

制法:将四甲基对苯二胺溶于蒸馏水即可,现用现配。若装入棕色瓶中,放置于 2 ℃~8 ℃ 冰箱保存,可在配制后 7 d 内使用。

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
化妆品微生物检验方法
第 3 部分：肺炎克雷伯氏菌
SN/T 2206.3—2009

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码：100045

网址 www.spc.net.cn

电话：68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

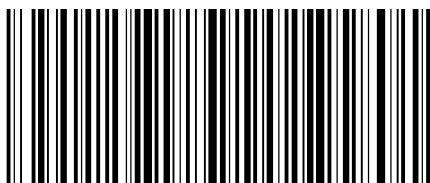
开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 9 千字

2009年5月第一版 2009年5月第一次印刷

印数 1—2 000

*

书号：155066·2-19648 定价 16.00 元



SN/T 2206.3—2009