**《化妆品微生物检验方法 ATP生物荧光增幅法（修订）》**

**编制说明**

1. **标准起草的基本情况（包括简要的起草过程、主要起草单位、起草人等）**
2. **项目背景**

2021年4月，中国香料香精化妆品工业协会发布T/CAFFCI 46-2021《化妆品微生物检验方法（定性）ATP生物荧光增幅法》团体标准，该标准规定了使用ATP生物荧光增幅法对化妆品中的微生物进行定性检验的方法，可实现化妆品中微生物的48小时定性检验。标准发布后，项目组持续对检验方法进行深入研究，基于常见微生物种类特征结合化妆品防腐体系特性，进一步开发了适合不同类型微生物快速生长的两种培养体系，建立了化妆品微生物ATP生物荧光增幅双培养体系检测方法，并开展了方法验证和方法适用性研究。该方法可实现化妆品中微生物的24小时定性检验，有利于进一步缩短微生物实验室检验及产品放行时间，降低化妆品企业的生产成本。

为进一步提高ATP生物荧光增幅检验方法的检测效率，推动新技术在化妆品微生物检验的应用，提升化妆品微生物安全控制水平，拟修订T/CAFFCI 46-2021《化妆品微生物检验方法（定性）ATP 生物荧光增幅法》，对新开发的化妆品微生物ATP生物荧光增幅双培养体系法的操作步骤、检验结果判定等内容进行标准化规范。

1. **主要起草过程**

2024年1月，中国食品发酵工业研究院有限公司作为立项申请单位向中国香料香精化妆品工业协会提出T/CAFFCI 46-2021《化妆品微生物检验方法（定性）ATP 生物荧光增幅法》团体标准的修订申请。

2024年4月17日，经中国香料香精化妆品工业协会初审并征求行业专家立项论证和审核，《化妆品微生物检验方法（定性）ATP 生物荧光增幅法》（修订）正式获批立项，并在协会官方网站进行了为期20日的公示。

2024年4月19日，中国食品发酵工业研究院有限公司作为立项单位，联合广州宝洁有限公司、联合利华（中国）有限公司、中国食品药品检定研究院、查士利华微生物应用技术（上海）有限公司、广州浪奇实业股份有限公司、上海创元化妆品有限公司、雅诗兰黛创新研发（中国）有限公司、北京大宝化妆品有限公司、水羊集团股份有限公司成立团体标准起草小组。

2024年4月-6月，标准起草小组编制了工作计划，在充分整理研究数据、收集国内外相关法律法规的基础上，经过多次深入研讨形成《化妆品微生物检验方法 ATP生物荧光增幅法》征求意见稿及其编制说明。

1. **起草单位与主要起草人**

主要起草单位：中国食品发酵工业研究院有限公司。

协作起草单位：广州宝洁有限公司、联合利华（中国）有限公司、中国食品药品检定研究院、查士利华微生物应用技术（上海）有限公司、广州浪奇实业股份有限公司、上海创元化妆品有限公司、雅诗兰黛创新研发（中国）有限公司、北京大宝化妆品有限公司、水羊集团股份有限公司。

主要起草成员：姚粟、刘吉泉、洪海军、葛媛媛、刘骥、翟磊、崔生辉、李婷、白飞荣、林雅芳、杨丽哲、刘艺茹、程晓丽、陈怡文、赖顺果、蔡俊松、沈颖、吴勇、王旭、李金、 张飞、刘爽、景宇、刘瑞娜、卢志敏、曾四立、姜彪、马紫英、丁霞、郑美铃、张廷志。

**二、国内外标准法规调研**

**1. 国外标准法规**

国际上，欧盟对化妆品中微生物的检验主要依据国际标准化组织（ISO）相关标准开展。《ISO 17516:2014 化妆品-微生物学限值》对各类别化妆品中的菌落总数、四种控制菌的检出水平进行了规定。化妆品中菌落总数、霉菌和酵母菌的检验方法主要依据《ISO 21149-2017 化妆品-微生物学-好氧嗜温菌的计数和检测》和《ISO 16212-2017 化妆品-微生物学-霉菌和酵母菌的计数》开展；四种控制菌的检验方法主要依据《ISO 21150:2015 化妆品-微生物学-大肠埃希氏菌的检测》、《ISO 22717:2015 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《ISO 18416:2015化妆品-微生物学-白色假丝酵母的检测》开展，上述ISO标准中推荐的检验方法均为传统培养法。美国对化妆品中菌落总数、霉菌和酵母菌的检验主要依据《美国药典 USP 61 非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法》开展；对化妆品中控制菌的检验主要依据《美国药典 USP 62 非无菌产品微生物限度检查：控制菌检查法》开展，其推荐检验方法也均为传统培养法。在ATP生物荧光增幅法上，2024年，美国药典发布了《美国药典 USP 73基于ATP生物发光的微生物学方法检测短效期产品中的污染》征求意见稿，该方法作为一种成熟的微生物快速检验方法，已被越来越多的标准采纳。

**2. 国内标准法规**

在我国，《化妆品安全技术规范》详细规定了化妆品中微生物的指标限值和检验方法，目前推荐的五项微生物检验方法均为传统培养方法，操作相对简单、有效且成本较低，但无法完全适应化妆品行业产能扩大、流通加速的发展需求。在微生物快速检测方法上，ATP生物荧光增幅法检测速度快，准确度高，已成熟应用于食品卫生、化妆品等领域的微生物快速筛查，2005年，我国原卫生部出台《卫生监督机构建设指导意见》要求省、市、地配置ATP生物荧光检测仪对食品加工工具等进行快速测定。2011年，原国家食品药品监督管理局发布《餐饮服务食品安全现场快速检测设备配备基本标准，国食药监食【2011】130号》，提出将ATP检测仪作为全国省、市、县三级餐饮服务食品安全现场快速检测基本配备设备，用于环境洁净度的快速检测。2018年，江苏省质量技术监督局发布《医疗机构普通物体表面洁净度ATP生物荧光检测规范》，规定使用ATP生物荧光检测法检测各级各类医疗机构普通物体表面洁净度。2021年，中国香料香精化妆品工业协会发布T/CAFFCI 46-2021《化妆品微生物检验方法（定性）ATP生物荧光增幅法》团体标准，该标准规定了使用ATP生物荧光增幅法对化妆品中的微生物进行定性检验的方法，可实现化妆品中微生物的48小时定性检验，但在当前化妆品全过程风险监管要求及行业高质量发展的现状下，仍需不断朝着化妆品中微生物检测的高效、快速方向发展，不断推动新技术检测效能升级。

**三、标准的制（修）订、起草原则及主要修订情况**

**1. 标准的修订、起草原则**

本标准起草过程中，主要依据《GB/T 1.1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》

《中华人民共和国药典》

**2. 修订内容**

本文件与T/CAFFCI 46-2021相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

（1）增加了“第二法 双培养体系法”（见标准文本第8章）；

（2）更改了原产品影响测试步骤为第一法“单培养体系法”产品影响测试步骤（见标准文本第7章，2021年版的附录A）；

（3）调整培养基和试剂具体成分及配制方法至附录B，并增加了TLE培养基（见标准文本附录B）。

**四、确定各项技术内容（如技术指标、参数、公式、试验方法、检验规则等）的依据（与国际相关标准的对比情况，与国际标准不一致的，应当提供科学依据）**

1. **方法建立**

基于ATP生物荧光增幅法可行性研究结果，结合不同微生物菌株生长特性，优化培养温度、培养基pH值、营养成分等条件，开发了可实现细菌和真菌快速生长的两种培养体系，建立了ATP生物荧光增幅24h检测方法，即双培养体系法。该方法细菌富集培养条件为培养温度为32.5 ℃，培养基为MTAT培养基；真菌富集培养条件为培养温度为25 ℃，培养基为TLE培养基。在两种富集体系培养液中分别加入15 g玻璃珠置于线性摇床振荡破壁30min后，各取25 μL破壁后的培养液制备成混合样品，采用全自动荧光光度计检测系统上机检测。

1. **方法验证**

参照《中国药典（2020版）》药品微生物检验替代方法验证指导原则中定性检验方法的验证要求，开展ATP生物荧光增幅双培养体系法与《化妆品安全技术规范》中菌落总数、霉菌和酵母菌总数、耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌5种标准检验方法的部分等效性研究。

1. **专属性：**通过测定所用培养基的促生长能力以及人工污染样品评价专属性。代表菌株在本方法培养体系中生长良好，且供试样品的存在对检测结果无显著影响，表明该方法的专属性良好。
2. **检测限：**配制不同浓度的菌悬液并接种于供试样品中，分别使用本方法和《化妆品安全技术规范》中微生物检验方法进行检测，检测限验证至少重复进行5次。结果显示，该方法检测限显著优于《化妆品安全技术规范》菌落总数、霉菌和酵母菌总数、耐热大肠菌群、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌检验方法。
3. **重现性：**将试验菌株按照产品目标浓度10~100 CFU/g接种于同批次样品中，在三家实验室开展实验室间比对实验。结果表明各实验室检测结果无显著差异，证明该方法的重现性良好。
4. **耐用性：**通过调整TLE培养基的pH值来考察ATP生物荧光增幅双培养体系法的耐用性，结果表明，不同pH值的TLE培养基的荧光信号值均符合方法检测的要求，且富集培养后的微生物样品检测结果均为阳性，证明该方法耐用性良好。
5. **方法适用性研究**

依据《化妆品监督管理条例》和《GB/T 18670化妆品分类》原则，收集了涵盖不同产品类型、功能宣称、作用部位、产品剂型、使用人群等20个国内外品牌的51种市售化妆品产品，采用本标准方法开展适用性研究。结果表明ATP生物荧光增幅双培养体系法在化妆品中微生物污染样品的快速筛查方面具有良好适用性。

**五、征求意见的采纳情况（附《征求意见汇总处理表》、重大意见分歧的处理结果和依据）**

无

**六、标准实施日期和实施建议**

无

**七、其他需要说明的事项（含涉及专利情况说明）**

专利说明：无