

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2552.11—2010

乳及乳制品卫生微生物学检验方法 第 11 部分：蜡样芽孢杆菌的分离与计数

Microbiological examination for milk and milk products hygiene—
Part 11: Isolation and enumeration of *Bacillus cereus*

2010-05-27 发布

2010-12-01 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 2552《乳及乳制品卫生微生物学检验方法》分为十三个部分：

- 第1部分：取样指南；
- 第2部分：检验样品的制备与稀释；
- 第3部分：酵母、霉菌菌落计数；
- 第4部分：嗜冷菌微生物菌落计数；
- 第5部分：沙门氏菌检验；
- 第6部分：柠檬酸杆菌检验；
- 第7部分：阴沟肠杆菌检验；
- 第8部分：普通变形杆菌和奇异变形杆菌检验；
- 第9部分：克雷伯氏菌检验；
- 第10部分：阪崎肠杆菌检验 免疫荧光法；
- 第11部分：蜡样芽孢杆菌的分离与计数；
- 第12部分：单核细胞增生李斯特氏菌检测与计数；
- 第13部分：假单孢菌属的分离计数。

本部分是SN/T 2552的第11部分。

本部分按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本部分参照了ISO 7932《食品和动物饲料微生物学 疑似蜡样芽孢杆菌计数水平方法 30℃菌落计数技术》(ISO 7932 Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus*—Colony-count technique at 30 degrees C)和美国FDA《细菌分析手册 第14章 蜡样芽孢杆菌》(Bacteriological Analytical Manual—chapter 14 *Bacillus cereus*)。

本部分由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：中华人民共和国吉林出入境检验检疫局、中国检验检疫科学研究院。

本部分主要起草人：王振国、罗雁非、蔡阳、赵贵明、刘金华。

乳及乳制品卫生微生物学检验方法

第 11 部分:蜡样芽孢杆菌的分离与计数

1 范围

SN/T 2552 的本部分规定了乳及乳制品中蜡样芽孢杆菌的分离与计数方法。
本部分适用于乳及乳制品中蜡样芽孢杆菌的分离与计数。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件,凡是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。

SN/T 2552.1 乳及乳制品卫生微生物学检验方法 第 1 部分:取样指南

SN/T 2552.2 乳及乳制品卫生微生物学检验方法 第 2 部分:检验样品的制备与稀释

SN/T 1538.2—2007 培养基制备指南 第 2 部分:培养基性能测试实用指南

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

蜡样芽孢杆菌 *Bacillus cereus*

一种需氧革兰氏阳性芽孢杆菌,普遍存在于土壤、蔬菜及生品和熟品食物中,繁殖能力强,它是导致食物中毒的常见致病微生物。

4 原理

4.1 利用蜡样芽孢杆菌不发酵甘露醇和产生卵磷脂的特性,在 MYP 平板上形成典型菌落进行分离。

4.2 利用蜡样芽孢杆菌的溶血特性,接种绵羊血琼脂平板进行二次筛选。

4.3 将疑似菌落纯化后初步进行生化确证,鉴定到蜡样芽孢杆菌群。

4.4 通过群内生化鉴别,鉴定到蜡样芽孢杆菌种。

4.5 按确证为阳性的蜡样芽孢杆菌数计算每克或每毫升样品中的蜡样芽孢杆菌数。

5 培养基和试剂

5.1 甘露醇卵黄多粘菌素 B 琼脂(MYP):见附录 A 第 A.1 章。

5.2 绵羊血琼脂:见附录 A 第 A.2 章。

5.3 营养琼脂(NA):见附录 A 第 A.3 章。

- 5.4 酚红葡萄糖肉汤:见附录 A 第 A.4 章。
- 5.5 硝酸盐肉汤:见附录 A 第 A.5 章。
- 5.6 酪氨酸琼脂:见附录 A 第 A.6 章。
- 5.7 溶菌酶肉汤:见附录 A 第 A.7 章。
- 5.8 改良培养基:见附录 A 第 A.8 章。
- 5.9 改良 VP 培养基:见附录 A 第 A.9 章。
- 5.10 动力试验培养基:见附录 A 第 A.10 章。

6 设备和材料

- 6.1 干燥灭菌(烘箱)和湿热灭菌(高压灭菌器)设备。
- 6.2 拍打式均质器。
- 6.3 水浴箱:45℃±2℃。
- 6.4 温度计:量程 1℃~55℃,分刻度 0.1℃。
- 6.5 培养箱:30℃±1℃和 35℃±1℃。
- 6.6 干燥橱或烘箱:37℃±1℃和 55℃±1℃。
- 6.7 pH 计:要求在 25℃时精确校准到±0.1 pH 单位。
- 6.8 吸管:10 mL 和 1.0 mL,分刻度分别为 0.5 mL 和 0.1 mL。
- 6.9 “L”型玻璃涂布棒:直径 3.5 mm,长 20 cm,一端 3 cm 处有直角的玻璃或塑料棒;切面端应平滑。
- 6.10 接种环:3 mm 直径。
- 6.11 天平:量程 2 000 g,灵敏度 0.1 g。
- 6.12 灭菌样品处理器具:取样勺、剪刀、开罐器。
- 6.13 样品稀释瓶:100 mL,125 mL,150 mL,250 mL 和 2 L 样品稀释瓶。
- 6.14 平皿:小规格(直径为 90 mm~100 mm)和(或)大规格(直径为 140 mm)的平皿。
- 6.15 厌氧罐或能够提供相同厌氧培养条件的仪器或设备。

7 蜡样芽孢杆菌检验方法

7.1 方法提要

乳及乳制品中蜡样芽孢杆菌是通过选择性分离、生化鉴定等方法对乳及乳制品中可能存在的蜡样芽孢杆菌进行定性和定量的检验。

7.2 检验程序

蜡样芽孢杆菌检验程序见图 1。

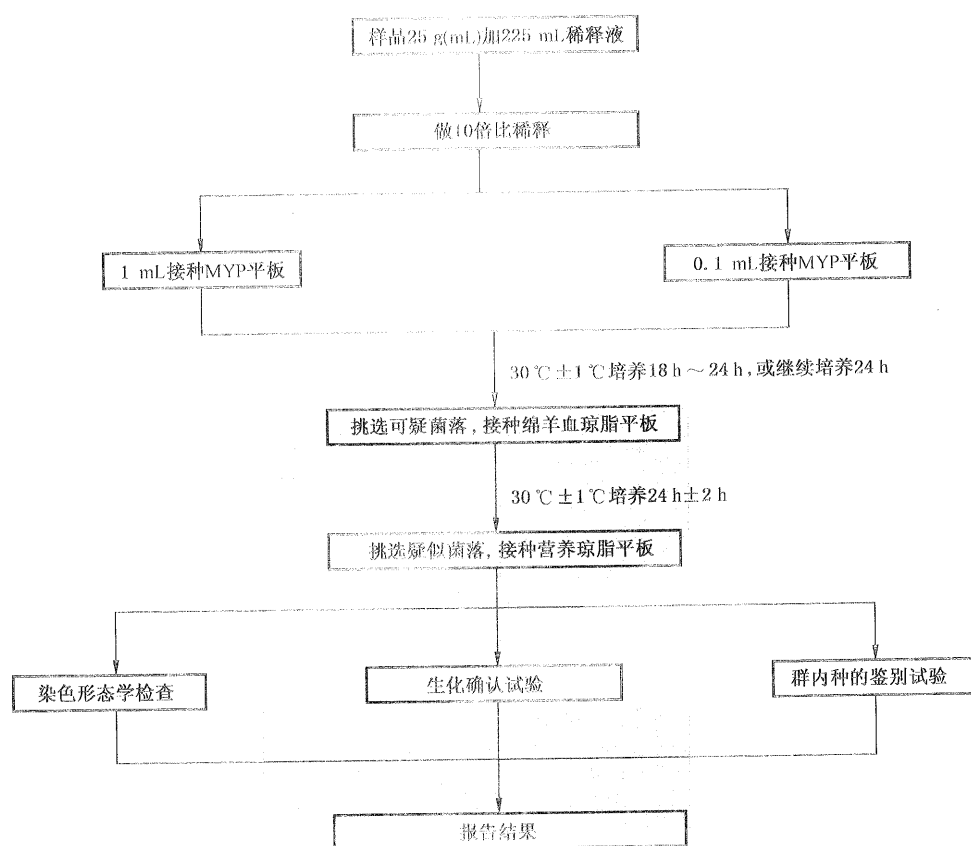


图1 蜡样芽孢杆菌检验程序

8 检验步骤

8.1 取样按照 SN/T 2552.1 执行。无菌称取样品 25 g 加入到适当的样品稀释容器中,加入 225 mL 灭菌蒸馏水(1:10 稀释),或者将样品直接称量到装有灭菌蒸馏水的样品稀释容器中,振荡或拍打使样品充分混匀。混合均匀后,取 10 mL 悬浮液于 90 mL pH7.4 缓冲盐水中(1:100 稀释),必要时采用相同方法进一步 10 倍比稀释。其他乳制品在制样时按照 SN/T 2552.2 执行。

8.2 取 2 个 MYP 平板。分别加 0.1 mL 液态检测样品,或 0.1 mL 其他形态样品的初始稀释液。根据样品的污染程度进行适当的稀释。

8.3 对于特定的产品,估计出最低的蜡样芽孢杆菌污染量。通过将 1.0 mL 液体样品或 1.0 mL 其他形态样品的初始稀释液涂布到大的培养皿(140 mm)或分散涂布到 3 个小培养皿(90 mm)来提高样品检测浓度。在这两种情况下,需要准备 2 个大培养皿或 6 个小培养皿。

8.4 将样品液涂布整个琼脂表面,避免接触平皿的边缘。每个平板应用一个新的灭菌涂布棒。平板室温静置 15 min,使样品液被吸入琼脂内。

8.5 待表面干燥后翻转平板于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h~24 h。如果菌落特征不明显,继续培养 24 h。

8.6 平板的计数和菌落选择:培养结束,选取含有 150 个菌落以内的连续两个稀释度的平板。计数每个平板上的疑似菌落。疑似菌落为大的、粉红色(表明不发酵甘露醇,见注 1)周围有粉红色晕环(表示产生卵磷脂酶,见注 2)。

如果未稀释或最低稀释度的平板上典型和非典型菌落的个数少于 15,按照第 9 章进行估计。

注 1: 如果平板上有许多产酸的甘露醇发酵菌落,将导致蜡样芽孢杆菌的粉红色菌落特征减弱或消失。

注 2: 一些蜡样芽孢杆菌仅产生很少或不产生卵磷脂酶。这些菌落周围没有晕。这些菌落也应进行确认试验。

如果 1.0 mL 接种物在 3 个平板上均为蔓延生长,记为 1 个菌落进行确认试验。

8.7 菌落的选择和纯化:从 8.6 选取的每个平板上分别取 5 个疑似菌落。如果一个平皿上少于 5 个典型或疑似菌落,则取所有典型的或疑似的菌落做确认。这些菌落的确认见 8.9 和 8.10。

如果平板上菌落过于拥挤而无法选取分离良好的菌落,取 5 个疑似菌落接种整个培养基(A.1.4),于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中培养 18 h~24 h。从每个平板上至少选取一个粉红色菌落,按照 8.8 进行确认。

8.8 将选择的菌落采用划线、穿刺绵羊血琼脂, $30\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $24\text{ h}\pm 2\text{ h}$ 后观察溶血现象。蜡样芽孢杆菌溶血阳性。

8.9 蜡样芽孢杆菌生化确认试验:将 MYP 和溶血试验阳性菌落接种营养斜面进行纯培养, $30\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $24\text{ h}\pm 2\text{ h}$ 。

- a) 厌氧条件下葡萄糖发酵试验:接种培养物于 3 mL 酚红葡萄糖肉汤,厌氧条件下 $35\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $24\text{ h}\pm 2\text{ h}$ 。振动试管,阳性结果会出现红色到橘黄或黄色的改变;
- b) 硝酸盐还原试验:接种培养物于 5 mL 硝酸盐肉汤。 $35\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $24\text{ h}\pm 2\text{ h}$,向每个培养管中加入试剂 A 和 C(见附录 A 第 A.5 章)各 0.25 mL。10 min 内出现橙色反应为阳性;
- c) VP 试验:接种培养物于 5 mL 改良 VP 培养基, $35\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $48\text{ h}\pm 2\text{ h}$ 。向 1 mL 培养物中加入 0.6 mL 的 α -萘酚溶液和 0.2 mL 的 40% 氢氧化钾溶液。振荡,然后加入肌氨酸粉末。室温放置 1 h,出现粉红色为阳性;
- d) 酪氨酸利用试验:接种培养物于酪氨酸琼脂斜面, $35\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $48\text{ h}\pm 2\text{ h}$ 。酪氨酸被利用没有生长现象,而阴性管培养 7 d 仍然有明显生长现象;
- e) 溶菌酶抗性试验:接种培养物于含 0.001% 溶菌酶肉汤, $35\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $24\text{ h}\pm 2\text{ h}$ 。出现细菌生长现象为阳性。

上述特征为蜡样芽孢杆菌群所共有,该菌群包括根状生长的蕈状芽孢杆菌,产晶体的昆虫致病菌苏云金芽孢杆菌和哺乳动物致病菌炭疽芽孢杆菌。这些菌株可以通过种特异性同蜡样芽孢杆菌区别开来。群内种的鉴别见 8.10。

8.10 群内种的鉴别如下:

- a) 运动性试验:穿刺接种培养物于动力试验培养基。 $30\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h~24 h 观察沿穿刺线生长情况。有运动性成分散性生长。无运动性沿穿刺线生长。多数蜡样芽孢杆菌和苏云金芽孢杆菌具有运动性。少数蜡样芽孢杆菌不具有运动性;
- b) 根状生长试验:向 15 mm×100 mm 平皿内倾注 18 mL~20 mL 营养琼脂,室温干燥 1 d~2 d。向每个平板中心接种一环经 24 h 培养的培养物悬液。让培养物吸收后 $30\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h~72 h,检查根状生长情况。蜡样芽孢杆菌呈粗糙山谷状生长,同蕈状芽孢杆菌的根状生长相区别;
- c) 溶血试验:结果参见溶血试验,蜡样芽孢杆菌为 β 溶血,多数苏云金芽孢杆菌和蕈状芽孢杆菌也为 β 溶血,炭疽芽孢杆菌培养 24 h 后不溶血;
- d) 蛋白质毒素晶体试验:向营养琼脂表面接种一环经 24 h 培养的培养物悬液, $30\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 后室温放置 2 d~3 d,然后制备玻片,空气干燥或火焰固定。将玻片浸入甲醇,30 s 后倾去甲醇,置火焰上干燥,再浸入 0.5% 碱性复红染料中。用火焰小心加热直至菌膜可见。放置 1 min~2 min 后,重复一遍上述步骤。放置 30 min 后倾去染料并用水冲洗干净。拭干玻片置油镜下观察有无游离芽孢和菱形(钻石样)结晶体。苏云金芽孢杆菌的 3 d~4 d 以上的培养物有大量的结晶体,但是只有在芽孢裂解通过上述染色方法才能见到。然而,除非见到芽孢,否则培养物应在室温继续放置几天以重新检查毒素晶体。蜡样芽孢杆菌和其他种均不产生蛋白质毒素晶体;
- e) 蜡样芽孢杆菌与类似菌的鉴别见表 1。

表 1 蜡样芽孢杆菌与类似菌的鉴别

生化特性	蜡样芽孢杆菌	苏云金芽孢杆菌	蕈状芽孢杆菌	炭疽芽孢杆菌	巨大芽孢杆菌
革兰氏染色	+ ^a	+	+	+	+
过氧化氢酶	+	+	+	+	+
运动性	+/- ^b	+/-	- ^c	-	+/-
亚硝酸盐还原	+	+/-	+	+	- ^d
酪氨酸利用	+	+	+/-	- ^d	+/-
溶菌酶抗性	+	+	+	+	-
卵黄反应	+	+	+	+	-
厌氧葡萄糖利用	+	+	+	+	-
VP	+	+	+	+	-
甘露醇产酸	-	-	-	-	+
溶血(绵羊 RBC)	+	+	+	- ^d	-
已知致病原/特点	产生肠毒素	毒素晶体,是昆虫致病原	树根状生长	对人和动物致病	
^a +,90~100%菌株阳性。 ^b +/-,50%菌株阳性。 ^c -,90~100%菌株阴性。 ^d -,多数菌株阴性。					

9 结果描述

9.1 计算方法

鉴定之后,计算每块平板得到鉴定的蜡样芽孢杆菌数量,按式(1)和式(2)计算:

$$a = \frac{b}{A} \times C \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- a ——每块平板蜡样芽孢杆菌数;
- A ——挑选的疑似菌落数(5个);
- b ——鉴定的阳性菌落数;
- C ——平板上疑似菌数。

$$N = \frac{\sum a}{V(n_1 + 0.1n_2)d} \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

- N ——样品中所含蜡样芽孢杆菌数;
- $\sum a$ ——所有保留平板上经过鉴定的蜡样芽孢杆菌数量之和;
- V ——每块平板接种液体积,以 mL 计;
- n_1 ——第 1 个稀释度保留平板的数量;
- n_2 ——第 2 个稀释度保留平板的数量;

d —— 稀释因子。

9.2 无菌落情况

如果检测样品(液体)或最初稀释度(固体)的两个平板没有任何疑似蜡样芽孢杆菌,结果记为:
蜡样芽孢杆菌数每毫升小于 1(液体产品);或每克小于 $1/d$ (其他产品)。

10 结果报告

菌落数在 100 以内,按其实有数报告;不小于 100 时,采用两位有效数字,在两位有效数字后面的数值,以四舍五入方法计算。为了缩短数字后面的零数,也可用 10 的指数来表示。报告每克(毫升)样品中的蜡样芽孢杆菌菌落数值,以 CFU/g 或 CFU/mL 表示。

附 录 A
(规范性附录)
培 养 基¹⁾

A.1 甘露醇卵黄多粘菌素(MYP)琼脂培养基

A.1.1 基础培养基

A.1.1.1 成分

牛肉提取物	4.3 g
酶解酪蛋白	8.6 g
D-甘露醇	2.6 g
氯化钠	38.7 g
酚红	9.6 g
琼脂	12 g~18 g ²⁾
水	900 mL

A.1.1.2 制法

将各种成分或完全脱水培养基加入蒸馏水中溶解。如有需要,可加热。如有需要,可调节 pH,使灭菌后 pH 值为 7.0 ± 0.2 。将 90 mL 培养基转移到适量的烧瓶中。121 °C 灭菌 15 min。

A.1.2 多粘菌素 B 溶液

A.1.2.1 成分

硫酸多粘菌素 B	10 ⁶ IU
水	100 mL

A.1.2.2 制法

用蒸馏水溶解多粘菌素 B,过滤除菌。

A.1.3 卵黄分散液

使用新鲜蛋壳完整的鸡蛋。用毛刷蘸取液态去污剂洗刷鸡蛋。用流水冲洗干净后浸入 95%(体积比)乙醇 30 s 并干燥。无菌操作打开蛋壳,通过反复用一半的蛋壳来回颠倒蛋黄并将其与蛋白分离开。将蛋黄放入无菌量筒内,加入 4 倍体积的无菌水。转入无菌三角烧瓶中并用力混匀。44 °C~47 °C 水浴加热混合物 2 h。然后 5 °C±3 °C 放置 18 h~24 h。无菌收集上层分散液。分散液 5 °C±3 °C 最多放置 72 h。

1) 为保证培养基的质量,宜按照 SN/T 1538.2 对培养基进行质量控制。

2) 依据琼脂胶的强度。

A. 1. 4 完全培养基(MYP 琼脂)

A. 1. 4. 1 成分

基础培养基(A. 1. 1)	90 mL
多粘菌素 B 溶液	1. 0 mL
卵黄分散液	10. 0 mL

A. 1. 4. 2 制法

溶解基础培养基,然后用 45 °C~47 °C 水浴冷却保温。添加其他液体成分并混合均匀。用 44 °C~47 °C 水浴冷却保温完全培养基。

A. 1. 5 制备琼脂平板

向灭菌的平皿内按 15 mL~20 mL 的量倾注平板,自然冷却。制好的平板可在 5 °C±3 °C 保存 4 d。

A. 1. 6 性能检测

见 SN/T 1538. 2—2007 附录 B。

A. 2 绵羊血琼脂

A. 2. 1 基础培养基

A. 2. 1. 1 成分

蛋白胨或蛋白胨等同物	15 g
肝水解物	2. 5 g
酵母提取物	5. 0 g
氯化钠	5. 0 g
琼脂	12 g~18 g ³⁾
水	1 000 mL

A. 2. 1. 2 制法

将各种成分或完全脱水培养基加入蒸馏水中溶解。如有需要,可加热。

如有需要,可调节 pH,灭菌后 pH 值为 7. 0±0. 2。

高压灭菌锅 121 °C 灭菌 15 min。

A. 2. 2 脱纤绵羊血

A. 2. 2. 1 完全培养基成分

基础培养基	100 mL
脱纤绵羊血	5. 0 mL~7. 0 mL

3) 依据琼脂胶的强度。

A.2.2.2 制法

向冷却至 44 °C~47 °C 的基础培养基中加入脱纤维羊血。向灭菌的平皿内至少倾注 12 mL 的量倾注平板,自然冷却。

A.3 营养琼脂(NA)

A.3.1 成分

肉浸出粉	3.0 g
蛋白胨	5.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	12 g~18 g
蒸馏水	1 000 mL

A.3.2 制法

将各成分加入蒸馏水中,加热煮沸,使各成分完全溶解,调节 pH 值 7.0 ± 0.2 。121 °C 灭菌 20 min 备用。

A.4 酚红葡萄糖肉汤

A.4.1 成分

3号蛋白酶酶解蛋白胨	10 g
氯化钠	5.0 g
牛肉提取物	1.0 g
葡萄糖	5.0 g
酚红(0.25%溶液 7.2 mL)	0.018 g
蒸馏水	1 000 mL

A.4.2 制法

按 2.5 mL 分装 13 mm×100 mm 管。118 °C 高压灭菌 10 min。最终 pH 为 7.4 ± 0.2 。

A.5 硝酸盐肉汤

A.5.1 成分

牛肉提取	3.0 g
蛋白胨	5.0 g
硝酸钾(不含亚硝酸盐)	1.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.5.2 制法

完全溶解上述成分。按 5 mL 分装 16 mm×125 mm 试管。121 °C 高压灭菌 15 min。最终 pH 为 7.0 ± 0.2 。

A.5.3 试剂 A

磺胺酸	1.0 g
5 mol/L 乙酸	125 mL

A.5.4 试剂 C

α -萘胺	1.0 g
5 mol/L 乙酸	200 mL

向 71.25 mL 蒸馏水中加入 28.75 mL 冰乙酸制备 5 mol/L 乙酸溶液。

A.6 酪氨酸琼脂

营养琼脂:见第 A.3 章。

酪氨酸溶液:在 20 mm×150 mm 试管中用 10 mL 蒸馏水溶解 0.5 g 酪氨酸。旋涡震荡溶解。121 °C 高压灭菌 15 min。

完全培养基:将酪氨酸溶液与 100 mL 营养琼脂混合。上下轻轻颠倒培养基容器混匀。按 3.5 mL 无菌分装 13 mm×100 mm 试管。摆成斜面冷却。

A.7 溶菌酶肉汤

A.7.1 营养肉汤

牛肉提取物	3.0 g
蛋白胨	5.0 g
蒸馏水	1 000 mL

加热溶解上述成分。按 99 mL 分装。121 °C 高压灭菌 15 min。冷却至室温使用。

A.7.2 溶菌酶溶液

用 65 mL 0.01 mol/L 的盐酸溶解 0.1 g 的溶菌酶,煮沸 20 min。加 0.01 mol/L 盐酸至 100 mL。或者用 100 mL 无菌水溶解 0.1 g 溶菌酶制成溶菌酶溶液。向灭菌的 99 mL 的营养肉汤中加入 1 mL 溶菌酶溶液。

A.8 改良培养基

A.8.1 成分

胰蛋白酶	10 g
酵母提取物	2.5 g
葡萄糖	5.0 g
磷酸氢二钠	2.5 g
琼脂	3.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.8.2 制法

加热溶解上述成分,按 100 mL 分装。121 °C 高压灭菌 15 min。无菌按 2 mL 分装 13 mm×100 mm

试管。室温储藏 2 d。

A.9 改良 VP 培养基

A.9.1 成分

蛋白酶酶解蛋白胨	7.0 g
氯化钠	5.0 g
葡萄糖	5.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.9.2 制法

加热溶解上述成分,按 5 mL 分装 20 mm×150 mm 试管。121 °C 高压灭菌 10 min,最终 pH,6.5±0.2。

A.10 动力试验培养基

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

加热溶解上述成分,调 pH 值至 7.3±0.1,按 3 mL 分装 15 mm×100 mm 试管。121 °C 高压灭菌 15 min。

中华人民共和国出入境检验检疫
行业 标 准
乳及乳制品卫生微生物学检验方法
第 11 部分:蜡样芽孢杆菌的分离与计数
SN/T 2552.11—2010

*

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

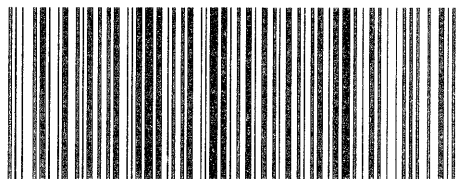
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 22 千字
2010 年 10 月第一版 2010 年 10 月第一次印刷
印数 1—1 600

*

书号: 155066·2-21213 定价 18.00 元



SN/T 2552.11—2010