

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4624.18—2021

入境环保用微生物菌剂检测方法 第 18 部分：短短芽孢杆菌

Test method of import microbe agentia in the environment protection –
Part 18: *Brevibacillus brevis*

2021-06-18 发布

2022-01-01 实施

中华人民共和国海关总署 发布

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。

本文件为 SN/T 4624《入境环保用微生物菌剂检测方法》的第18部分。SN/T 4624已经发布了以下部分：

- 第1部分：地衣芽孢杆菌
- 第2部分：短小芽孢杆菌
- 第3部分：巨大芽孢杆菌
- 第4部分：嗜酸氧化亚铁硫杆菌
- 第5部分： β 型溶血性链球菌
- 第6部分：金黄色葡萄球菌
- 第7部分：沙门氏菌
- 第8部分：志贺氏菌
- 第9部分：致泻大肠埃希氏菌
- 第10部分：淡紫拟青霉
- 第11部分：雅致小克银汉霉
- 第12部分：哈茨木霉
- 第13部分：黄孢原毛平革菌
- 第14部分：焦曲霉
- 第15部分：解淀粉芽孢杆菌
- 第16部分：类产碱假单胞菌
- 第17部分：恶臭假单胞菌
- 第18部分：短短芽孢杆菌
- 第19部分：红串红球菌
- 第20部分：泛养副球菌

本部分由中华人民共和国海关总署提出并归口。

本部分起草单位：中华人民共和国沈阳海关、二连浩特国际旅行卫生保健中心。

本部分主要起草人：王金玲、张莹、杨喜凤、罗力涵、李大力。

入境环保用微生物菌剂检测方法

第 18 部分 短短芽孢杆菌

1 范围

本文件规定了入境环保用微生物菌剂短短芽孢杆菌 (*Brevibacillus brevis*) 的形态学鉴定、生化鉴定、实时荧光 PCR 检测方法。

本文件适用于入境环保用微生物菌剂短短芽孢杆菌检测和鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文件的规范性引用而构成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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 短短芽孢杆菌分类地位

学名：*Brevibacillus brevis*。

分类地位：芽孢杆菌科 (Bacillaceae)，短短芽孢杆菌属 (*Brevibacillus*)。

5 方法原理

分离纯化菌株后，进行形态学鉴定、生化鉴定、实时荧光 PCR 检测，根据菌的形态特征结果、生化鉴定结果、实时荧光 PCR 特异性片段扩增结果，3 项结果都符合时判断该菌是否为目标菌株。

6 仪器设备

- 6.1 电子天平（感量 0.01 g）。
- 6.2 恒温培养箱：30 ℃ ± 1 ℃、50 ℃ ± 1 ℃。
- 6.3 恒温振荡培养箱：30 ℃ ± 1 ℃。
- 6.4 恒温水浴锅。
- 6.5 台式冷冻离心机（最高转速 15 000 r/min）。
- 6.6 PCR 扩增仪。
- 6.7 生物显微镜：10 × ~100 × 。

- 6.8 厌氧培养装置：30 ℃ ± 1 ℃。
- 6.9 微量移液器和灭菌吸头：10 μL、20 μL、200 μL、1 000 μL。
- 6.10 高压灭菌锅。
- 6.11 PCR 超净工作台。
- 6.12 电泳仪。
- 6.13 核酸 / 蛋白分析仪。
- 6.14 凝胶成像系统。
- 6.15 无菌培养皿：直径 90 mm。

7 主要试剂和培养基

- 7.1 实验用水（应符合 GB/T 6682 中一级水的规格）。
- 7.2 营养琼脂：按附录 A 中 A.1 配制。
- 7.3 营养肉汤：按附录 A 中 A.2 配制。
- 7.4 革兰氏染色法相关试剂：按附录 A 中 A.3 配制。
- 7.5 芽孢染色法相关试剂：按附录 A 中 A.4 配制。
- 7.6 接触酶：按附录 A 中 A.5 配制。
- 7.7 氧化酶：按附录 A 中 A.6 配制。
- 7.8 糖发酵管（葡萄糖、木糖、L-阿拉伯糖、甘露醇）：按附录 A 中 A.7 配制。
- 7.9 硝酸盐还原：按附录 A 中 A.8 配制。
- 7.10 7% NaCl 生长：按附录 A 中 A.9 配制。
- 7.11 淀粉水解：按附录 A 中 A.10 配制。
- 7.12 明胶：按附录 A 中 A.11 配制。
- 7.13 TE 缓冲液（pH 值 8.0）：按附录 A 中 A.12 配制。
- 7.14 1%~3% 琼脂糖凝胶：按附录 A 中 A.13 配制。
- 7.15 25 mM EDTA：按附录 A 中 A.14 配制。
- 7.16 3 M 醋酸钠：按附录 A 中 A.15 配制。
- 7.17 dNTP：dATP、dTTP、dGTP、dCTP 配制。
- 7.18 TBE：按附录 A 中 A.16 配制。
- 7.19 *Taq* DNA 聚合酶。
- 7.20 细菌基因组 DNA 提取试剂盒。
- 7.21 琼脂糖。
- 7.22 溴化乙锭。
- 7.23 DNA 分子量标记：100 bp DNA ladder。

8 样品制备、培养

- 8.1 以无菌操作取 1 g (mL) 样品加入到 100 mL 生理盐水中混匀，移取 1 环菌连续划线接种 5 个营养琼脂平板，30 ℃ ± 1 ℃ 培养 18 h~24 h。取样过程中，在样品旁边放置 1 个营养琼脂平板作为空白对照。
- 8.2 挑取平板上 3~5 个菌落平坦、光滑，色泽白色，生长后期一般黄灰色的菌落进行形态学鉴定。
- 8.3 挑取符合形态学特征单菌落转营养琼脂平板纯培养，30 ℃ ± 1 ℃ 条件下培养 18 h~24 h；再从纯培养平板上挑取菌落接种营养肉汤，30 ℃ ± 1 ℃ 条件下 180 r/min 振荡培养 18 h~24 h。

9 形态学鉴定

9.1 培养性状

短短芽孢杆菌在营养琼脂上的菌落平坦、光滑，色泽白色，生长后期一般黄灰色。

9.2 形态特征

革兰氏染色及芽孢染色：将 8.2 中平板上的菌落做涂片进行革兰氏染色，将该平板在冰箱中放置 48 h 待形成芽孢后，进行芽孢染色，镜检。

短短芽孢杆菌为革兰氏阳性杆菌，菌体宽度 1.2 μm ~1.5 μm ，长度 2.0 μm ~5.0 μm ，内生孢子，芽孢不膨大，不形成伴胞晶体。

10 生化鉴定

也可选择生化鉴定试剂盒或全自动微生物鉴定系统等。

取 8.3 中菌液利用细菌微量生化鉴定管进行生化鉴定，每个生化管加入 100 μL 增菌肉汤。

短短芽孢杆菌生化特征见表 1。

表 1 短短芽孢杆菌生化特征

鉴定项目	短短芽孢杆菌
接触酶	+
氧化酶	+/-
厌氧生长	+
葡萄糖	+
木糖	-
L-阿拉伯糖	-
甘露醇	+
硝酸盐还原	+
50 $^{\circ}\text{C}$ 生长	+
pH 值 5.7 生长	-
7% NaCl 生长	+
淀粉水解	-
明胶液化	+

11 分子生物学检测

11.1 细菌模板 DNA 的提取

11.1.1 直接提取法

取 8.3 中菌液 1 mL 加到 1.5 mL 无菌离心管中，10 000 r/min 离心 2 min，尽量弃净上清液（如果

肉眼观察沉淀量不可见或较少时，可重复此步操作)。沉淀加入 TE 100 μL 、10 mg/mL 溶菌酶 100 μL ，37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 30 min，12 000 r/min 离心 2 min，沉淀加入 TE 缓冲液 600 μL 重悬，再加入 15 mg/mL 蛋白酶 K 25 μL ，55 $^{\circ}\text{C}$ 温育 1 h 后沸水浴 10 min，12 000 r/min 离心 5 min，取上清液保存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存以待检测。

11.1.2 有机溶剂提取法

取 8.3 中菌液 1 mL 加到 1.5 mL 无菌离心管中，10 000 r/min 离心 2 min，尽量弃净上清液（如果肉眼观察沉淀量不可见或较少时，可重复此步操作）。沉淀加入 TE 缓冲液 570 μL 重悬，然后加入 10 mg/mL 溶菌酶 100 μL ，37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 30 min，再加入 10 % SDS 30 μL ，65 $^{\circ}\text{C}$ 温育 10 min，加入等体积的酚混匀，12 000 r/min 离心 10 min，取上清液移入一新离心管中，重复一次，两次酚抽提后取上清液加等体积的酚 / 氯仿（1 : 1，体积比）混匀，12 000 r/min 离心 10 min，取上清液再移入一新离心管中，加等体积的无水乙醇，1/10 体积的 3 mol/L 乙酸钠，轻缓颠倒混匀，12 000 r/min 离心 10 min，弃上清液，沉淀用 500 μL 75 % 乙醇洗两次，离心管开盖室温放置数分钟使乙醇挥发，加入 100 μL 无菌水（预先加热至 65 $^{\circ}\text{C}$ 有利于 DNA 溶解），-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存以待检测。

11.1.3 试剂盒法

使用商品化的细菌基因组 DNA 提取试剂盒，具体提取操作参照说明书进行。

11.1.4 DNA 质量检测

用核酸 / 蛋白分析仪分别在 260 nm 和 280 nm 下测定 OD 值，用于实时荧光 PCR 反应的 DNA 纯度一般为 $1.6 \leq \text{OD}_{260}/\text{OD}_{280} \leq 2.0$ 。

$$\text{DNA 纯度} = \text{OD}_{260} / \text{OD}_{280}$$

$$\text{DNA 浓度 (mg/mL)} = 50 \times \text{OD}_{260}$$

11.2 实时荧光 PCR 鉴定

11.2.1 引物和探针序列

引物和探针序列见表 2。其中探针的 5' 端标记 FAM，3' 端标记 TAMRA。

表 2 引物和探针序列

鉴定菌名称	引物序列	探针序列
短短芽孢杆菌 cell wall protein precursor, gene GenBank AF424046.1	5'- GCGCCGCAAGTTTTGATT-3'	5'FAM-CTCAGGCGTTTAATAGG-TAMRA3
	5'- CACAATTCCCCGTTTTTCGT-3'	

11.2.2 实时荧光 PCR 反应体系

实时荧光 PCR 反应体系见表 3。

表 3 实时荧光 PCR 反应体系

试剂名称	实时荧光 PCR 反应体系
2.5 \times Real Master Mix	12.5 μL
正向引物 (10 pmol/ μL)	1 μL

表 3 (续)

试剂名称	实时荧光 PCR 反应体系
反向引物 (10 pmol/μL)	1 μL
探针 (5 pmol/μL)	1 μL
DNA 模板	2 μL (约 50 ng~200 ng)
50 × ROX Reference Dye*3	0.25 μL
ddH ₂ O	补充至 25 μL
注 1：反应体系中各试剂的量可根据具体情况或不同的反应总体积进行适当调整。 注 2：50 × ROX Reference Dye*3 荧光试剂仅在具有 ROX 校正通道的实时荧光 PCR 仪上进行扩增添加，否则用超纯水补足。 注 3：检测样品设置两个平行反应。	

11.2.3 实时荧光 PCR 反应参数

实时荧光 PCR 反应参数见表 4。

表 4 实时荧光 PCR 反应参数

循环	步骤	温度/℃	时间	内容
1	1	94	15 min	起始模板变性
40	2	94	3 s	PCR 循环中模板变性
	3	59	32 s	退火延伸
注 1：使用不同实时荧光 PCR 仪，可对参数作适当调整。 注 2：设置实时荧光 PCR 反应管荧光信号收集条件，应与探针标记的报告基团一致。具体设置方法可参照仪器使用说明书。				

11.2.4 实验对照的设置

11.2.4.1 阴性对照：非短短芽孢杆菌 DNA 为模板。

11.2.4.2 阳性对照：已知短短芽孢杆菌的 DNA 或含有待测基因序列的质粒为模板（参见附录 B）。

11.2.4.3 空白对照：设两个，一是提取 DNA 时设置的提取空白对照（以等体积水代替样品），二是实时荧光 PCR 反应的空白对照（以水代替 DNA 模板）。

11.2.5 实时荧光 PCR 扩增结果判定

11.2.5.1 对照结果

11.2.5.1.1 阴性对照：无扩增曲线。

11.2.5.1.2 阳性对照：出现典型的扩增曲线， C_t 值应 < 30.0 。

11.2.5.1.3 空白对照：无扩增曲线。

11.2.5.1.4 否则，检测视为无效。

11.2.5.2 结果判定

11.2.5.2.1 C_t 值大于等于 40.0，可判定该样品实时荧光 PCR 结果为阴性。

11.2.5.2.2 C_t 值小于等于 35.0，可判定该样品实时荧光 PCR 结果为阳性。

11.2.5.2.3 C_t 值大于 35.0 且小于 40.0, 建议重做。再次扩增后的外源基因 C_t 值仍小于 40, 且曲线有明显的对数增长期, 并且阴性对照、阳性对照和空白对照结果正常, 则可判定为阳性; 再次扩增后外源基因 C_t 值大于 40, 且阴性对照、阳性对照和空白对照结果正常, 可判定为阴性。

12 结果报告

12.1 形态学鉴定、生化鉴定、分子生物学检测结果均符合时, 报告检出短短芽孢杆菌。

12.2 形态学鉴定、生化鉴定、分子生物学检测有一项不符合时, 建议重做。仍有不符合时, 报告未检出短短芽孢杆菌。

以正式出版文本为准
行业标准信息服务平台

附 录 A
(规范性)
培养基和试剂

A.1 营养琼脂培养基

A.1.1 成分

蛋白胨	10 g
牛肉膏	3 g
氯化钠	5 g
琼脂	15 g~20 g
蒸馏水	1 000 mL

A.1.2 制法

将除琼脂以外的各成分溶解于蒸馏水内，加入 15 % 氢氧化钠溶液约 2 mL 校正 pH 值至 7.2~7.4。加入琼脂，加热煮沸，使琼脂溶化。分装烧瓶，121 °C 高压灭菌 15 min。

A.2 营养肉汤

A.2.1 成分

蛋白胨	10 g
牛肉膏	3 g
氯化钠	5 g
蒸馏水	1 000 mL

A.2.2 制法

将各成分溶解于蒸馏水内，加入 15 % 氢氧化钠溶液校正 pH 值至 7.2~7.4，加热煮沸，分装烧瓶，121 °C 高压灭菌 15 min。

A.3 革兰氏染色法相关试剂

A.3.1 结晶紫染色液

结晶紫	1 g
95 % 乙醇	20 mL
1 % 草酸铵水溶液	80 mL

将结晶紫溶解于乙醇中，然后与草酸铵溶液混合。

A.3.2 革兰氏碘液

碘	1 g
碘化钾	20 g
蒸馏水	300 mL

将碘与碘化钾先进行混合，加入蒸馏水少许，充分振摇，待完全溶解后，再加蒸馏水至 300 mL。

A.3.3 沙黄复染液

沙黄	0.25 g
95 % 乙醇	10 mL
蒸馏水	90 mL

将沙黄溶解于乙醇中，然后用蒸馏水稀释。

A.3.4 染色法

A.3.4.1 将涂片在火焰上固定，滴加结晶紫染色液，染色 1 min，水洗。

A.3.4.2 滴加革兰氏碘液，作用 1 min，水洗。

A.3.4.3 滴加 95 % 乙醇脱色，约 30 s；或将乙醇滴满整个涂片，立即倾去，再用乙醇滴满整个涂片，脱色 10 s。

A.3.4.4 水洗，滴加复染液，复染 1 min。水洗，待干，镜检。

A.3.5 结果

革兰氏阳性菌呈紫色。革兰氏阴性菌呈红色。

A.4 芽孢染色液相关试剂

A.4.1 5% 孔雀绿水溶液

孔雀绿	5 g
蒸馏水	100 mL

将孔雀绿加入蒸馏水少许，充分振摇，待完全溶解后，再加蒸馏水至 100 mL。

A.4.2 0.5% 沙黄水溶液

沙黄	0.5 g
蒸馏水	100 mL

将沙黄加入蒸馏水少许，充分振摇，待完全溶解后，再加蒸馏水至 100 mL。

A.5 接触酶

A.5.1 成份

3 % 过氧化氢溶液。

A.5.2 制法

挑取固体培养基上菌落一接种环，置于洁净试管内，滴加 3 % 过氧化氢溶液 2 mL，观察结果。

A.6 氧化酶

A.6.1 成份

A.6.1.1 1 % 盐酸二甲基对苯二胺溶液：少量新鲜配制，于冰箱内避光保存。

A.6.1.2 1 % α -萘酚 - 乙醇溶液。

A.6.2 制法

取白色洁净滤纸沾取菌落，加盐酸二甲基对苯二胺溶液一滴，阳性者呈现粉红色，并逐渐加深；

再加 α -萘酚溶液一滴，阳性者于半分钟内呈现鲜蓝色，阴性于两分钟内不变色。

以毛细吸管吸取试剂，直接滴加于菌落上，其显色反应与以上相同。

A.7 糖发酵管（葡萄糖、木糖、L-阿拉伯糖、甘露醇）

A.7.1 成份

牛肉膏	5 g
蛋白胨	10 g
氯化钠	3 g
磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	2 g
0.2 % 溴麝香草酚蓝溶液	12 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH 值	7.4

A.7.2 制法

葡萄糖发酵管按上述成分配好后，调节 pH 值至 7.4 ± 0.2 。按 0.5 % 加入葡萄糖，分装于有一个倒置小管的小试管内， $121\text{ }^\circ\text{C}$ 高压灭菌 15 min。

其他各种糖发酵管可按上述成分配好后，分装每瓶 100 mL， $121\text{ }^\circ\text{C}$ 高压灭菌 15 min。另将各种糖类分别配好 10 % 溶液，同时高压灭菌。将 5 mL 糖溶液加入于 100 mL 培养基内，以无菌操作分装小试管。

注：蔗糖不纯，加热后会自行水解者，应采用过滤法除菌。

A.7.3 试验方法

从琼脂斜面上挑取少量培养物接种，于 $36\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ 培养，一般观察 2 d~3 d。迟缓反应需观察 14 d~30 d。

A.8 硝酸盐还原

A.8.1 成份

硝酸钾	0.2 g
蛋白胨	5 g
蒸馏水	1 000 mL
pH 值	7.4

A.8.2 制法

溶液，校正 pH 值，分装试管，每管约 5 mL， $121\text{ }^\circ\text{C}$ 高压灭菌 15 min。

A.8.3 硝酸盐还原剂

A.8.3.1 甲液：将对氨基苯磺酸 0.8 g 溶解于 2.5 mol/L 乙酸溶液 100 mL 中。

A.8.3.2 乙液：将甲萘胺 0.5 g 溶解于 2.5 mol/L 乙酸溶液 100 mL 中。

A.8.4 试验方法

接种后在 $36\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ 培养 1 d~4 d，加入甲液和乙液各一滴，观察结果。硝酸盐还原为亚硝酸盐时立刻或于数分钟内显红色。

注：本试验阴性的原因有三：细菌不能还原硝酸盐；亚硝酸盐继续分解，生成氨和氮；培养基不适于细菌的生

长。如欲检查培养基中硝酸盐是否未被分解，可再加入锌粉少许，可使硝酸盐还原为亚硝酸盐而呈现红色。

A.9 7% NaCl 生长

A.9.1 成份

蛋白胨	10.0 g
牛肉膏	5.0 g
氯化钠	70 g
蒸馏水	1 000 mL

A.9.2 制法

将上述成分加热溶解，调节 pH 值至 7.4 ± 0.2 ，分装，每瓶 225 mL，121℃ 高压灭菌 15 min。

A.10 淀粉水解试验

A.10.1 成分

蛋白胨	5 g
牛肉膏	3 g
氯化钠	5 g
可溶性淀粉	20 g
琼脂	15 g
蒸馏水	1000 mL
pH 值	7.4

A.10.2 制法

用少量水先将可溶性淀粉溶解，其他成分溶化在蒸馏水中，校正 pH 值。115℃ 高压灭菌 15 min。

A.10.3 试验方法

将细菌划线接种于可溶性淀粉琼脂平板上，在 37℃ 培养 24 h。取出平板，在菌落处滴加碘液少许，观察。培养基呈深蓝色，说明淀粉未被水解，即淀粉酶阴性。能水解淀粉的细菌其菌落周围有透明的环（即淀粉酶阳性）。

A.11 明胶

A.11.1 成分

牛肉浸膏	3 g
蛋白胨	5 g
明胶	120 g
蒸馏水	1 000 mL
pH 值	7.0

A.11.2 制法

将前两种成分加热溶化到蒸馏水中，校正 pH 值。在 50℃ ~55℃ 缓慢加入明胶，边加边搅动，分装试管，每管 5 mL，115℃ 高压灭菌 15 min，制成高层。

A.11.3 试验方法

挑取 18 h ~24 h 待试菌培养物，大量穿刺接种明胶高层，36 °C 培养 7 d~14 d，每天观察结果，看是否液化，液化的为试验阳性。

A.12 TE 缓冲液 (pH 值 8.0)

A.12.1 成份

Tris 碱	1.21 g
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	1.86 g
去离子水	1 000 mL

A.12.2 制法

在 800 mL 去离子水中，依次加入以上成分，调节 pH 值至 8.0，用去离子水定容到 1 L，分装后 121 °C 高压灭菌 15 min。

A.13 1%~3% 琼脂糖凝胶

A.13.1 成份

琼脂糖	1~3 g
0.5 × TBE	100 mL

A.13.2 制法

在 100 mL 的 0.5 × TBE 中，加入琼脂糖，在微波炉中加热熔化。待溶液冷却至 60 °C 左右，灌注模具冷却形成。

A.14 25 mM EDTA

A.14.1 成份

Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	46.525 g
去离子水	1 000 mL

A.14.2 制法

在 800 mL 去离子水中，加入 Na₂EDTA · 2H₂O，充分搅拌，用 NaOH 调节 pH 值至 8.0，加去离子水定容到 1 L，分装后 121 °C 高压灭菌 15 min。

A.15 3M 醋酸钠

A.15.1 成份

NaAC · 3H ₂ O	40.8 g
去离子水	100 mL

A.15.2 制法

在 40 mL 去离子水中，加入 NaAC · 3H₂O，充分搅拌，用冰醋酸调节 pH 值至 5.2，加去离子水定

容到 100 mL，分装后 121 °C 高压灭菌 15 min。

A.16 TBE

A.16.1 成分

Tris	54.0 g
硼酸	27.5 g
去离子水	800 mL
0.5 mol/L EDTA (pH 8.0)	20 mL

A.16.2 制法

54.0 g Tris，27.5 g 硼酸，800 mL 去离子水溶解，20 mL 0.5 mol/L EDTA (pH 8.0) 定容至 1 L。

以正式出版文本为准
行业标准信息平台

附 录 B

(资料性)

短短芽孢杆菌基因序列 (GenBank AF424046.1)

1	cgtgagaatg	cgtaccaaaa	agctgttctg	acttacaacc	tggctgttgt	agcgtttgaa
61	actgcactgg	gtaactagcc	aaaaacaag	atttgaagc	tttgaatca	aattggaaaa
121	aggttcagtc	gtgacagccc	gccctgtgta	ccctataata	cgattgtggc	ggatgtcact
181	tegtacataa	ttgacaggtg	aataacgaac	cacgaaaaa	actttaattt	ttttcgaag
241	gcgccgcaac	tttgattcg	ctcaggcgtt	taataggatg	tcacacgaaa	aacggggaat
301	tgtgtaaaaa	agattcacga	attctagcag	ttgtgttaca	ctagtgattg	ttgcatttta
361	cacaatactg	aataactag	agatttttaa	cacaaaaagc	gaggctttcc	tgcgaaagga
421	ggtgacacgc	gcttcagga	ttcgggcttt	aaaaagaaag	atagattaac	aacaaatatt
481	ccccaagaac	aatttgttta	tactagagga	ggagaacaca	aggttatgaa	aaaggtcgtt
541	aacagtgtat	tggctagtgc	actcgcactt	actgttgcctc	ccatggcttt	cgetg

正式出版文本为准

行业标准信息平台

行业标准信息服务平台
以正式出版文本为准

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
入境环保用微生物菌剂检测方法
第 18 部分：短短芽孢杆菌
SN/T 4624.18—2021

*

中国海关出版社有限公司出版发行
北京市朝阳区东四环南路甲 1 号（100023）
编辑部：（010）65194242-7531
网址 www.customskb.com/book
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.25 字数 39 千字
2021 年 7 月第一版 2021 年 7 月第一次印刷
印数 1—500

*

书号：155175·326 定价 22.00 元



SN/T 4624.18—2021