DIN 38415-4:1999-12 (D)

Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Suborganismische Testverfahren (Gruppe T) - Teil 4: Bestimmung des erbgutverändernden Potentials mit dem Salmonella-Mikrosomen-Test (Ames Test) (T 4)

Inhalt

Seite

Vorwort 1

Einleitung 1

1 Anwendungsbereich 2

2 Normative Verweisungen 2

3 Definitionen 2

4 Grundlagen des Verfahrens 5

5 Störungen 5

6 Bezeichnung 5

7 Allgemeine technische Anforderungen 5
7.1 Qualifikation des Prüflabors 5
7.2 Geräte 5

8 Reagenzien, Lösungen, Medien 6
8.1 Allgemeines 6
8.2 Salzsäure 6
8.3 Natriumhydroxid-Lösung 6
8.4 Dimethylsulfoxid (DMSO) 7
8.5 Nährbouillon (en: Nutrient Broth) 7
8.6 Ampicillin-Lösung 7
8.7 Nährbouillon mit Ampicillin 7
8.8 Natriumhydrogenphosphat-Pufferlösung 7
8.9 Cofaktorenlösung 8
8.10 S9-Mix 8
8.11 Vogel-Bonner-E-Medium (50fach konzentriert) 8
8.12 Vogel-Bonner-Minimalagar-Platten 9
8.13 Nähragar-Platten 9
8.14 Selektionsagar-Platten mit Ampicillin 9
8.15 Gießen und Beschriften der Platten 9
8.16 Aminosäure-Lösungen für Weichagar 10
8.16.1 Allgemeines 10
8.16.2 Aminosäure-Lösung für Minimalagar zur Mutantenbestimmung 10
8.16.3 Aminosäure-Lösung für Komplettagar zur Titerbestimmung 10
8.17 Weichagar-Ansatz 10
8.17.1 Weichagar zur Mutantenbestimmung 10
8.17.2 Weichagar zur Titerbestimmung 11
8.18 Physiologische Natriumchlorid-Lösung 11
8.19 Positiv-Kontrollsubstanzen 11
8.20 Kaliumchlorid-Lösung 11

9 Testorganismen 12

10 Stammkultivierung 12

11 Herstellung der Bakteriensuspension 13
11.1 Bakteriensuspension für die Mutagenitätsbestimmung 13
11.2 Bakteriensuspensions-Verdünnung für die Titerbestimmung 13

12 Probenahme und Probenvorbereitung 13

13 Durchführung 14
13.1 Versuchsumfang 14
13.2 Vorbereitungen 14
13.3 Mutagenitätsprüfung 15
13.4 Titerbestimmung 15

14 Kolonienzählung und Auswertung 16
14.1 Zählung der Kolonien 16
14.2 Auswertung 16
14.3 Bewertungskriterien 16
14.4 Bestimmung des G EA-Wertes 16

15 Gültigkeitskriterien 18

16 Untersuchungsbericht 19

16 Ringversuchsergebnisse 21

Anhang A (informativ) Stoffwechselsystem (S9-Fraktion) 23
A.1 Induktion der Leberenzyme 23
A.2 Herstellung der S9-Fraktion 23

Anhang B (informativ) Prüfung des Genotyps 24
B.1 Ampicillin-Resistenz (pKM101) 24
B.2 Kristallviolett-Empfindlichkeit (deep rough) 24
B.3 UV-Empfindlichkeit (uvrB) 25
B.4 Histidinbedürftigkeit 25

Anhang C (informativ) Literaturhinweise 25

Anhang D (informativ) Erläuterungen 26