

Bestimmung des erbgutverändernden Potentials von Wasser- und Abwasserinhaltsstoffen mit dem *umu*-Test (DIN 38 415 - T 3)

1 Arbeitsgrundlagen

- DIN 38 402 - A11; Probenahme von Abwasser (Dezember 1995)
- DIN 38 402 - A30; Vorbehandlung, Homogenisierung und Teilung heterogener Wasserproben (Juni 1998)
- DEV L 1; Allgemeine Hinweise zur Planung, Durchführung und Auswertung biologischer Testverfahren (37. Lieferung 1997)
- DIN 38 415 - T3; Bestimmung des erbgutverändernden Potentials von Wasser- und Abwasserinhaltsstoffen mit dem *umu*-Test (Dezember 1996)
- DIN EN 27 027; Bestimmung der Trübung (März 1994)
- Unfallverhütungsvorschrift Biotechnologie (VBG 102) vom 01. Januar 1988
- Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie: Merkblatt M 002: Sichere Biotechnologie. Ausstattung und organisatorische Maßnahmen: Laboratorien.
- Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie: Merkblatt M 006: Sichere Biotechnologie. Eingruppierung biologischer Agenzien: Bakterien.
- AQS-Merkblätter
für die Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung
Herausgegeben von der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA)
Erich Schmidt Verlag GmbH & Co., Berlin 1991

Weitere Literatur siehe Abschnitt 11

2 Zweck

Das vorliegende Merkblatt enthält Ergänzungen und Hinweise für die praktische Durchführung des Verfahrens zur "Bestimmung des erbgutverändernden Potentials von Wasser- und Abwasserinhaltsstoffen mit dem *umu*-Test" nach DIN 38 415 - T3. Es legt außerdem verbindliche Maßnahmen zur analytischen Qualitätssicherung (AQS) und analytischen Qualitätskontrolle fest.

3 Probenahme

Für die Probenahme und den Transport sollten Gefäße aus Glas verwendet werden.

4 Probenkonservierung

Die nach Pkt. 3 erhaltene Probe soll bald nach der Entnahme getestet werden. Eine Konservierung darf nur durch Kühlen der Probe (0 - 5 °C) für ein bis zwei Tage erfolgen. Ist eine längere Probenaufbewahrung nicht zu vermeiden, kann die Probe bei ≤ -18 °C bis zu 2 Monate tiefgefroren werden. Es kann sinnvoll sein, die Probe nach Homogenisierung (s. 5.) in Teilproben tiefzufrieren. Glasgefäße können, bis zur Hälfte mit Probe gefüllt, in schräger Lage eingefroren werden.

Konservierungsmaßnahmen sind zu dokumentieren.

5 Probenvorbehandlung

- Tiefgefrorene Proben müssen vor der Weiterverarbeitung unbedingt vollständig aufgetaut werden, da Konzentrierungseffekte im Innern der Probe auftreten. Das Auftauen tiefgefrorener Proben kann z.B. in einem maximal 40 °C warmen Wasserbad erfolgen. Gelegentliches sanftes Schütteln der Probe wird empfohlen.
- Die elektrische Leitfähigkeit und der pH-Wert der unbehandelten Wasserprobe wird dokumentiert.
- Sind im Abwasser störende ungelöste Stoffe (grobe Bestandteile) enthalten, bleibt die Probe 1 Stunde stehen. Das überstehende Wasser wird für den Test verwendet.
- Eine Sterilfiltration der Probe ist in der Regel nicht notwendig und sollte vermieden werden.

6 Geräte

- Die Einhaltung der Inkubationstemperaturen (Wasserbad, Brutschrank, Mikrotestplatteninkubator) ist in regelmäßigen Abständen zu überprüfen und zu dokumentieren.
- Die Kalibrierung der Kolbenhubpipetten ist in regelmäßigen Abständen zu überprüfen.
- Die Kalibrierung von Photometer und Mikrotestplatten-Photometer mit Formazin ist in regelmäßigen Abständen zu wiederholen und zu dokumentieren.

7 Testbakterien

Bei der Durchführung des *umu*-Tests müssen grundsätzliche Arbeitsregeln der Mikrobiologie, besonders in bezug auf Ausstattung der Laborräume und des Arbeitsplatzes, sowie des sterilen Arbeitens im Umgang mit dem Bakterienstamm (Stammhaltung, ggf. Isolierung, Kultivierung, Überprüfung der Reinkultur etc.) beachtet werden. (Siehe Abschnitt 11.)

7.1 Rechtliche Bestimmungen

- Beim Teststamm handelt es sich um einen gentechnisch veränderten Organismus (GVO). *Salmonella typhimurium* mit einer stabilen Mutation im Gen *galE* ist ein zur Familie der Enterobacteriaceae zählendes Bakterium, das nach einer Stellungnahme der Zentralen Kommission für die biologische Sicherheit der Risikogruppe 1 zuzuordnen ist. [1]
- Mit den zuständigen Behörden der Länder ist zu klären, ob eine Anmeldung nach dem Bundesseuchengesetz erforderlich ist. [2]
- In jedem Fall ist vor Etablierung des Testverfahrens das nach dem Gentechnikgesetz vorgeschriebene Anmeldeverfahren für ein S1-Labor durchzuführen. Unter anderem sind der Betreiber, ein Projektleiter und ein Beauftragter für die biologische Sicherheit zu benennen, deren Sachkunde durch entsprechende Unterlagen nachgewiesen werden muß. [3, 4, 5, 6]
- Selbst die Vorratshaltung eines GVO stellt eine Arbeit im Sinne des Gentechnikgesetzes dar. Bei Arbeiten mit GVO ist eine Betriebsanweisung zu erstellen und sind die erforderlichen Aufzeichnungen zu führen.
- Zu den gesetzlichen Grundlagen siehe Abschnitt 11.

7.2 Stammhaltung

- Der vorgeschriebene Teststamm *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002 ist unter der Nr. 9274 bei der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) (siehe Anhang 2) hinterlegt.
- Das Bezugsdatum, die Art der weiteren Behandlung sowie die Aufbewahrungsbedingungen sind zu dokumentieren.
- Bei neu bezogenen Bakterien empfiehlt sich eine Genotypüberprüfung (s. Anhang B der Norm).

- Die Aufbewahrung der gentechnisch veränderten Organismen hat sachgerecht zu erfolgen.
- Eine längere Haltung auf Petrischalen ist nicht empfehlenswert. Der Teststamm ist bei mindestens -80 °C in einem Tiefkühlschrank oder in flüssigem Stickstoff über mehrere Jahre haltbar.
- Falls die Gültigkeitskriterien für die Positivkontrollen nicht mehr erfüllt werden, sollte ein neuer Teststamm bezogen werden.
- Die mit gentechnisch veränderten Mikroorganismen belasteten Testansätze sowie alle übrigen kontaminierten Abfälle und Materialien sind vor der Entsorgung bzw. dem Verbringen aus der Anlage thermisch oder chemisch zu inaktivieren.

7.3 Reagenzien

7.3.1 Ampicillin

- Die Zugabe kann, jeweils unter sterilen Bedingungen, direkt oder in gelöster Form erfolgen.
- Folgende Stammlösung wird hergestellt:
Ampicillin (Natrium-Salz) 500 mg/10 ml dest. H₂O

7.3.2 Positiv-Kontrollansätze

In einer Konzentration von 1 mg/ml 100 % DMSO sind die Stammlösungen von 4-NQO und 2-AA bei -20 °C mind. 2 Monate haltbar. Die jeweiligen Arbeitskonzentrationen werden am Testtag durch Verdünnung mit 30 % DMSO hergestellt.

7.3.3 Nährmedien und -zusätze

- Bei der Verwendung von Trypton bestimmter Hersteller kann es zu vermindertem Bakterienwachstum kommen. Bewährt hat sich das Bacto-Trypton der Fa. DIFCO. (Anhang 2)
- Zur Portionierung der S9-Fraktion wird die Lieferung im Eisbad aufgetaut, aufgeteilt und sofort wieder eingefroren. (Bezug bei Fa. Cytotest Cell Research) (Anhang 2)
- Für Testansätze mit S9-Medium werden zur Herstellung des 10fach-TGA-Mediums KCl und MgCl₂ zugesetzt; die Lösung wird trübe; es kann aber keine Beeinträchtigung des Wachstums festgestellt werden.

Anmerkung 1: *Derzeit werden in der Regel andere Substanzen als das im Anhang A der Norm angegebene PCB als Induktionsmittel verwendet. Das zur Induktion der Leberenzyme eingesetzte Reagenz ist zu dokumentieren.*

8 Durchführung

- Bei Einrichtung des Testsystems ist zu erproben, wie stark geschüttelt werden muß, um ein optimales Wachstum der Bakterien bzw. eine optimale Sensitivität der Positivkontrollansätze zu erreichen.
- Es ist darauf zu achten, daß die Mikrotestplatte stets gleichmäßig temperiert wird. Ein Temperaturgefälle (z.B. von innen nach außen) kann zu erheblichen Wachstumsunterschieden führen ("Wachstumsshift"). Zur Überprüfung ist eine gesamte Platte mit Negativkontrollansätzen für die Wasserprobe zu beschicken.
- Ein Muster für die Belegung einer Mikrotestplatte ist im Anhang aufgeführt.
- Bei stark gefärbten und/oder trüben Abwässern können bei der photometrischen Messung Lichtverluste durch Absorption eintreten. In diesem Falle ist für jede Verdünnungsstufe ein unbeimpfter Leerwertansatz mit Abwasser (Wasserblindwert) ebenfalls zu untersuchen. Wenn sich der Leerwert von den zugehörigen Blindwerten unterscheidet, ist der Blindwert abzuziehen.

9 Auswertung

- Bei der Berechnung der Induktionsraten und des Wachstumsfaktors ist darauf zu achten, daß die Extinktionswerte der Testansätze in bezug zu den Negativkontrollansätzen für Wasserproben (Vertiefungen G1 - G12 auf der Musterplatte im Anhang) gesetzt werden.
- Nur zur Berechnung des Wachstumsfaktors und der Induktionsrate des Positivkontrollansatzes werden die Extinktionswerte der Negativkontrollansätze für die Positivkontrollansätze (Vertiefungen H4 - H6 auf der Musterplatte im Anhang) eingesetzt.
- Sowohl für die beiden Negativkontrollansätze als auch für die Positivkontrollansätze (Vertiefungen H1 - H3 auf der Musterplatte im Anhang) sind für die E_{420} / E_{600} -Werte (Aktivität der β -Galaktosidase, s. Formel (3) unter Punkt 15 der Norm) Spannweitenkontrollkarten (Mittelwert und Standardabweichung) zu führen.
- Die Meßwerte sind auf 2 Nachkommastellen genau anzugeben. Für den G_{EU} -Wert ist auf eine Nachkommastelle zu runden.

Anmerkung 2: *Aufgrund der statistischen Auswertung einer Vielzahl von Ergebnissen aus F&E-Vorhaben [7, 8] und aus dem Ringtest kann abweichend von DIN 38 415 - T3 bei der Bewertung der Ergebnisse für ein erbgutveränderndes Potential statt dem in der o.g. Norm festgelegten Schwellenwert für die Induktionsrate von 1,5 (Kap. 15, Seite 14, letzter Abschnitt) der kleinste Wert von G angegeben werden, bei dem unter den Bedingungen des Verfahrens eine **Induktionsrate** < 1,3 gemessen wird. Dies ist im Protokoll zu vermerken.*

10 Dokumentation

Zur Dokumentation der Testdurchführung ist ein entsprechendes Testprotokoll (z.B. Muster, s. S. 11 und 12) anzufertigen.

11 Literatur

- [1] Stellungnahme der ZKBS (Zentrale Kommission für biologische Sicherheit) zur Einstufung von *Salmonella typhimurium* LT2-Stämmen und von *Salmonella typhimurium*-Stämmen mit stabilen Mutationen in den Genen *aroA*, *galE* oder *cya* und *crp* als Empfängerorganismen bei gentechnischen Arbeiten. Az.: 6790-10-42 vom Januar 1996.
- [2] Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung übertragbarer Krankheiten beim Menschen (Bundesseuchengesetz - BSeuchG) i.d.F.d. Bekanntm. vom 18.12.1979, zuletzt geändert 07.08.1996
- [3] Gesetz zur Regelung der Gentechnik (Gentechnikgesetz - GenTG) in der Neufassung vom 16.12.1993
- [4] Gentechnik-Sicherheitsverordnung (GenTSV) in der Neufassung vom 14.3.1995
- [5] Gentechnik-Aufzeichnungsverordnung (GenTAufzV) in der Neufassung vom 04.11.1996
- [6] Gentechnik-Verfahrensverordnung (GenTVfV) in der Neufassung vom 04.11.1996
- [7] Erprobung, Vergleich, Weiterentwicklung und Beurteilung von Gentoxizitätstests für Oberflächenwasser. Bundesministerium für Bildung und Forschung, Bonn 1996-1998
- [8] Bestimmung erbgutverändernder Stoffe in Abwasser-, Schlamm- und Sedimentproben sowie Validierung neuer und bereits etablierter Testverfahren.
Bayer. Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen, München 1994-1997
- [9] Adelman, S. & H. Schulze-Halberg (Hrsg.):
Arbeitsschutz in Biotechnologie und Gentechnik. Springer Verlag, Berlin 1996.
- [10] Birkenbeil, H.:
Einführung in die praktische Mikrobiologie. Laborbücher Biologie, Diesterweg-Salle-Sauerländer, Frankfurt/M und Aarau 1983.
- [11] Fries, R.:
Qualitätssicherung im bakteriologischen Labor. Enke Verlag, Stuttgart 1995.

Anhang 1

Muster für die Belegung und die Auswertung einer Mikrottestplatte

Belegung einer Mikrottestplatte mit 6 Proben (mit oder ohne S9):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	P1/ 1:1,5	P1/ 1:1,5	P1/ 1:1,5	P1/ 1:3	P1/ 1:3	P1/ 1:3	P1/ 1:6	P1/ 1:6	P1/ 1:6	P1/ 1:12	P1/ 1:12	P1/ 1:12
B	P2/ 1:1,5	P2/ 1:1,5	P2/ 1:1,5	P2/ 1:3	P2/ 1:3	P2/ 1:3	P2/ 1:6	P2/ 1:6	P2/ 1:6	P2/ 1:12	P2/ 1:12	P2/ 1:12
C	P3/ 1:1,5	P3/ 1:1,5	P3/ 1:1,5	P3/ 1:3	P3/ 1:3	P3/ 1:3	P3/ 1:6	P3/ 1:6	P3/ 1:6	P3/ 1:12	P3/ 1:12	P3/ 1:12
D	P4/ 1:1,5	P4/ 1:1,5	P4/ 1:1,5	P4/ 1:3	P4/ 1:3	P4/ 1:3	P4/ 1:6	P4/ 1:6	P4/ 1:6	P4/ 1:12	P4/ 1:12	P4/ 1:12
E	P5/ 1:1,5	P5/ 1:1,5	P5/ 1:1,5	P5/ 1:3	P5/ 1:3	P5/ 1:3	P5/ 1:6	P5/ 1:6	P5/ 1:6	P5/ 1:12	P5/ 1:12	P5/ 1:12
F	P6/ 1:1,5	P6/ 1:1,5	P6/ 1:1,5	P6/ 1:3	P6/ 1:3	P6/ 1:3	P6/ 1:6	P6/ 1:6	P6/ 1:6	P6/ 1:12	P6/ 1:12	P6/ 1:12
G	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
H	+K	+K	+K	-K	-K	-K	L	L	L	L	L	L

K = Negativkontrollansatz für Wasserproben

+K = Positivkontrollansätze (2-AA oder 4-NQO in DMSO)

-K = Negativkontrollansatz für die Positivkontrollansätze (DMSO)

L = Leerwert

P 1 - 6 / = Proben-Nr. und jeweilige Verdünnung (1 : x)

Anhang 1

Muster für die Belegung und die Auswertung einer Mikrotestplatte

Rohdaten

E600

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,279	0,270	0,276	0,272	0,271	0,270	0,278	0,287	0,283	0,312	0,311	0,316
B	0,253	0,272	0,269	0,278	0,274	0,284	0,295	0,290	0,288	0,305	0,308	0,310
C	0,288	0,274	0,275	0,293	0,281	0,272	0,292	0,291	0,287	0,311	0,302	0,336
D	0,276	0,278	0,281	0,287	0,287	0,283	0,331	0,306	0,312	0,330	0,339	0,327
E	0,350	0,343	0,320	0,367	0,367	0,353	0,361	0,345	0,343	0,350	0,361	0,352
F	0,347	0,336	0,338	0,341	0,351	0,349	0,355	0,359	0,349	0,351	0,358	0,340
G	0,364	0,369	0,358	0,363	0,369	0,353	0,353	0,353	0,342	0,347	0,342	0,352
H	0,296	0,302	0,310	0,341	0,331	0,325	0,031	0,031	0,031	0,032	0,031	0,031

E420

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,205	0,197	0,196	0,183	0,183	0,183	0,179	0,184	0,186	0,189	0,188	0,197
B	0,261	0,257	0,249	0,221	0,214	0,232	0,194	0,179	0,186	0,174	0,182	0,190
C	0,216	0,209	0,215	0,191	0,191	0,184	0,188	0,184	0,178	0,180	0,182	0,204
D	0,192	0,194	0,188	0,183	0,192	0,192	0,202	0,185	0,186	0,180	0,191	0,184
E	0,221	0,212	0,215	0,205	0,208	0,200	0,186	0,194	0,188	0,191	0,189	0,195
F	0,204	0,213	0,219	0,199	0,194	0,205	0,187	0,193	0,182	0,190	0,195	0,187
G	0,202	0,201	0,189	0,191	0,194	0,187	0,186	0,191	0,184	0,188	0,189	0,198
H	0,529	0,496	0,507	0,218	0,206	0,205	0,049	0,050	0,047	0,050	0,050	0,047

Anhang 1

Musterprotokoll

umu - Test nach DIN 38 415 T3

Inkubation ohne S9 Datum:

Kontrolle	Konz.	U			U MW	±	I.R.			I.R. MW	±	Vk	W MW	E420		E600		FNU
		Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3			Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3					MW	MW	MW	MW	
DMSO		0,55	0,52	0,53	0,53	0,01	1,02	0,98	1,00	1,00	0,02	2,1	1,00	0,161	0,301			
4-NQO	300 nM	1,81	1,65	1,64	1,70	0,10	3,40	3,09	3,08	3,19*	0,18	5,6	0,90*	0,462	0,272			
Negativkontrollen		0,46	0,45	0,43	0,44	0,01				1,00	0,03	3,0	1,00	0,143	0,324			320*
[Verd. stufe G]																		
Probe Nr. 1	1,5	0,63	0,62	0,60	0,62	0,01	1,43	1,41	1,36	1,40	0,03	2,4	0,75*	0,151	0,244			
GEU	1,5	0,56	0,56	0,56	0,56	0,00	1,26	1,27	1,28	1,27	0,01	0,4	0,74	0,134	0,240			
	6	0,53	0,53	0,54	0,53	0,01	1,20	1,20	1,24	1,21	0,02	1,8	0,78	0,134	0,252			
	12	0,50	0,50	0,52	0,51	0,01	1,13	1,13	1,18	1,15	0,03	2,5	0,87	0,143	0,282			
Probe Nr. 2	1,5	0,69	0,86	0,84	0,89	0,06	2,17	1,96	1,91	2,01	0,14	6,8	0,72	0,207	0,234			
	3	0,70	0,68	0,72	0,70	0,02	1,58	1,54	1,64	1,59	0,05	3,2	0,76	0,174	0,248			
GEU	6	0,55	0,50	0,53	0,53	0,02	1,25	1,14	1,21	1,20	0,05	4,5	0,80*	0,138	0,260			
	12	0,46	0,48	0,51	0,48	0,02	1,04	1,09	1,15	1,09	0,06	5,1	0,85	0,133	0,277			
Probe Nr. 3	1,5	0,65	0,66	0,68	0,66	0,02	1,48	1,50	1,55	1,51	0,04	2,4	0,76	0,165	0,248			
	3	0,54	0,57	0,56	0,56	0,01	1,23	1,29	1,27	1,27	0,03	2,4	0,77*	0,140	0,251			
GEU	3	0,53	0,52	0,50	0,52	0,01	1,21	1,18	1,15	1,18	0,03	2,8	0,80	0,135	0,259			
	12	0,47	0,49	0,51	0,49	0,02	1,06	1,12	1,16	1,11	0,05	4,1	0,88	0,140	0,285			
Probe Nr. 4	1,5	0,58	0,59	0,56	0,58	0,02	1,33	1,34	1,26	1,31	0,04	3,0	0,76*	0,143	0,247			
	3	0,52	0,56	0,57	0,55	0,02	1,19	1,27	1,29	1,25	0,05	4,2	0,78	0,140	0,255			
GEU	1,5	0,51	0,50	0,49	0,50	0,01	1,16	1,12	1,11	1,13	0,03	2,3	0,88	0,142	0,285			
	12	0,44	0,46	0,46	0,45	0,01	1,00	1,05	1,04	1,03	0,03	2,7	0,93	0,136	0,301			
Probe Nr. 5	1,5	0,54	0,52	0,58	0,55	0,03	1,23	1,19	1,31	1,24	0,06	4,9	0,95*	0,167	0,307			
	3	0,47	0,47	0,47	0,47	0,00	1,06	1,08	1,07	1,07	0,01	1,0	1,02	0,156	0,331			
GEU	1,5	0,42	0,46	0,45	0,44	0,02	0,94	1,05	1,01	1,00	0,05	5,4	0,98	0,141	0,319			
	12	0,45	0,42	0,46	0,44	0,02	1,01	0,96	1,03	1,00	0,04	3,5	1,00	0,143	0,323			
Probe Nr. 6	1,5	0,49	0,54	0,55	0,53	0,03	1,12	1,22	1,26	1,20	0,07	6,2	0,95*	0,163	0,309			
	3	0,48	0,45	0,49	0,48	0,02	1,10	1,03	1,12	1,08	0,05	4,2	0,97	0,151	0,316			
GEU	1,5	0,43	0,44	0,42	0,43	0,01	0,97	1,00	0,95	0,97	0,02	2,5	1,00	0,139	0,323			
	12	0,44	0,45	0,45	0,45	0,00	1,00	1,02	1,02	1,01	0,01	0,8	0,98	0,142	0,319			

Abk.: U Aktivität der β-Galaktosidase
 IR Induktionsrate
 W Wachstumsfaktor

MW Mittelwert
 ± Standardabweichung
 Vk Variationskoeffizient

GEU GEU-Wert
 FNU Formazine Nephelometric
 * Gültigkeitskriterium

Handzeichen: _____

Anhang 1

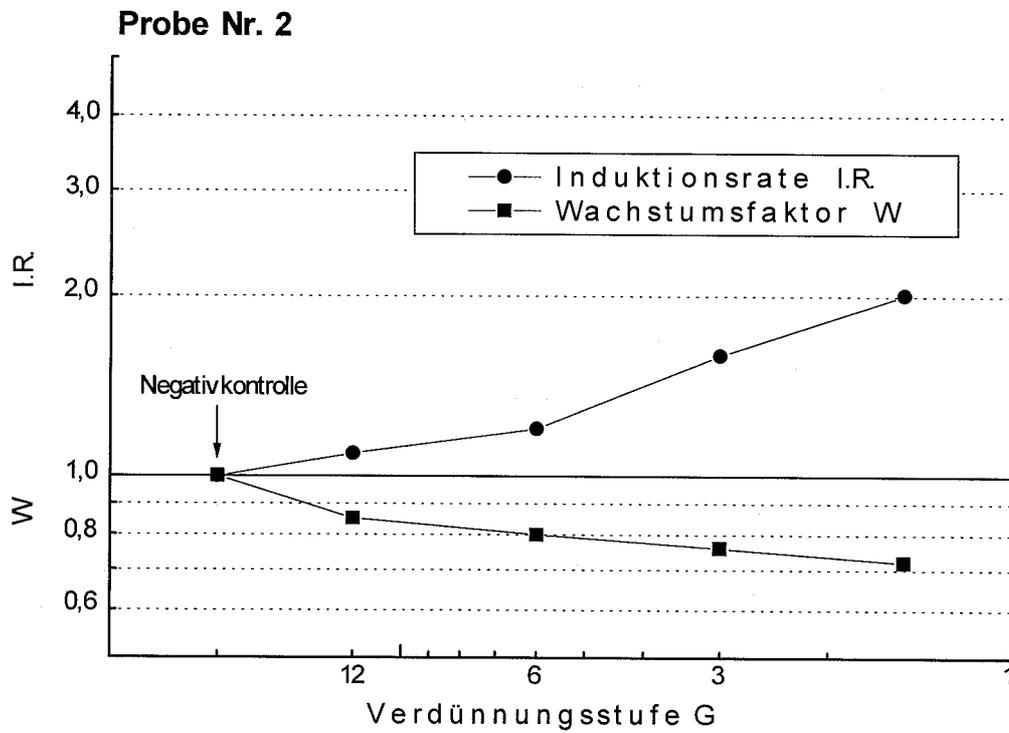


Abb. 1: Graphische Darstellung der Testergebnisse aus dem Musterprotokoll (S. 8) für Probe 2.

Anhang 2**Die Bezugsadressen sind u.a.:**

- Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ)
Mascheroder Weg 1b
38124 Braunschweig,
- Difco Laboratories GmbH
Ulmer Str. 160a
86156 Augsburg
- Cytotest Cell Research GmbH&Co. KG
In den Leppsteinwiesen 19
64374 Roßdorf

T E S T P R O T O K O L L (Mindestangaben)

umu-TEST nach DIN 38 415 - T3

Untersuchungsstelle

Angaben zur Probe:	
Probenahmestelle:	
Probennehmer:	Proben-Nummer:
Probenahme-Datum:	Probenahme-Uhrzeit:
Sonstige Angaben zur Probe (z.B. pH, Geruch, Trübung, Färbung, Osmolarität):	

Probenvorbehandlung:			
Konservierung der Probe:			Leitfähigkeit (mS/cm):
keine	gekühlt	eingefroren am:	aufgetaut am:
Homogenisierung der Probe durch:			pH-Wert:
			pH-Einstellung auf:
			pH-Einstellung mit:
Abgesetzt:		<input type="checkbox"/> nein	<input type="checkbox"/> ja

Bakterien:	
Bezugsquelle:	Bezugs-Datum:
	Datum der Genotypprüfung:
weitere Behandlung:	Aufbewahrungsbedingungen:

Angaben zu Mediumbestandteilen:

Übernachtkultur:			
Herstellung der Kultur:	Datum:	Uhrzeit:	Inkubationsdauer:
erreichte:	OD:	FNU:	Inkubationstemperatur: °C

Vorkultur:				
erreichte	OD:	FNU:	eingestellte FNU:	Inkubationsdauer:
				Inkubationstemperatur: °C

Referenzsubstanzen im DMSO:		
4-Nitrochinolin-1-oxid (4-NQO):	Ansatzdatum:	Konzentration der Stammlösung mg/l:
Aufbewahrungsbedingungen:		
2-Aminoanthracen (2-AA):	Ansatzdatum:	Konzentration der Stammlösung mg/l:
Aufbewahrungsbedingungen:		

TESTPROTOKOLL (Fortsetzung)

umu-TEST nach DIN 38 415 - T3

S9-Fraktion:	
Art des eingesetzten S9:	Bezugsquelle:
Chargennummer:	Induktionsreagenz:

Einstellung des Schüttlers für Mikrotestplatten	(U/min) :
--------------------------------------------------------	-----------

Photometer-Check:
Letzte Kalibrierung des Photometers für FNU am :
Letzte Kalibrierung des Mikrotestplatten-Photometers am :

Inkubator-Check:
Letzte Überprüfung der Testtemperatur im Inkubator am :
Letzte Überprüfung einer Kontrollplatte auf Wachstumsshift am :

Testdurchführung:

Datum: _____

Belegplan der Mikrotestplatte (s. Anhang)

Testauswertung:

- E_{600} und E_{420} -Meßwerte, tabellarische Zusammenstellung der Konzentrationen des Meßgutes, Mittelwerte der Inkubationsraten
- Wachstumsfaktoren, E_{600} und E_{420} -Werte, E_{420} / E_{600} -Werte, Standardabweichung
- Verfahrenskenndaten
- sonstige Effekte (z.B. Trübung, Löslichkeit, Ausfällung)

(s. Beispiel im Anhang)

Gültigkeitskriterien erfüllt: ja nein

Bemerkungen: _____

Inaktivierung und Entsorgung :

Maßnahme: _____ durchgeführt am: _____

Ergebnis: G_{EU}-Wert :

Datum, Unterschrift