МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
32376—
2013**

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Метод оценки обратных мутаций на бактериях

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным бюджетным учреждением здравоохранения «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора), Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский центр стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ» (ФГУП «ВНИЦСМВ») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии документа, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 18 октября 2013 г. № 60-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 805-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32376 —2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2014 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD Test № 471:1997 «Мутагенность: методы оценки обратных мутаций на бактериях» («Bacterial Reverse Mutation Test»)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Март 2019 г.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Стандартинформ, оформление, 2014, 2019

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Введение

Тест оценки обратных мутаций на бактериях проводят на зависимых от аминокислот штаммах Salmonella typhimurium и Escherichia coli для оценки точковых мутаций, возникающих вследствие замены пар оснований, вставки или делеции одной или нескольких пар оснований. Принцип метода — определение обратных мутаций у исследуемых штаммов, которые позволяют микроорганизмам синтезировать необходимую аминокислоту. Ревертантные бактерии выявляются по их способности расти на среде в отсутствие аминокислоты, необходимой для роста исходного штамма бактерии.

Точковые мутации — причина многих генетических заболеваний человека. Имеются убедительные данные, что точковые мутации в онкогенах и генах опухолевой супрессии соматических клеток вовлечены в процесс онкогенеза у человека и экспериментальных животных. Тест оценки обратных мутаций на бактериях не требует много времени, недорогой и относительно легок в исполнении. Многие тест-штаммы несут ряд изменений, которые делают их более чувствительными для выявления мутаций. Они включают: большую чувствительность последовательностей ДНК в сайтах реверсии, повышенную клеточную проницаемость, элиминацию систем репарации ДНК или повышение процесса склонной к ошибкам репарации ДНК. Специфичность тест-штаммов может дать полезную информацию по типам мутаций, индуцируемых генотоксическим агентом. Накопленные данные по результатам исследования широкого спектра структур показывают возможность использования метода оценки обратных мутаций на бактериях. Разработаны методики для исследования химических соединений с различными физико-химическими свойствами, включая летучие соединения.

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЯ ПО ВОЗДЕЙСТВИЮ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

Метод оценки обратных мутаций на бактериях

Testing of chemicals of human hazard. Bacterial reverse mutation test

Дата введения — 2014—08—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает порядок проведения испытания химических веществ в тесте оценки обратных мутаций на бактериях с применением прокариотных клеток, которые отличаются от клеток млекопитающих такими особенностями, как поступление, метаболизм, структура хромосомы и процессы репарации ДНК. Тестирования in vitro, как правило, требуют использование экзогенных источников метаболической активации. Системы метаболической активации in vitro не могут полностью имитировать условия метаболизма у млекопитающих in vivo. Таким образом, метод не дает прямой информации по мутагенному и канцерогенному потенциалу химического вещества в отношении млекопитающих.

Методы оценки обратных мутаций на бактериях обычно используются на начальном этапе скрининга генотоксической активности, в особенности индукции точковых мутаций. Имеющиеся многочисленные данные свидетельствуют о том, что большинство химических веществ, которые выявили мутагенный эффект в данном тесте, показывают мутагенную активность в других тестах. Имеются примеры мутагенных соединений, которые не были выявлены в данном тесте. Причина этого явления может быть объяснена специфической природой определяемого события, различиями в метаболической активации и биодоступности. С другой стороны, факторы, которые повышают чувствительность метода оценки обратных мутаций у бактерий, могут привести к переоценке мутагенного потенциала тестируемого соединения.

Метод оценки обратных мутаций у бактерий может не подходить для оценки определенных классов химических веществ, например, веществ с сильной бактерицидной активностью (некоторые антибиотики) или веществ, которые специфически воздействуют на систему репликации в клетках млекопитающих (ряд ингибиторов топоизомераз и ряд аналогов нуклеозидов). В таких случаях более адекватны тесты оценки мутагенности на млекопитающих.

Хотя многие соединения, которые показали мутагенный эффект в данном тесте являются канцерогенами для млекопитающих, корреляция между двумя видами эффектов не абсолютна. Это связано с классом химического вещества. Имеются канцерогены, которые не выявляются в данном тесте, поскольку они действуют через другие негенотоксические механизмы или эти механизмы отсутствуют в бактериальных клетках.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **метод оценки обратных мутаций у бактерий (Salmonella typhimurium и Escherichia coli)** (A reverse mutation test): Испытание, направленное на выявление мутации у штаммов бактерий, зависимых от аминокислот (гистидин или триптофан, соответственно) к штаммам бактерий не зависимых от наличия этих аминокислот в среде.

Издание официальное

2.2 **мутагены, вызывающие сдвиг рамки** (Frameshift mutagens): Соединения, которые приводят к вставке или делеции одной или более пар оснований ДНК, в результате чего меняется рамка считывания РНК.

2.3 **мутагены, приводящие к замене пары основания** (Base pair substitution mutagens): Соединения, которые приводят к замене пар оснований ДНК. В тесте оценки обратных мутаций это изменение может быть в сайте исходной мутации или в другом сайте бактериального генома.

3 Принцип метода

Суспензию бактериальных клеток экспонируют с исследуемым веществом в присутствии или отсутствии экзогенной системы метаболической активации. В методе введения вещества на чашку (plate incorporation method) эта суспензия смешивается с верхним агаром и выливается сразу на чашку с минимальной средой. В преинкубационном тесте смесь предварительно инкубируют, затем смешивают с верхним агаром и выливают на слой минимальной среды. При исследовании обоими методами после инкубации два-три дня подсчитывают колонии ревертантов и сравнивают с числом колоний ревертантов на чашке в контроле с растворителем.

Были описаны несколько методик оценки частоты обратных мутаций у бактерий. Среди них наиболее часто используются метод введения вещества на чашку, преинкубационный тест, флуктуационный тест и суспензионный метод.

Данный документ, преимущественно касается метода введения вещества на чашку и преинкубационного теста. Оба подходят для проведения экспериментов с метаболическими активациями и без них. Ряд веществ более эффективно исследовать в преинкубационном тесте. Эти вещества относятся к химическим классам, которые включают короткие цепи алифатических нитрозаминов, бивалентные металлы, альдегиды, азокрасители и диазосоединения, пиролизидиновые алкалоиды, аллилсодержащие соединения и нитросоединения. Также показано, что некоторые классы мутагенов не всегда выявляются при использовании стандартных процедур, таких как метод введения вещества на чашку и преинкубационный тест. Они должны быть рассмотрены как «особые случаи» и строго рекомендуется использование альтернативных методов для их определения. К таким «особым случаям» могут быть отнесены (вместе с перечнем методов, которые могут использоваться для их определения): азокрасители и диазосоединения, газообразные и летучие химические вещества и гликозиды. Отклонение от стандартной процедуры должно быть научно обосновано.

4 Описание метода

4.1 Материалы

4.1.1 Бактерии

Свежие культуры бактерий должны быть выращены до состояния поздней экспоненциальной или ранней стабильной фазы роста (приблизительно 10^9 клеток на 1 мл). Культуры в поздней стабильной фазе не используются. Необходимо, чтобы культуры, применяемые в эксперименте, содержали высокий титр жизнеспособных бактерий. Титр может быть установлен либо из ранее полученных данных кривой роста, либо в каждом опыте путем определения числа жизнеспособных клеток в экспериментальном посеве.

Рекомендуемая инкубационная температура 37 °С.

Необходимо использовать минимум пять штаммов бактерий. Они должны включать четыре штамма Salmonella typhimurium (ТА 1535; ТА 1537 или ТА 97, или ТА 97а; ТА 98; ТА 100), для которых показано, что они дают надежный и воспроизводимый ответ в разных лабораториях. Эти четыре штамма Salmonella typhimurium имеют GC пары оснований в первичном сайте реверсии. Это значит, что они не могут выявлять ряд окисляющих мутагенов, соединения, вызывающие перекрестные сшивки, и гидразины. Такие вещества могут быть обнаружены в опытах на Escherichia coli WP2 или Salmonella typhimurium ТА 102, у которых есть АТ пара оснований в первичном сайте реверсии.

Таким образом, рекомендуемая комбинация штаммов включает:

- Salmonella typhimurium ТА 1535;
- Salmonella typhimurium ТА 1537 или ТА 97, или ТА 97а;
- Salmonella typhimurium ТА 98;
- Salmonella typhimurium ТА 100;

- Escherichia coli WP2 uvrA или Escherichia coli WP2 uvrA (pKM101), или Salmonella typhimurium TA102.

Для определения мутагенов, вызывающих перекрестные сшивки, можно использовать штамм Salmonella typhimurium TA102 или профицитные по репарации штаммы Escherichia coli (например, Escherichia coli WP2 или Escherichia coli WP2 (pKM101)).

Необходимы стандартные процедуры для ведения, хранения и проверки генотипов исходных штаммов. Потребность аминокислоты для роста следует проверять для каждой замороженной исходной культуры (гиститин для Salmonella typhimurium и триптофан для Escherichia coli). Также должны быть проверены другие фенотипические характеристики: присутствие или отсутствие плазмид R-фактора для соответствующих штаммов (резистентность к ампицилину у штаммов TA 98, TA 100 и TA 97a или TA 97, WP2 uvrA и WP2 uvrA (pKM101) и резистентность к ампицилину + тетрациклину у штамма TA 102); присутствие специфических мутаций (rfa мутаций у штаммов Salmonella typhimurium по контролю чувствительности к кристалл-виолету и uvrA мутации у Escherichia coli или uvrB мутации у Salmonella typhimurium по контролю чувствительности. Также оценивается спонтанный уровень количества колоний ревертантов на чашку, который должен быть в пределах колебаний показателя в историческом контроле лаборатории и желательно в пределах колебания показателя по данным литературы.

4.1.2 Среды

Используются адекватные минимальный агар (например, содержащий Vogel-Bonner минимальную среду E и глюкозу) и верхний агар, содержащий гистидин и биотин или триптофан, позволяющий пройти бактериям несколько клеточных делений.

4.1.3 Метаболическая активация

Бактерии должны подвергаться воздействию испытуемого вещества в вариантах с присутствием и отсутствием системы метаболической активации.

Обычно применяется система, включающая кофакторы и постмитохондриальную фракцию печени крыс и грызунов, которым вводят активирующие ферменты соединения, такие как Ароклор 1254 или комбинацию Фенобарбитона и β-нафтофлавона. Постмитохондриальную фракцию обычно используют в диапазоне концентраций от 5 % до 30 % объема смеси S9.

Выбор и условия системы метаболической активации могут зависеть от класса испытуемого химического вещества. В некоторых случаях возможно использование более одной концентрации. Постмитохондриальные фракции обычно используются в пределах концентрации от 5 % до 30 % в объемном отношении в S9-mix. митохондриальной фракции. Для азокрасителей и диазосоединений может быть наиболее подходящим использование редуктивной системы метаболической активации.

4.1.4 Испытуемое вещество/подготовка препарата

Перед исследованием твердое испытуемое вещество должно быть растворено или суспендировано в подходящих растворителях или средах и разбавлено, если это необходимо. Жидкие испытуемые вещества можно добавлять непосредственно в тест-системы и/или разбавлять перед воздействием на бактерии. Следует использовать свежие препараты при отсутствии данных об их стабильности при хранении.

Растворитель/среда не должны вступать в химическую реакцию с испытуемым веществом и не должны влиять на выживаемость бактерий и активность S9. Если помимо стандартных используется другой растворитель/среда, необходимы данные об их совместимости. Рекомендуется, где возможно, применение воды в качестве раствора/среды. При исследовании нестабильных в воде веществ используемые органические растворители не должны содержать воду.

4.2 Условия испытания

4.2.1 Исследуемые концентрации веществ

Важными критериями, принимаемыми во внимание при определении максимального количества испытуемого вещества, являются цитотоксичность и растворимость в смеси. Рекомендуется в предварительном эксперименте определить токсичность и растворимость. Цитотоксичность может быть оценена по снижению числа колоний ревертантов на чашку, отсутствием или уменьшением фонового газона или степенью выживаемости обработанных культур. Цитотоксичность вещества может меняться в присутствии системы метаболической активации. Нерастворимость выявляется как преципитация в конечной смеси в реальных условиях, выявляемая невооруженным глазом.

Рекомендуемая максимальная концентрация для растворимых нецитотоксичных веществ 5 мг/чашка или 5 мкл/чашка. Для нецитотоксичных веществ, которые не растворимы в концентрациях 5 мг/чашка или 5 мкл/чашка, одна или более испытуемых концентраций должны быть нерастворимы

в конечной тестируемой смеси. Вещества, которые цитотоксичны в концентрациях менее 5 мг/чашка или 5 мкл/чашка, должны быть испытаны на цитотоксичную концентрацию. Вещества, цитотоксичные в концентрациях ниже 5 мг/чашка или 5 мкл/чашка должны быть тестированы в диапазоне до цитотоксической концентрации. Преципитат не должен мешать подсчету.

Как минимум 5 разных анализируемых концентраций испытуемого вещества должны использоваться приблизительно с шагом в половину log ($\sqrt{10}$) между тестируемыми точками для начального эксперимента. Меньшие интервалы могут быть использованы в тех случаях, когда исследуется зависимость «концентрация-эффект».

Исследование веществ с концентрацией выше 5 мг/чашка или 5 мкл/чашка может быть проведено, если тестируемые вещества содержат значительное количество потенциально мутагенных примесей.

4.2.2 Отрицательные и положительные контроли

Соответствующие штамм-специфичные положительные и отрицательные (растворитель/среда) контроли, как в присутствии метаболической активации так и без нее, должны быть включены в каждое исследование. Должны быть отобраны концентрации положительных контролей, которые показывают эффективность ответа соответствующего штамма бактерий и системы метаболической активации.

Для вариантов с использованием системы метаболической активации, соединение положительного контроля следует отбирать с учетом типа бактериального штамма.

Таблица 1 — Примеры веществ для положительного контроля в вариантах с метаболической активацией

Вещество	CAS №	EINECS №
9,10-диметилантрацен	781-43-1	212-308-4
7,12-диметилбенз[а]антрацен	57-97-6	200-359-5
Бензо[а]пирен	50-32-8	200-028-5
2-аминоантрацен	613-13-8	210-330-9
Циклофосфамид	50-18-0	
Циклофосфамид моногидрат	6055-19-2	200-015-4

Таблица 2 — Примеры штамм-специфичных соединений для положительного контроля в вариантах без метаболической активации

Вещество	CAS №	EINECS №	Штамм
Азид натрия	26628-22-8	247-852-1	TA 1535 и TA 100
2-нитрофлуарен	607-57-8	210-138-5	TA 98
9-аминоакридин	90-45-9	201-995-6	TA 1537, TA 97 и TA 97a
ICR 191	17070-45-0	241-129-4	TA 1537, TA 97 и TA 97a
Кумен гидропероксид	80-15-9	201-254-7	TA 102
Митомицин С	50-07-7	200-008-6	WP2 uvrA и TA 102
N-этил-N-нитро-N-нитрозогуанидин	70-25-7	200-730-1	WP2, WP2uvrA и WP2uvrA(pKM101)
4-нитрохинолин-1-оксид	56-57-5	200-281-1	WP2, WP2uvrA и WP2uvrA(pKM101)
Фурилфурамид (AF2)	3688-53-7		Плазмидосодержащие штаммы

Могут быть использованы для положительного контроля другие адекватные вещества. Использование других химических соединений, если такие имеются, из класса известных положительных контролей допустимо.

Должны быть включены отрицательные контроли с растворителем/средой без исследуемого вещества при введении тем же способом, что и экспериментальные варианты. К тому же отрицательные контроли при сравнении с контролем, полученным в предыдущих экспериментах, могут показать, что побочные или мутагенные эффекты не индуцированы выбранным растворителем.

4.3 Процедура тестирования

В методе введения вещества на чашку в варианте без метаболической активации обычно 0,05 мл или 0,1 мл раствора исследуемого вещества, 0,1 мл свежей бактериальной культуры (содержащей, приблизительно, 10^8 жизнеспособных клеток) и 0,5 мл стерильного буферного раствора смешивается с 2,0 мл верхнего агара. В варианте с метаболической активацией обычно 0,5 мл микросомальной активирующей смеси, содержащей адекватное количество постмитохондриальной фракции [в диапазоне от 5 % до 30 % (объем) общей микросомальной активирующей смеси] смешивается с верхним агаром (2,0 мл) вместе с бактериями и раствором исследуемого вещества. Содержимое каждой пробирки смешивается и выливается на чашку на поверхность минимального агара. Верхнему агару нужно дать затвердеть перед инкубацией.

В преинкубационном тесте раствор вещества предварительно инкубируют с опытным штаммом бактерий (содержащим, приблизительно, 10^8 жизнеспособных клеток) и стерильным буфером или микросомальной активирующей смесью (0,5 мл). Обычно смесь инкубируют в течение 20 мин или более при 30—37 °С перед смешиванием с верхним агаром и выливанием на поверхность минимального агара. Обычно, 0,05 или 0,1 мл раствора испытуемого вещества, 0,1 мл бактерий, и 0,5 мл смеси S9 или стерильного буферного раствора смешивается с 2,0 мл верхнего агара. Пробирки должны быть аэрированы во время преинкубации с помощью аппарата для встряхивания.

Для адекватной оценки изменчивости следует использовать для каждого уровня доз 3 чашки. Использование 2 чашек возможно, если научно обосновано. Случайная потеря чашки не обязательно делает опыт недействительным.

Газообразные или летучие вещества должны быть испытаны подходящими методами, например, в закрытом сосуде.

4.4 Инкубация

Все пластинки в эксперименте должны быть инкубированы при 37 °С в течение 48—72 ч. После инкубационного периода подсчитывают число колоний ревертантов на чашку.

5 Данные и отчет

5.1 Данные

5.1.1 Обработка результатов

Данные должны быть представлены как число колоний ревертантов на чашку. Должно быть приведено число колоний ревертантов на чашку как в вариантах с отрицательным (контроль с растворителем и, если используется, необработанный контроль), так и с положительным контролем.

Число колоний ревертантов на каждую чашку, среднее число колоний на чашку и стандартное отклонение приводятся для каждой дозы исследуемого вещества, положительного и отрицательного (необработанного и/или с растворителем) контролей.

Не требуется проверка четкого положительного результата. Сомнительные результаты следует уточнить в дальнейших исследованиях, используя модификацию условий тестирования. Отрицательные результаты нуждаются в подтверждении в каждом конкретном случае. Если подтверждение отрицательного результата не требуется, должно быть предусмотрено научное обоснование.

Модификация параметров исследования, направленная на расширение предела условий, должна проводиться в последующих экспериментах. Параметры исследования, которые могут быть модифицированы, включают: интервал концентраций, метод обработки (введение вещества на чашку или преинкубация в жидкости) и условия метаболической активации.

5.1.2 Оценка и интерпретация результатов

Существуют различные критерии для определения положительного результата, такие как зависимое от концентрации увеличение эффекта в исследуемом диапазоне концентраций и/или воспроизводимое увеличение числа колоний ревертантов на чашку при одной или более концентрациях, как минимум, на одном штамме с системой метаболической активации или без нее. Биологическая значимость результатов должна быть рассмотрена в первую очередь. Статистические методы могут использоваться при оценке результатов испытания. Однако статистическая значимость не должна быть единственным определяющим фактором для заключения о положительном эффекте.

Испытуемое вещество, результаты исследования которого не соответствуют вышеупомянутым критериям, рассматриваются как не мутагенные в данном тесте.

Хотя в большинстве экспериментов получаются четкие положительные или отрицательные результаты, в редких случаях, совокупность данных будет исключать определенную оценку об активности испытуемого вещества. Результаты могут оставаться сомнительными или проблематичными независимо от числа повторов эксперимента.

Положительные результаты в тесте оценки обратных мутаций на бактериях свидетельствуют о том, что вещество индуцирует точковые мутации типа замены пар оснований или сдвига рамки считывания в геноме Salmonella typhimurium и/или Escherichia coli. Отрицательные результаты показывают, что в условиях опыта испытуемое вещество является не мутагенным для тестируемых видов.

5.2 Отчет

5.2.1 Информация об испытании, которую должен включать отчет

Исследуемое соединение:

- идентификационные данные и CAS no (если известны);
- физическая природа и чистота;
- физико-химические свойства, относящиеся к проведению исследования;
- стабильность соединения (если известна).

Растворитель/среда:

- обоснование выбора растворителя/среды;
- растворимость и стабильность испытуемого вещества в растворителе/среде (если известно).

Штаммы:

- используемые штаммы;
- число клеток на культуру;
- характеристики штаммов.

Условия испытания:

- количество испытуемого вещества на чашку (мг/чашка или мкг/чашка) с обоснованием выбора дозы и числа чашек на концентрацию;
- используемая среда;
- тип и состав системы метаболической активации, включающей критерий приемлемости;
- процедуры обработки.

Результаты:

- признаки токсичности;
- признаки преципитации;
- количество колоний ревертантов на каждую чашку;
- среднее число колоний ревертантов на чашку и стандартное отклонение;
- зависимость эффекта от дозы, где возможно;
- статистическая обработка, если есть;
- данные по отрицательным (растворитель/среда) и положительным контролям, с пределами колебаний, средними и стандартными отклонениями;
- данные по ранее полученным (лабораторным) отрицательным (растворитель/среда) и положительным контролям: диапазоны колебаний, средние и стандартные отклонения.

5.2.2 Обсуждение результатов

5.2.3 Заключение

Библиография

[1] Руководящий документ ОЭСР Test № 471 «Bacterial Reverse Mutation Test»

[2] Ames, B.N., McCann, J. and Yamasaki, E. (1975). Methods for Detecting Carcinogens and Mutagens with the Salmonella/Mammalian-Microsome Mutagenicity Test. Mutation Res., 31, 347—364

[3] Maron, D.M. and Ames, B.N. (1983). Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test. Mutation Res., 113, 173—215

[4] Gatehouse, D., Haworth, S., Cebula, T., Gocke, E., Kier, L., Matsushima, T., Melcion, C., Nohmi, T., Venitt, S. and Zeiger, E. (1994). Recommendations for the Performance of Bacterial Mutation Assays. Mutation Res., 312, 217—233

[5] Kier, L.D., Brusick D.J., Auletta, A.E., Von Halle, E.S., Brown, M.M., Simmon, V.F., Dunkel, V., McCann, J., Mortelmans, K., Prival, M., Rao, T.K. and Ray V. (1986). The Salmonella Typhimurium/Mammalian Microsomal Assay: A Report of the U.S. Environmental Protection Agency Genetox Program. Mutation Res., 168, 69—240

[6] Yahagi, T., Degawa, M., Seino, Y.Y., Matsushima, T., Nagao, M., Sugimura, T. and Hashimoto, Y. (1975). Mutagenicity of Carcinogen Azo Dyes and their Derivatives. Cancer Letters, 1, 91—96

[7] Matsushima, M., Sugimura, T., Nagao, M., Yahagi, T., Shirai, A., and Sawamura, M. (1980). Factors Modulating Mutagenicity Microbial Tests. In: Short-term Test Systems for Detecting Carcinogens. Ed. Norpoth K.H. and Garner, R.C., Springer, Berlin-Heidelberg-New York, pp. 273—285

[8] Gatehouse, D.G., Rowland, I.R., Wilcox, P., Callender, R.D. and Foster, R. (1990). Bacterial Mutation Assays. In: Basic Mutagenicity Tests: UKEMS Part 1 Revised. Ed. D.J. Kirkland Cambridge University Press, pp. 13—61

[9] Aeschbacher, H.U., Wolleb, U. and Porchet, L. (1987). Liquid Preincubation Mutagenicity Test for Foods. J. Food Safety, 8, 167—177

[10] Green, M. H. L., Muriel, W. J. and Bridges, B.A. (1976). Use of a simplified fluctuation test to detect low levels of mutagens. Mutation Res., 38, 33—42

[11] Hubbard, S.A., Green, M.H.L., Gatehouse, D., and J.W. Bridges (1984). The Fluctuation Test in Bacteria. In: Handbook of Mutagenicity Test Procedures. 2nd Edition. Ed. Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W. and Ramel C., Elsevier, Amsterdam-New York-Oxford, pp. 141—161

[12] Thompson, E.D. and Melampy, P.J. (1981). An Examination of the Quantitative Suspension Assay for Mutagenesis with Strains of Salmonella typhimurium. Environmental Mutagenesis, 3, 453—465

[13] Araki, A., Noguchi, T., Kato, F. and T. Matsushima (1994). Improved Method for Mutagenicity Testing of Gaseous Compounds by Using a Gas Sampling Bag. Mutation Res., 307, 335—344

[14] Prival, M.J., Bell, S.J., Mitchell, V.D., Reipert, M.D. and Vaughn, V.L. (1984). Mutagenicity of Benzidine and Benzidine-Congener Dyes and Selected Monoazo Dyes in a Modified Salmonella Assay. Mutation Res., 136, 33—47

[15] Zeiger, E., Anderson, B. E., Haworth, S, Lawlor, T. and Mortelmans, K. (1992). Salmonella Mutagenicity Tests. V. Results from the Testing of 311 Chemicals. Environ. Mol. Mutagen., 19, 2—141

[16] Simmon, V., Kauhanen, K. and Tardiff, R.G. (1977). Mutagenic Activity of Chemicals Identified in Drinking Water. In Progress in Genetic Toxicology, D. Scott, B. Bridges and F. Sobels (Eds.)., Elsevier, Amsterdam, pp. 249—258

[17] Hughes, T.J., Simmons, D.M., Monteith, I.G. and Claxton, L.D. (1987). Vaporization Technique to Measure Mutagenic Activity of Volatile Organic Chemicals in the Ames/Salmonella Assay. Environmental Mutagenesis, 9, 421—441

[18] Matsushima, T., Matsumoto, A., Shirai, M., Sawamura, M. and Sugimura, T. (1979). Mutagenicity of the Naturally Occurring Carcinogen Cycasin and Synthetic Methylazoxy Methane Conjugates in Salmonella typhimurium. Cancer Res., 39, 3780—3782

[19] Tamura, G., Gold, C., Ferro-Luzzi, A. and Ames. B.N. (1980). Fecalase: A Model for Activation of Dietary Glycosides to Mutagens by Intestinal Flora. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 4961—4965

[20] Wilcox, P., Naidoo, A., Wedd, D. J. and Gatehouse, D. G. (1990). Comparison of Salmonella typhimurium TA 102 with Escherichia coli WP2 Tester strains. Mutagenesis, 5, 285—291

[21] Matsushima, T., Sawamura, M., Hara, K. and Sugimura, T. (1976). A Safe Substitute for Polychlorinated Biphenyls as an Inducer of Metabolic Activation Systems. In: «In vitro Metabolic Activation in Mutagenesis Testing», Eds F.J. de Serres et al. Elsevier, North Holland, pp. 85—88

[22] Elliott, B.M., Combes, R.D., Elcombe, C.R., Gatehouse, D.G., Gibson, G.G., Mackay, J.M. and Wolf, R.C. (1992). Alternatives to Aroclor 1254-induced S9 in vitro Genotoxicity Assays. Mutagenesis, 7, 175—177

[23] Maron, D., Katzenellenbogen, J., and Ames, B.N. (1981). Compatibility of Organic Solvents with the Salmonella/Microsome Test. Mutation Res., 88, 343—350

[24] Claxton, L.D., Allen, J., Auletta, A., Mortelmans, K., Nestmann, E., and Zeiger, E., (1987). Guide for the Salmonella typhimurium/Mammalian Microsome Tests for Bacterial Mutagenicity. Mutation Res., 189, 83—91

[25] Mahon, G.A.T., Green, M.H.L., Middleton, B., Mitchell, I., Robinson, W.D. and Tweats, D.J. (1989). Analysis of Data from Microbial Colony Assays. In: UKEMS Sub-Committee on Guidelines for Mutagenicity Testing Part II. Statistical Evaluation of Mutagenicity Test Data. Ed. Kirkland, D.J., Cambridge University Press, pp. 28—65

УДК 661:615.099:006.354 МКС 71.100.01

Ключевые слова: химическая безопасность, мутагенность, учет обратных мутаций у бактерий

Редактор *Н.Е. Рагузина*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 29.03.2019. Подписано в печать 11.04.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,26.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru