DIN EN ISO 11350:2026-01 (D)

Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Gentoxizität von Wasser und Abwasser - Verfahren mittels Salmonella/Microsomen-Fluktuationstest (Ames-Fluktuationstest) (ISO 11350:2012); Deutsche Fassung EN ISO 11350:2025

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort 8
Vorwort 9
1 Anwendungsbereich 10
2 Normative Verweisungen 10
3 Begriffe 10
4 Störungen 12
5 Grundlage des Verfahrens 13
6 Geräte und Materialien 13
7 Reagenzien, Medien und Verdünnungen 14
8 Probenahme und Proben 19
9 Durchführung 19
9.1 Übernachtkultur 19
9.2 Herstellung des S9-Mix 19
9.3 Testung wässriger Proben 20
9.3.1 Vorbereitung der Teststämme 20
9.3.2 Testansatz ohne S9-Mix 21
9.3.3 Testansatz mit S9-Mix 22
9.4 Messung des Revertantenwachstums 24
9.5 Berechnung der Zytotoxizität 24
10 Gültigkeitskriterien 24
11 Bewertungskriterien 24
12 Testbericht 25
Anhang A (normativ) Nährboullion und Agar 26
A.1 Nährboullion 26
A.2 Agar 26
A.3 Nähragar 26
Anhang B (normativ) Herstellung von Ampicillin-Agar-Platten und Stammkulturen 27
B.1 Herstellung von Ampicillin-Agar-Platten 27
B.2 Herstellung der Stammkulturen 27
Anhang C (normativ) Genotypisierung 28
C.1 Ampicillinresistenz (pKM101) 28
C.2 Kristallviolett-Sensitivität (deep rough — Mutation) 28
C.3 UV Sensitivität (*uvrB*) 28
C.4 Histidinauxotrophie 28
Anhang D (normativ) S9-Fraktion 29
D.1 Induktion von Leberenzymen 29
D.2 Präparation der S9-Fraktion 29
Anhang E (informativ) Beispielhafte Plattenbelegung der 24-Well-Platte 30

Anhang F (informativ) Beispiel eines Testberichts **32**

Anhang G (informativ) Chemikalientestung **33**
G.1 Allgemeines **33**
G.2 Vorbereitung der Teststämme **33**
G.3 Ansatz zur Chemikalientestung ohne S9-Mix **34**
G.4 Ansatz zur Chemikalientestung mit S9-Mix **35**

Anhang H (informativ) Verfahrenskenndaten **37**

Anhang I (informativ) Statistische Bewertung **40**
I.1 Allgemeines **40**
I.2 Zusammenfassung der empfohlenen Auswertung **43**
I.3 Beispielrechnung **43**
I.4 Berechnung des Schwellenwertes **45**
I.5 Bestimmung der niedrigsten Verdünnung ohne Wirkung (*G*-Wert) **46**

Anhang J (informativ) Bestimmung der niedrigsten Verdünnung ohne Wirkung (*G*-Wert) des Abwassers — Vereinfachte Auswertung für die Abwassertestung **48**
J.1 Allgemeines **48**
J.2 Definitionen **48**
J.2.1 Definierte Verdünnung **48**
J.2.2 Niedrigste Verdünnung ohne Wirkung (*G*-Wert) **48**
J.3 Grundlage des Verfahrens **48**
J.4 Herstellung von Verdünnungen zur Bestimmung des *G*-Werts **48**
J.5 Test zur Bestimmung des *G*-Werts **48**
J.6 Ergebnisbewertung — *G*-Wert, Abwässer **49**
J.7 Dokumentation der Testergebnisse **49**

Anhang K (informativ) Verwendung weiterer Teststämme **50**

Literaturhinweise **51**

Bilder

Bild E.1 — Inkubationsplatte A (24-Well-Platte) **30**

Bild E.2 — Beispiel der Übertragung von der 24-Well-Platte (Platte A oder B) auf die 384-Well-Platte (mit sechs Verdünnungsstufen) **31**

Bild I.1 — Statistische Bedeutung des Schwellenwertes, n_{TH}, repräsentiert durch die gestrichelte Fläche unter der Kurve **42**

Tabellen

Tabelle 1 — Beispiel der Verdünnung einer Übernachtkultur (TA 98) **21**

Tabelle 2 — Pipettierschema für den Testansatz in Platte A ohne S9-Mix **22**

Tabelle 3 — Pipettierschema für den Testansatz in Platte A mit S9-Mix **23**

Tabelle F.1 — Beispieltabelle für einen Testbericht **32**

Tabelle G.1 — Beispiel der Verdünnung einer Übernachtkultur (TA 98) **34**

Tabelle G.2 — Pipettierschema für den Testansatz in Platte A ohne S9-Mix **34**

Tabelle G.3 — Pipettierschema für den Testansatz in Platte A mit S9-Mix 35

Tabelle H.1 — Valide Testergebnisse aller Labore mit einer zufriedenstellenden Wiederholbarkeit 37

Tabelle H.2 — Sensitivität und Spezifität beruhend auf den Testergebnissen der Proben eins bis drei 37

Tabelle H.3 — Median, minimale und maximale G-Werte, ausgedrückt als Verdünnungsfaktoren für alle validen Tests der Proben 1 bis 4 39

Tabelle I.1 — Beispieldaten eines Ames-Flukturationstests — Der Datensatz besteht aus sechs Verdünnungsstufen sowie einer Negativ- und einer Positivkontrolle (NC und PC) und damit insgesamt acht Proben ($k = 8$) 41

Tabelle I.2 — Ergebnisse des internationalen Ringversuchs 42

Tabelle I.3 — Beispiel arcsin-Wurzel-transformierter Daten eines Ames-Fluktuationstests 43

Tabelle I.4 — Ergebnis der statistischen Bewertung von Daten eines Ames-Fluktuationstests 44

Tabelle I.5 — Anwendung des Schwellenwertes, $+n_{TH}$, nach der statistischen Bewertung von Daten eines Ames-Fluktuationstests 45

Tabelle I.6 — Beispieldaten eines Ames-Fluktuationstests und deren statistische Bewertung 47