E DIN EN ISO 11350:2025-05 (D/E)

Erscheinungsdatum: 2025-03-28

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

Water quality - Determination of the genotoxicity of water and waste water - Salmonella/microsome fluctuation test (Ames fluctuation test) (ISO 11350:2012); German and English version prEN ISO 11350:2025

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort 10

Vorwort 11

1 Anwendungsbereich 12

2 Normative Verweisungen 12

3 Begriffe 12

4 Störungen 15

5 Grundlage des Verfahrens 15

6 Geräte und Materialien 15

7 Reagenzien, Medien und Verdünnungen 16

8 Probenahme und Proben 21

9 Durchführung 21
9.1 Übernachtkultur 21
9.2 Herstellung des S9-Mix 22
9.3 Testung wässriger Proben 22
9.3.1 Vorbereitung der Teststämme 22
9.3.2 Testansatz ohne S9-Mix 24
9.3.3 Testansatz mit S9-Mix 25
9.4 Messung des Revertantenwachstums 26
9.5 Berechnung der Zytotoxizität 26

10 Gültigkeitskriterien 26

11 Bewertungskriterien 27

12 Testbericht 27

Anhang A (normativ) Nährboullion (Nutrient broth) und Agar 28
A.1 Nährboullion (Nutrient broth) 28
A.2 Agar 28
A.3 Nähragar 28

Anhang B (normativ) Herstellung von Ampicillin-Agar Platten und Stammkulturen 29
B.1 Herstellung von Ampicillin-Agar Platten 29
B.2 Herstellung der Stammkulturen 29

Anhang C (normativ) Genotypisierung 30
C.1 Ampicillinresistenz (pKM101) 30
C.2 Kristallviolett-Sensitivität (deep rough — Mutation) 30
C.3 UV Sensitivität (*uvrB*) 30
C.4 Histidinauxotrophie 30

Anhang D (normativ) S9-Fraktion ... 31
D.1 Induktion von Leberenzymen ... 31
D.2 Präparation der S9-Fraktion ... 31

Anhang E (informativ) Beispielhafte Plattenbelegung der 24-Well Platte ... 32

Anhang F (informativ) Beispiel eines Testberichtes ... 34

Anhang G (informativ) Chemikalientestung ... 35
G.1 Allgemeines ... 35
G.2 Vorbereitung der Teststämme ... 35
G.3 Ansatz zur Chemikalientestung ohne S9-Mix ... 36
G.4 Ansatz zur Chemikalientestung mit S9-Mix ... 37

Anhang H (informativ) Präzisionsdaten ... 39

Anhang I (informativ) Statistische Bewertung ... 42
I.1 Allgemeines ... 42
I.2 Zusammenfassung der empfohlenen Auswertung ... 45
I.3 Beispielrechnung ... 45
I.4 Berechnung des Schwellenwertes ... 46
I.5 Bestimmung der geringsten Verdünnung ohne Effekt (LID) ... 47

Anhang J (informativ) Bestimmung der geringsten Abwasserverdünnung ohne Effekt (lowest ineffective dilution [LID]) — Vereinfachte Auswertung für die Abwassertestung ... 49
J.1 Allgemeines ... 49
J.2 Definitionen ... 49
J.2.1 Definierte Verdünnung ... 49
J.2.2 Geringste Verdünnung ohne Effekt (G-Wert, lowest ineffective dilution [LID]) ... 49
J.3 Prinzip ... 49
J.4 Herstellung von Verdünnungen zur Bestimmung des LID ... 49
J.5 Test zur Bestimmung des LID ... 50
J.6 Ergebnisbewertung — LID Wert, Abwässer ... 50
J.7 Dokumentation der Testergebnisse ... 50

Anhang K (informativ) Verwendung weiterer Teststämme ... 51

Literaturhinweise ... 52

Bilder

Bild E.1 — Inkubationsplatte A (24-Well Platte) ... 32

Bild E.2 — Beispiel der Übertragung von der 24-Well Platte (Platte A oder B) auf die 384-Well Platte (mit sechs Verdünnungsstufen) ... 33

Bild I.1 — Statistische Bedeutung des Schwellenwertes, n_{TH}, repräsentiert durch die gestrichelte Fläche unter der Kurve ... 44

Tabellen

Tabelle 1 — Beispiel der Verdünnung einer Übernachtkultur (TA 98) ... 24

Tabelle 2 — Pipettierschema für den Testansatz in Platte A ohne S9-Mix ... 24

Tabelle 3 — Pipettierschema für den Testansatz in Platte A mit S9-Mix ... 25

Tabelle F.1 — Beispieltabelle für einen Testbericht ... 34

Tabelle G.1 — Beispiel der Verdünnung einer Übernachtkultur (TA 98) 36

Tabelle G.2 — Pipettierschema für den Testansatz in Platte A ohne S9-Mix 36

Tabelle G.3 — Pipettierschema für den Testansatz in Platte A mit S9-Mix 37

Tabelle H.1 — Valide Testergebnisse aller Labore mit einer zufriedenstellenden Wiederholbarkeit 39

Tabelle H.2 — Sensitivität und Spezifität basierend auf den Testergebnissen der Proben eins bis drei 39

Tabelle H.3 — Median, minimale und maximale lb(LID) Werte, ausgedrückt als Verdünnungsfaktoren für alle validen Tests der Proben 1 bis 4 41

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 ($k = 8$) 42

Tabelle I.2 — Ergebnisse der internationalen Ringstudie 44

Tabelle I.3 — Beispiel arcsin-Wurzel-transformierter Daten eines Ames-Fluktuationstests 45

Tabelle I.4 — Ergebnis der statistischen Bewertung von Daten eines Ames-Fluktuationstests 46

Tabelle I.5 — Anwendung des Schwellenwertes, $+n_{\mathrm{TH}}$, nach der statistischen Bewertung von Daten eines Ames-Fluktuationstests 47

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