

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 (<i>uvrB</i>).....	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) Chemikaliertestung	33
G.1 Allgemeines.....	33
G.2 Vorbereitung der Teststämmen.....	33
G.3 Ansatz zur Chemikaliertestung ohne S9-Mix.....	34
G.4 Ansatz zur Chemikaliertestung mit S9-Mix.....	35
Anhang H (informativ) Verfahrenskennzahlen	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 (<i>G</i> -Wert).....	46
Anhang J (informativ) Bestimmung der niedrigsten Verdünnung ohne Wirkung (<i>G</i> -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 (<i>G</i> -Wert).....	48
J.3 Grundlage des Verfahrens.....	48
J.4 Herstellung von Verdünnungen zur Bestimmung des <i>G</i> -Werts	48
J.5 Test zur Bestimmung des <i>G</i> -Werts.....	48
J.6 Ergebnisbewertung — <i>G</i> -Wert, Abwässer	49
J.7 Dokumentation der Testergebnisse	49
Anhang K (informativ) Verwendung weiterer Teststämmen	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 Übernachtskultur (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 Übernachtskultur (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 <i>G</i>-Werte, ausgedrückt als Verdünnungsfaktoren für alle validen Tests der Proben 1 bis 4.....	39
Tabelle I.1 — Beispieldaten eines Ames-Fluktuationstests — 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