

DIN EN 13697



ICS 11.080.20; 71.100.35

Ersatz für
DIN EN 13697:2015-06

**Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika –
Quantitativer Oberflächen-Versuch zur Bestimmung der bakteriziden
und/oder fungiziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel auf nicht
porösen Oberflächen in den Bereichen Lebensmittel, Industrie, Haushalt
und öffentliche Einrichtungen –
Prüfverfahren und Anforderungen ohne mechanische Behandlung
(Phase 2, Stufe 2);
Deutsche Fassung EN 13697:2015+A1:2019**

Chemical disinfectants and antiseptics –
Quantitative non-porous surface test for the evaluation of bactericidal and/or fungicidal
activity of chemical disinfectants used in food, industrial, domestic and institutional areas –
Test method and requirements without mechanical action (phase 2, step 2);
German version EN 13697:2015+A1:2019

Antiseptiques et désinfectants chimiques –
Essai quantitatif de surface non-poreuse pour l'évaluation de l'activité bactéricide et/ou
fongicide des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine de l'agro-alimentaire, dans
l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité –
Méthode d'essai sans action mécanique et prescriptions (phase 2, étape 2);
Version allemande EN 13697:2015+A1:2019

Gesamtumfang 39 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 13697:2015+A1:2019) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 216 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-08-04 AA „Desinfektionsmittel Tierhaltung/Lebensmittelbereich“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Anfang und Ende der durch die Berichtigung eingefügten oder geänderten Texte sind jeweils durch Änderungsmarken   angegeben

Änderungen

Gegenüber DIN EN 13697:2015-06 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Streichung obligatorischer und zusätzlicher Prüfbedingungen (siehe Tabelle 1 und 5.5.1);
- b) Aktualisierung der Herstellung von Rinderserumalbumin- und Magermilch-Lösungen (siehe 5.2.2.8.2);
- c) Anleitung zur Verwendung eines Vakuum-Exsikkators ergänzt;
- d) Aktualisierung der Herstellung der Bakterien-Gebrauchskultur (siehe 5.4.1.2) und des Auszählens der Bakterien- und Pilz-Prüfsuspensionen (siehe 5.4.1.4);
- e) Erläuterung zur Bestimmung der mikrobiziden Konzentrationen durch Aktualisierung von 5.5.2.1 b) und Bilder von Trägern ergänzt;
- f) Aktualisierung der Herstellung von Verdünnungen für Pilz- und Bakterienstämme (siehe 5.5.2.2, 5.5.2.3, 5.5.2.4) und des Auszählens der Prüfmischungen (5.5.3).

Frühere Ausgaben

DIN EN 13697: 2002-01, 2015-06

Deutsche Fassung

**Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika —
Quantitativer Oberflächen-Versuch zur Bestimmung der bakteriziden
und/oder fungiziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel auf
nicht porösen Oberflächen in den Bereichen Lebensmittel, Industrie,
Haushalt und öffentliche Einrichtungen —
Prüfverfahren und Anforderungen ohne mechanische Behandlung
(Phase 2, Stufe 2)**

Chemical disinfectants and antiseptics —
Quantitative non-porous surface test for the evaluation
of bactericidal and/or fungicidal activity of chemical
disinfectants used in food, industrial, domestic and
institutional areas —
Test method and requirements without mechanical
action (phase 2, step 2)

Antiseptiques et désinfectants chimiques —
Essai quantitatif de surface non-poreuse pour
l'évaluation de l'activité bactéricide et/ou fongicide des
désinfectants chimiques utilisés dans le domaine de
l'agro-alimentaire, dans l'industrie, dans les domaines
domestiques et en collectivité —
Méthode d'essai sans action mécanique et prescriptions
(phase 2/étape 2)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 20. Januar 2015 angenommen und schließt Änderung 1 ein, die am 10. Juni 2019 vom CEN angenommen wurde.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Einleitung	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Anforderungen	6
5 Prüfverfahren	8
5.1 Kurzbeschreibung	8
5.2 Materialien und Reagenzien	8
5.2.1 Prüforganismen	8
5.2.2 Kulturmedien und Reagenzien	9
5.2.3 Prüfoberfläche	12
5.3 Geräte und Glasgeräte	12
5.3.1 Allgemeines	12
5.3.2 Übliche mikrobiologische Laboratoriumsausrüstung	12
5.4 Herstellung der Prüforganismus-Suspensionen und der Produktprüflösungen	14
5.4.1 Prüforganismus-Suspensionen	14
5.4.2 Produktprüflösungen	18
5.5 Verfahrensablauf	18
5.5.1 Auswahl der experimentellen Bedingungen	18
5.5.2 Prüfablauf	19
5.5.3 Auszählen der Prüfmischungen	23
5.6 Berechnung und Darstellung der Ergebnisse	24
5.6.1 Ermittlung von Daten: Auszählung der gewichteten Mittelwerte	24
5.6.2 Verifizierung des Verfahrens	25
5.6.3 Angabe der Ergebnisse	26
5.6.4 Schlussfolgerung	26
5.7 Prüfbericht	27
Anhang A (informativ) Korrespondierende Referenzstämme	29
Anhang B (informativ) Neutralisationsmedien	31
Anhang C (informativ) Darstellung der Ergebnisse nach dem Verdünnungs-Neutralisationsverfahren	33
Anhang D (informativ) Bakterizide Wirkung auf Oberflächen unter allgemeinen Anwendungsbedingungen (bei niedriger Belastung)	35
Anhang E (informativ) Präzision der Prüfergebnisse	36
Literaturhinweise	37

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN 13697:2015+A1:2019) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 216 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Januar 2020, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Januar 2020 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Dieses Dokument enthält die Änderung 1, angenommen von CEN am 2019-06-10.

Dieses Dokument ersetzt **A1** EN 13697:2015 **A1**.

Anfang und Ende der durch die Berichtigung eingefügten oder geänderten Texte sind jeweils durch Änderungsmarken **A1** **A1** angegeben.

A1 Die Änderungen der EN 13697:2015+A1:2019 zur EN 13697:2001 sind die folgenden:

- Belastungssubstanz wurde von 0,03 % Rinderserumalbumin auf 0,85 % Magermilch geändert (siehe Abschnitt 4, Tabelle 1) nur bei niedrigen Belastungen von *Pseudomonas aeruginosa*;
- die Sporenerstellung von *A. brasiliensis* (früher *A. niger*) ist aktualisiert worden, um diesen Schritt mit dem QST fungiziden Prüfverfahren, Änderung im Jahr 2012 veröffentlicht, zu harmonisieren (siehe 5.4.1.3 b));
- Berechnungen der gewichteten Mittelwerte und der Prüfergebnisse sind geändert worden, um mit den neuen Normen des CEN/TC 216 harmonisiert zu werden (siehe 5.4.1.5, 5.5.2, 5.5.3 und 5.6);
- andere Abschnitte sind mit den neuen Normen des CEN/TC 216 harmonisiert worden (z. B. Herstellung von Wasser standardisierter Härte, 5.2.2.7);
- Streichung obligatorischer und zusätzlicher Prüfbedingungen (siehe Tabelle 1 und 5.5.1);
- Aktualisierung der Herstellung von Rinderserumalbumin- und Magermilch-Lösungen (siehe 5.2.2.8.2);
- Anleitung zur Verwendung eines Vakuum-Exsikkators ergänzt;
- Aktualisierung der Herstellung der Bakterien-Gebrauchskultur (siehe 5.4.1.2) und des Auszählens der Bakterien- und Pilz-Prüfsuspensionen (siehe 5.4.1.4);
- Erläuterung zur Bestimmung der mikrobiziden Konzentrationen durch Aktualisierung von 5.5.2.1 b) und Bilder von Trägern ergänzt;
- Aktualisierung der Herstellung von Verdünnungen für Pilz- und Bakterienstämme (siehe 5.5.2.2, 5.5.2.3, 5.5.2.4) und des Auszählens der Prüfmischungen (5.5.3).

Die Daten der EN 13697:2015 sind mit der folgenden Ausnahme weiterhin gültig:

- *Pseudomonas aeruginosa* und *Candida albicans* unter Bedingungen niedriger Belastung. **A1**

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Einleitung

Diese Europäische Norm beschreibt ein Oberflächen-Testverfahren um festzustellen, ob ein als Desinfektionsmittel empfohlenes Produkt für die in Abschnitt 1 beschriebenen Bereiche eine bakterizide und/oder fungizide oder levurozide Wirkung auf nicht porösen Oberflächen aufweist oder nicht.

Diese Europäische Norm ist überarbeitet worden, um die Belastungssubstanz unter „niedrigen Belastungen“, angenommen für *P. aeruginosa* zu ändern; um die Berechnung von N, NC, NT, Nc, Na und infolgedessen die Endergebnisse zu ändern und um diese Norm mit den anderen neuen Normen des CEN/TC 216 zu harmonisieren.

Dieses Verfahren ist ein Laborversuch unter simulierten praxisnahen Anwendungsbedingungen. Die ausgewählten Bedingungen (Einwirkzeit, Temperatur, Organismen auf Oberflächen usw.) spiegeln Parameter wider, wie sie in der Praxis vorkommen, einschließlich der Bedingungen, die die Wirkung von Desinfektionsmitteln beeinflussen können. Jede Anwendungskonzentration, die aus dieser Prüfung resultiert, entspricht festgelegten experimentellen Bedingungen.

Die Bedingungen genügen den allgemeinen Ansprüchen und wurden so ausgewählt, dass sie einen Vergleich zwischen Laboratorien und Produktarten erlauben.

Unter besonderen Bedingungen können die Anwendungsempfehlungen für ein Produkt jedoch abweichen. In diesem Fall sind zusätzliche Prüfbedingungen erforderlich.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein Prüfverfahren (Phase 2/Stufe 2) und die Mindestanforderungen an die bakterizide und/oder fungizide oder levurozide Wirkung von chemischen Desinfektionsmitteln in den Bereichen Lebensmittel, Industrie, Haushalt und in öffentlichen Einrichtungen fest, die mit Wasser standardisierter Härte oder – im Fall von gebrauchsfertigen Produkten – mit Wasser eine homogene, physikalisch stabile Lösung ergeben. Ausgenommen davon sind Bereiche und Situationen mit medizinisch indizierter Desinfektion und Produkte, die auf lebenden Geweben benutzt werden.

Diese Europäische Norm gilt mindestens für den folgenden Anwendungsbereich:

a) Verarbeitung, Vertrieb und Verkauf von:

1) Lebensmitteln tierischer Herkunft:

- i) Milch und Milchprodukte;
- ii) Fleisch und Fleischprodukte;
- iii) Fisch, Meerestiere und daraus hergestellte Erzeugnisse;
- iv) Eier und Eiprodukte;
- v) Tiernahrung;
- vi) usw.

2) Lebensmitteln pflanzlicher Herkunft:

- i) Getränke;
- ii) Früchte, Gemüse und daraus hergestellte Erzeugnisse (einschließlich Zucker, Destillationsprodukte);
- iii) Mehl, gemahlene und gebackene Produkte;
- iv) Tiernahrung;
- v) usw.

b) gewerbliche Einrichtungen und Haushaltsbereiche:

- 1) Verpflegungseinrichtungen;
- 2) öffentliche Bereiche;
- 3) öffentliche Verkehrsmittel;
- 4) Schulen;
- 5) Kindergärten;
- 6) Geschäfte;
- 7) Sportstätten;
- 8) Abfallbehälter (Mülltonnen);
- 9) Hotels;
- 10) Wohngebäude;

- 11) klinisch nicht relevante Bereiche von Krankenhäusern;
- 12) Büroräume;
- 13) usw.
- c) andere industrielle Bereiche:
 - 1) Verpackungsmaterial;
 - 2) Biotechnologie (Hefe, Proteine, Enzyme usw.);
 - 3) Hersteller von Pharmazeutika;
 - 4) Hersteller von Kosmetika und Toilettenartikeln;
 - 5) Hersteller von Textilien;
 - 6) Weltraumforschungsindustrie und Computerindustrie;
 - 7) usw.

Bei Anwendung dieser Europäischen Norm ist die Bestimmung der bakteriziden oder fungiziden oder levuroziden Wirkung des unverdünnten Produkts möglich. Da vom aktiven bis zum nicht aktiven Bereich drei Konzentrationen geprüft werden, ist eine Verdünnung des Produkts erforderlich, deshalb bildet das Produkt eine homogene stabile Lösung mit Wasser standardisierter Härte.

In EN 14885 ist die Beziehung zwischen den einzelnen Prüfungen untereinander und zu den Anwendungsempfehlungen detailliert festgelegt.

ANMERKUNG 1 Das beschriebene Verfahren bestimmt die Wirksamkeit gewerblich hergestellter Zubereitungen oder anderer aktiver Substanzen auf Bakterien und/oder Pilzen unter Anwendungsbedingungen.

ANMERKUNG 2 Dieses Verfahren kann nicht zur Bestimmung der Wirkung der Produkte gegenüber Mykobakterien angewendet werden.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

EN 12353, *Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika — Aufbewahrung von Testorganismen für die Prüfung der bakteriziden (einschließlich Legionella), mykobakteriziden, sporiziden, fungiziden und viruziden (einschließlich Bakteriophagen) Wirkung*

EN 14885, *Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika — Anwendung Europäischer Normen für chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika*

ISO 4793, *Laboratory sintered (fritted) filters — Porosity grading, classification and designation*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach EN 14885.

4 Anforderungen

Das Produkt muss bei einer nach Tabelle 1 und 5.5.1 durchgeführten Prüfung eine dezimal-logarithmische (lg)-Reduktion um mindestens 4 Stufen für Bakterien und um mindestens 3 Stufen für Pilze aufweisen.

A1

Tabelle 1 — Untersuchungsbedingungen

Prüfbedingungen	Bakterizide Wirkung auf nicht porösen Oberflächen ohne mechanische Behandlung	Levurozide Wirkung auf nicht porösen Oberflächen ohne mechanische Behandlung	Fungizide Wirkung auf nicht porösen Oberflächen ohne mechanische Behandlung
Prüforganismus (siehe 5.2.1) Mindestspektrum von Prüforganismen	<i>Enterococcus hirae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus brasiliensis</i>
Prüforganismen zusätzlich (Beispiele)	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (für Brauereien) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i> (für Brauereien)	alle relevanten Prüforganismen
Prüftemperatur	Im Bereich von $(4 \pm 1) ^\circ\text{C}$ bis $(40 \pm 1) ^\circ\text{C}$. Für Prüfungen bei Raumtemperatur muss der Bereich zwischen $18 ^\circ\text{C}$ und $25 ^\circ\text{C}$ liegen.	Im Bereich von $(4 \pm 1) ^\circ\text{C}$ bis $(40 \pm 1) ^\circ\text{C}$. Für Prüfungen bei Raumtemperatur muss der Bereich zwischen $18 ^\circ\text{C}$ und $25 ^\circ\text{C}$ liegen.	Im Bereich von $(4 \pm 1) ^\circ\text{C}$ bis $(40 \pm 1) ^\circ\text{C}$. Für Prüfungen bei Raumtemperatur muss der Bereich zwischen $18 ^\circ\text{C}$ und $25 ^\circ\text{C}$ liegen.
Einwirkzeit	im Bereich von 1 min bis 60 min (von 1 min bis 5 min in 1-min-Schritten und von 5 min bis 60 min in 5-min-Schritten)	im Bereich von 1 min bis 60 min (von 1 min bis 5 min in 1-min-Schritten und von 5 min bis 60 min in 5-min-Schritten)	im Bereich von 1 min bis 60 min (von 1 min bis 5 min in 1-min-Schritten und von 5 min bis 60 min in 5-min-Schritten)
Belastungssubstanz niedrige Belastung	0,3 g/l Rinderserumalbumin für <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus hirae</i> , <i>Escherichia coli</i> und <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,3 g/l Rinderserumalbumin für <i>C. albicans</i>	0,3 g/l Rinderserumalbumin für <i>C. albicans</i> und <i>A. brasiliensis</i>
Belastungssubstanz hohe Belastung	3,0 g/l Rinderserumalbumin für <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus hirae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> und <i>Escherichia coli</i>	3,0 g/l Rinderserumalbumin für <i>C. albicans</i>	3,0 g/l Rinderserumalbumin für <i>C. albicans</i> und <i>A. brasiliensis</i>
Belastungssubstanz zusätzlich	alle relevanten Substanzen	alle relevanten Substanzen	alle relevanten Substanzen
(dezimale) logarithmische Reduktion in Bezug auf die Wasserkontrolle	$\geq 4 \lg$	$\geq 3 \lg$	$\geq 3 \lg$
Die angegebenen Prüfbedingungen (allgemeine Zwecke) sind keinesfalls als Anforderungen an die Anwendung eines Produkts oder als Anforderungen an die Bewertung und Akzeptanz der Produkte durch Aufsichtsbehörden vorgesehen. Die Einwirkzeit für das Produkt wird vom Hersteller festgelegt. Wenn besondere Anwendungen berücksichtigt werden müssen, muss zusätzlich die bakterizide/levurozide/fungizide Wirkung unter relevanten Bedingungen bezüglich Einwirkzeit, Temperatur, Stämme und Belastungssubstanzen bestimmt werden.			



5 Prüfverfahren

5.1 Kurzbeschreibung

Eine Prüfsuspension von Bakterien oder Pilzen in einer Lösung von Belastungssubstanzen wird auf eine Prüfoberfläche aus nichtrostendem Stahl geimpft und angetrocknet. Eine zubereitete Probe des zu prüfenden Produkts wird so aufgebracht, dass sie den trockenen Film bedeckt. Die Oberfläche wird eine bestimmte Zeit auf einer festgelegten Temperatur gehalten. Die Oberfläche wird auf ein zuvor validiertes Neutralisationsmedium übertragen, so dass die Wirkung des Desinfektionsmittels sofort neutralisiert wird. Die Anzahl überlebender Keime, die von der Oberfläche wieder gewonnen werden kann, wird quantitativ bestimmt.

Die Anzahl der Bakterien oder Pilze auf einer Oberfläche, die anstelle des Desinfektionsmittels mit Wasser standardisierter Härte behandelt wurde, wird ebenfalls bestimmt und die Verminderung der Lebendkeimzahlen in Abhängigkeit vom Produkt wird durch Differenzbildung berechnet.

5.2 Materialien und Reagenzien

5.2.1 Prüforganismen

Die bakterizide Wirkung muss unter Verwendung der folgenden vier Stämme bestimmt werden:

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15 442¹;
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6 538;
- *Enterococcus hirae* ATCC 10 541;
- *Escherichia coli* ATCC 10 536.

Die fungizide oder levurozide Wirkung muss mit den folgenden zwei Stämmen bewertet werden:

- *Candida albicans* ATCC 10 231;
- *Aspergillus brasiliensis* (früher *A. niger*) ATCC 16 404.

Falls für spezifische Anwendungen erforderlich, dürfen zusätzliche Stämme gewählt werden, zum Beispiel:

- *Salmonella typhimurium* ATCC 13 311;
- *Lactobacillus brevis* DSM 6 235;
- *Enterobacter cloacae* DSM 6 234;
- *Saccharomyces cerevisiae* (für Brauereien) oder ATCC 9 763 oder DSM 1 333;
- *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* (für Brauereien) DSM 70 487.

ANMERKUNG Bezüglich der entsprechenden Stammsammlungsnummern in einigen anderen Stammsammlungen siehe Anhang A.

Wenn zusätzliche Stämme verwendet werden, müssen sie unter optimalen Wachstumsbedingungen (Temperatur, Zeit, Atmosphäre) bebrütet und im Prüfbericht vermerkt werden.

1) ATCC 15 442, ATCC 6 538, ATCC 10 541, ATCC 10 536, ATCC 10 231, ATCC 16 404 und ATCC 13 311 sind die Sammelnummern von Stämmen, die von der American Type Culture Collections vertrieben werden. Diese Information dient lediglich zur Unterrichtung der Anwender dieser Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu den gleichen Ergebnissen führen.

Wenn die ausgewählten zusätzlichen Stämme nicht den festgelegten Stämmen entsprechen, muss ihre Eignung zur Bereitstellung der erforderlichen Inokula verifiziert werden. Wenn diese geprüften zusätzlichen Stämme nicht durch ein Referenzzentrum klassifiziert wurden, müssen ihre Identifikationsmerkmale angegeben werden. Zusätzlich müssen sie fünf Jahre von dem Prüflaboratorium oder der nationalen Kulturensammlung als Referenzprobe aufbewahrt werden.

5.2.2 Kulturmedien und Reagenzien

5.2.2.1 Allgemeines

Die Reagenzien müssen analysenrein und/oder für mikrobiologische Zwecke geeignet sein.

5.2.2.2 Wasser

Das Wasser muss frei von toxischen oder für Bakterien und Pilze hemmenden Substanzen sein. Es muss frisch destilliertes Wasser und darf kein demineralisiertes Wasser sein.

Es ist im Autoklaven (siehe 5.3.2.1) zu sterilisieren.

ANMERKUNG 1 Falls das Wasser während der Sterilisation der Reagenzien mitsterilisiert wird, ist dies nicht erforderlich.

ANMERKUNG 2 Falls destilliertes Wasser geeigneter Qualität nicht zur Verfügung steht, kann Wasser für Injektionslösungen (siehe Europäisches Arzneibuch) verwendet werden.

5.2.2.3 Trypton-Soja-Agar (TSA)

Für die Haltung von Bakterienstämmen und die Durchführung von Lebendkeimzählungen:

Trypton, aus Casein, pankreatisch verdaut	15,0 g
Sojapepton, Papainaufschluss von Sojabohnenmehl	5,0 g
NaCl	5,0 g
Agar	15,0 g
Wasser (siehe 5.2.2.2)	1 000,0 ml

Die Sterilisation erfolgt im Autoklaven (siehe 5.3.2.1). Nach der Sterilisation muss der pH-Wert des Mediums $7,2 \pm 0,2$ betragen, gemessen bei 20 °C.

5.2.2.4 Malzextrakt-Agar (MEA)

Für die Haltung von Pilzstämmen, die Sporenbildung und die Durchführung von Lebendkeimzählungen:

Malzextrakt (in Lebensmittelqualität), z. B. Cristomalzpulver von Difal	30,0 g
Agar	15,0 g
Wasser (siehe 5.2.2.2)	1 000,0 ml

Der Malzextrakt sollte Lebensmittelqualität (z. B. Cristomalzpulver von Difal) haben oder dieser entsprechen, d. h. nicht stark gereinigt sein und nicht nur auf Maltose basierend (z. B. Malzextrakt von OXOID)². Sollte es jedoch Probleme geben, so sind mindestens 75 % stachelige Sporen herzustellen, siehe 5.4.1.4.2.

2) Diese Information dient lediglich zur Unterrichtung der Anwender dieser Europäischen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu den gleichen Ergebnissen führen.

Die Sterilisation erfolgt im Autoklaven [5.3.2.1 a)]. Nach der Sterilisation muss der pH-Wert des Mediums $5,6 \pm 0,2$ betragen, gemessen bei $(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

Falls Probleme mit der Neutralisation (5.5.2.3 und 5.5.2.4) auftreten, kann es notwendig sein, Neutralisationsmedium zum MEA zuzugeben. Anhang B enthält eine Anleitung über die Neutralisationsmedien, die verwendet werden dürfen.

5.2.2.5 Verdünnungsmittel

Tryptonnatriumchloridlösung:

Trypton, aus Casein, pankreatisch verdaut	1,0 g
NaCl	8,5 g
Wasser (siehe 5.2.2.2)	1 000,0 ml

Die Sterilisation erfolgt im Autoklaven (siehe 5.3.2.1). Nach der Sterilisation muss der pH-Wert $7,0 \pm 0,2$ betragen, gemessen bei $20 ^\circ\text{C}$.

5.2.2.6 Neutralisationsmedium

Das Neutralisationsmedium muss für das zu prüfende Produkt nach 5.5.2.3 und 5.5.2.4 validiert sein. Das Neutralisationsmedium muss steril sein.

ANMERKUNG In Anhang B sind Informationen über Neutralisationsmedien angegeben, die sich für bestimmte Arten von Produkten als geeignet erwiesen haben.

5.2.2.7 Wasser standardisierter Härte für die Verdünnung der Produkte

Wasser standardisierter Härte für die Verdünnung der Produkte muss wie folgt hergestellt werden:

— Lösung A: 19,84 g wasserfreies Magnesiumchlorid (MgCl_2) und 46,24 g wasserfreies Calciumchlorid (CaCl_2) sind in Wasser (siehe 5.2.2.2) zu lösen und auf 1 000 ml aufzufüllen. Die Lösung ist durch Membranfiltration (5.3.2.19) oder im Autoklaven (5.3.2.1 a)) zu sterilisieren. Die Sterilisation im Autoklaven, falls angewendet, kann zu einem Flüssigkeitsverlust führen. In diesem Fall ist mit Wasser (5.2.2.2) unter aseptischen Bedingungen auf 1 000 ml aufzufüllen. Die Lösung ist im Kühlschrank (5.3.2.15) nicht länger als einen Monat aufzubewahren.

Lösung B: 35,02 g Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) sind in Wasser (siehe 5.2.2.2) zu lösen und auf 1 000 ml aufzufüllen. ~~Ä~~ *Gelöschter Text* ~~Ä~~ ^{N1)} Sterilisation erfolgt durch Membranfiltration (5.3.2.19). Die Lösung ist im Kühlschrank (5.3.2.15) nicht länger als eine Woche aufzubewahren.

Zu 6,0 ml Lösung A, die sich in einem 1 000-ml-Messkolben befindet, sind mindestens 600 ml Wasser (siehe 5.2.2.2) hinzuzugeben, dann sind 8,0 ml Lösung B hinzuzufügen. Es ist zu mischen und mit Wasser (siehe 5.2.2.2) auf 1 000 ml aufzufüllen.

Die Lösung ist durch einen Filter mit einer maximalen effektiven Porengröße von $0,45 \mu\text{m}$ zu sterilisieren.

Die pH-Messung erfolgt bei $(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$ (5.3.2.6), der pH-Wert des Wassers standardisierter Härte muss $7,0 \pm 0,2$ betragen. Erforderlichenfalls ist der pH-Wert unter Verwendung einer Lösung mit etwa 40 g/l (etwa 1 mol/l) Natriumhydroxid (NaOH) oder etwa 36,5 g/l (etwa 1 mol/l) Salzsäure (HCl) einzustellen.

N1) Nationale Fußnote: Die Änderungsmarken wurden aus der Referenzfassung übernommen. Die Deutsche Fassung ist nicht davon betroffen.