

## DIN EN 13697



ICS 71.100.35

Ersatz für  
DIN EN 13697:2019-10

**Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika –  
Quantitativer Oberflächen-Versuch zur Bestimmung der bakteriziden  
und levuroziden und/oder fungiziden Wirkung chemischer  
Desinfektionsmittel auf nicht porösen Oberflächen in den Bereichen  
Lebensmittel, Industrie, Haushalt und öffentliche Einrichtungen ohne  
mechanische Behandlung –  
Prüfverfahren und Anforderungen ohne mechanische Behandlung  
(Phase 2, Stufe 2);  
Deutsche Fassung EN 13697:2023**

Chemical disinfectants and antiseptics –

Quantitative non-porous surface test for the evaluation of bactericidal and yeasticidal and/  
or fungicidal activity of chemical disinfectants used in food, industrial, domestic and  
institutional areas without mechanical action –

Test method and requirements without mechanical action (phase 2, step 2);

German version EN 13697:2023

Antiseptiques et désinfectants chimiques –

Essai quantitatif de surface non poreuse pour l'évaluation de l'activité bactéricide, levuricide  
et/ou fongicide des désinfectants chimiques utilisés sans action mécanique 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 13697:2023

Gesamtumfang 45 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

## Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 13697:2023) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 216 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

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

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN ([www.din.de](http://www.din.de)) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

## Änderungen

Gegenüber DIN EN 13697:2019-10 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) die Impfkultur unter Bedingungen niedriger Belastung für *Pseudomonas aeruginosa* und *Candida albicans* wurde auf die vorherigen Zellzahlen wie in EN 13697:2015 verringert;
- b) eine genauere Überwachung des Trocknungsprozesses wurde als Anhang F (informativ) aufgenommen, um das Erreichen einer ausreichenden Anzahl überlebender Zellen für gültige Ergebnisse zu unterstützen;
- c) Aufnahme der levuroziden Wirkung in den Titel des Dokuments;
- d) Erläuterung, dass 1 % rekonstituierte Milch als alleinige Verschmutzung (Belastungssubstanz) in der Milchwirtschaft verwendet werden kann (keine Notwendigkeit, BSA zu prüfen);
- e) zur Harmonisierung mit anderen Normen des CEN/TC 216 wurden die Bezeichnungen der Variablen *N<sub>d</sub>*, *N<sub>c</sub>*, *N<sub>C</sub>* und *N<sub>T</sub>* in *N<sub>a</sub>*, *A*, *B* und *C* umbenannt;
- f) Erläuterung des Zählverfahrens in 5.5.3;
- g) Korrektur von Gleichung (2) und Gleichung (3) in 5.5.3;
- h) Korrektur des Berechnungsfehlers für die Keimzahlen 0/0, der nun zu „lg = 0,7“ führt;
- i) *Listeria monocytogenes* wurde als zusätzlicher Prüforganismus aufgenommen;
- j) Dokument redaktionell überarbeitet und an die derzeit gültigen Gestaltungsregeln angepasst.

## Frühere Ausgaben

DIN EN 13697: 2002-01, 2015-06, 2019-10

Deutsche Fassung

Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika —  
Quantitativer Oberflächen-Versuch zur Bestimmung der  
bakteriziden und levuroziden und/oder fungiziden Wirkung  
chemischer Desinfektionsmittel auf nicht porösen Oberflächen in  
den Bereichen Lebensmittel, Industrie, Haushalt und öffentliche  
Einrichtungen ohne mechanische Behandlung —  
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 yeasticidal and/or fungicidal activity of  
chemical disinfectants used in food, industrial, domestic and  
institutional areas without mechanical action —  
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, levuricide et/ou fongicide des  
désinfectants chimiques utilisés sans action mécanique 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 4. September 2023 angenommen.

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 . . . . .                                                                                                        | 4     |
| Einleitung . . . . .                                                                                                                  | 6     |
| 1 Anwendungsbereich . . . . .                                                                                                         | 7     |
| 2 Normative Verweisungen . . . . .                                                                                                    | 8     |
| 3 Begriffe . . . . .                                                                                                                  | 9     |
| 4 Anforderungen . . . . .                                                                                                             | 9     |
| 5 Prüfverfahren . . . . .                                                                                                             | 10    |
| 5.1 Kurzbeschreibung . . . . .                                                                                                        | 10    |
| 5.2 Materialien und Reagenzien . . . . .                                                                                              | 11    |
| 5.2.1 Prüforganismen . . . . .                                                                                                        | 11    |
| 5.2.2 Kulturmedien und Reagenzien . . . . .                                                                                           | 11    |
| 5.2.3 Prüfoberfläche . . . . .                                                                                                        | 15    |
| 5.3 Geräte und Glasgeräte . . . . .                                                                                                   | 15    |
| 5.4 Herstellung der Prüforganismus-Suspensionen und der Produktprüflösungen . . . . .                                                 | 16    |
| 5.4.1 Prüforganismus-Suspensionen . . . . .                                                                                           | 16    |
| 5.4.2 Produktprüflösungen . . . . .                                                                                                   | 20    |
| 5.5 Verfahrensablauf . . . . .                                                                                                        | 20    |
| 5.5.1 Auswahl der Versuchsbedingungen . . . . .                                                                                       | 20    |
| 5.5.2 Prüfablauf . . . . .                                                                                                            | 21    |
| 5.5.3 Quantifizierung der Prüfmischungen . . . . .                                                                                    | 25    |
| 5.6 Berechnung und Angabe der Ergebnisse . . . . .                                                                                    | 26    |
| 5.6.1 Ermittlung von Daten: Auszählung der gewichteten Mittelwerte . . . . .                                                          | 26    |
| 5.6.2 Verifizierung des Verfahrens . . . . .                                                                                          | 27    |
| 5.6.3 Angabe der Ergebnisse . . . . .                                                                                                 | 27    |
| 5.6.4 Schlussfolgerung . . . . .                                                                                                      | 28    |
| 5.7 Prüfbericht . . . . .                                                                                                             | 29    |
| Anhang A (informativ) Entsprechende Referenzstämme . . . . .                                                                          | 31    |
| Anhang B (informativ) Neutralisationsmedien . . . . .                                                                                 | 33    |
| Anhang C (informativ) Angabe der Ergebnisse nach dem Verdünnungs-Neutralisationsverfahren . . . . .                                   | 35    |
| Anhang D (informativ) Bakterizide Wirkung auf Oberflächen unter allgemeinen Anwendungsbedingungen (bei niedriger Belastung) . . . . . | 37    |
| Anhang E (informativ) Präzision der Prüfergebnisse . . . . .                                                                          | 39    |
| Anhang F (informativ) Alternativer Endpunkt der Trocknung . . . . .                                                                   | 40    |
| Literaturhinweise . . . . .                                                                                                           | 43    |

Bilder

|                                                                                                                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Bild 1 — Beimpfter Träger . . . . .                                                                                                                                                                                                | 22 |
| Bild 2 — Sichtbar getrocknete Impfkultur . . . . .                                                                                                                                                                                 | 22 |
| Bild 3 — Auf beimpften getrockneten Keimträger aufgebracht Produkt . . . . .                                                                                                                                                       | 23 |
| Bild F.1 — Beispiel einer Trocknungskurve von <i>P. aeruginosa</i> ATCC® 15442™, getrocknet nach EN 13697:2019. . . . .                                                                                                            | 41 |
| Bild F.2 — Mit 0,05 ml Inokulum-Prüfsuspension beimpfte Keimträger nach einer Trocknungszeit von a) 0 min, b) 15 min (2 µl bis 8 µl verbleibende Inokulum-Prüfsuspension), c) 25 min Trocknungszeit (= sichtbar trocken) . . . . . | 42 |

Tabellen

Tabelle 1 — Versuchsbedingungen . . . . . 9  
Tabelle C.1 — Prüfergebnisse . . . . . 35

## Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN 13697:2023) 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 Mai 2024, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Mai 2024 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 ersetzt EN 13697:2015+A1:2019.

Die wesentlichen Änderungen im Vergleich zur Vorgängerausgabe EN 13697:2015+A1:2019, die die Ausgabe EN 13697:2015 änderte, sind im Folgenden aufgeführt:

- die Impfkultur unter Bedingungen niedriger Belastung für *Pseudomonas aeruginosa* und *Candida albicans* wurde auf die vorherigen Zellzahlen wie in EN 13697:2015 verringert;
- eine genauere Überwachung des Trocknungsprozesses wurde als Anhang F (informativ) aufgenommen, um das Erreichen einer ausreichenden Anzahl überlebender Zellen für gültige Ergebnisse zu unterstützen;
- Aufnahme der levuroziden Wirkung in den Titel des Dokuments;
- Erläuterung, dass 1%ige rekonstituierte Milch als alleinige Verschmutzung (Belastungssubstanz) in der Milchwirtschaft verwendet werden kann (keine Notwendigkeit, BSA zu prüfen);
- zur Harmonisierung mit anderen Normen des CEN/TC 216 wurden die Bezeichnungen der Variablen *N<sub>d</sub>*, *N<sub>c</sub>*, *N<sub>C</sub>* und *N<sub>T</sub>* in *N<sub>a</sub>*, *A*, *B* und *C* umbenannt;
- Erläuterung des Zählverfahrens in 5.5.3;
- Korrektur von Gleichung (2) und Gleichung (3) in 5.5.3;
- Korrektur des Berechnungsfehlers für die Keimzahlen 0/0, der nun zu „lg = 0,7“ führt;
- *Listeria monocytogenes* wurde als zusätzlicher Prüforganismus aufgenommen;
- es wurden mehrere redaktionelle Korrekturen und Erläuterungen vorgenommen.

Die folgenden Änderungen in der Ausgabe EN 13697:2015+A1:2019, die die Ausgabe EN 13697:2015 ändern, wurden beibehalten:

- 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 bzw. 5.2.2.8.3);
- Anleitung zur Verwendung eines Vakuum-Exsikkators ergänzt;
- Erläuterung zur Bestimmung der mikrobiziden Konzentrationen durch Aktualisierung von 5.5.2.1 b) und Ergänzung von Bildern von Trägern.

Die nach EN 13697:2015 und EN 13697:2015+A1:2019 ermittelten Daten sind weiterhin gültig. Die nach EN 13697:2001 ermittelten Daten sind weiterhin gültig, mit Ausnahme von *Aspergillus brasiliensis* (aufgrund einer geänderten Sporenherstellung).

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

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

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

Dieses Dokument ist überarbeitet worden, um die für *P. aeruginosa* und *C. albicans* angenommenen Prüfparameter unter „niedrigen Belastungen“ zu ändern, die Bezeichnung der Prüfgrößen *N*, *B*, *C*, *A*, *Na* mit den anderen neuen Normen des CEN/TC 216 zu harmonisieren und Einzelheiten der Koloniezählung und -berechnung zu erläutern und/oder zu korrigieren.

Der Laborversuch simuliert getreu praxisnahe 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 Versuchsbedingungen.

Die Bedingungen sind dazu vorgesehen, allgemeinen Ansprüchen zu genügen und einen Vergleich zwischen Laboren und Produktarten zu ermöglichen.

Bei einigen Anwendungen können die Anwendungsempfehlungen für ein Produkt jedoch abweichen, so dass zusätzliche Prüfbedingungen angewendet werden müssen.

## 1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Prüfverfahren (Phase 2, Stufe 2) und die Mindestanforderungen an die bakterizide und levurozide und/oder fungizide 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 Zubereitung ergeben; ausgenommen davon sind Bereiche und Situationen mit medizinisch indizierter Desinfektion und Produkte, die auf lebenden Geweben benutzt werden.

Dieses Dokument ist anwendbar für Produkte, die zur Desinfektion auf nicht porösen Oberflächen ohne mechanische Behandlung verwendet werden.

Dieses Dokument ist mindestens anwendbar für:

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 Brennereien und Zuckerraffinerien);
- 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) Pharmazeutika;
  - 4) Kosmetika und Toilettenartikel;
  - 5) Textilien;
  - 6) Raumfahrtindustrie und Computerindustrie;
  - 7) usw.

Dieses Dokument ist nicht anwendbar, wenn das Produkt über ein automatisches Verfahren zur luftübertragenen Desinfektion angewendet wird; siehe in solchen Fällen EN 17272.

Bei Anwendung dieses Dokuments ist die Bestimmung der bakteriziden und levuroziden und/oder fungiziden Wirkung des unverdünnten Produkts möglich. Da vom aktiven bis zum nicht aktiven Bereich drei Konzentrationen geprüft werden, bedarf es einer Verdünnung des Produkts, deshalb bildet das Produkt eine homogene stabile Zubereitung 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 ist dazu vorgesehen, die Wirkung gewerblich hergestellter Zubereitungen oder anderer aktiver Substanzen auf Bakterien und/oder Pilze unter Anwendungsbedingungen zu bestimmen.

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

## **2 Normative Verweisungen**

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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 Prüforganismen 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.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <https://www.electropedia.org/>

### 4 Anforderungen

Das Produkt muss mindestens eine 4 Dezimal-logarithmische (lg) Reduktion für Bakterien und mindestens eine 3 Dezimal-logarithmische (lg) Reduktion für Pilze aufweisen, wenn es nach Tabelle 1 und 5.5.1 geprüft wird.

**Tabelle 1 — Versuchsbedingungen**

| 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                                                                                                             |
|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Prüforganismen (siehe 5.2.1)<br>Mindestspektrum von Prüforganismen | <i>Enterococcus hirae</i><br><i>Escherichia coli</i><br><i>Pseudomonas aeruginosa</i><br><i>Staphylococcus aureus</i>                                                                   | <i>Candida albicans</i>                                                                                                                                                                 | <i>Candida albicans</i><br><i>Aspergillus brasiliensis</i>                                                                                                                              |
| Prüforganismen zusätzlich (Beispiele)                              | <i>Salmonella typhimurium</i><br><i>Lactobacillus brevis</i><br><i>Enterobacter cloacae</i>                                                                                             | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (für Brauereien)<br><i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i> (für Brauereien)                                                            | alle relevanten Prüforganismen                                                                                                                                                          |
| Prüftemperatur                                                     | Im Bereich von $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ bis $(40 \pm 1)^\circ\text{C}$<br>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 $(40 \pm 1)^\circ\text{C}$<br>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 $(40 \pm 1)^\circ\text{C}$<br>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>                                                                                                            |

Tabelle 1 (fortgesetzt)

| 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  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| Belastungssubstanz<br>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 in der Milchwirtschaft                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 1,0%ige rekonstituierte Milch (= 1,0 g/l Milchpulver)                                                                                               | 1,0%ige rekonstituierte Milch (= 1,0 g/l Milchpulver)                        | 1,0%ige rekonstituierte Milch (= 1,0 g/l Milchpulver)                        |
| Belastungssubstanz zusätzlich                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | alle relevanten Substanzen                                                                                                                          | alle relevanten Substanzen                                                   | alle relevanten Substanzen                                                   |
| (dezimale) logarithmische (lg) Reduktion in Bezug auf die Wasserkontrolle                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | $\geq 4$ lg                                                                                                                                         | $\geq 3$ lg                                                                  | $\geq 3$ lg                                                                  |
| <p>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.</p> <p>Die Einwirkzeit für das Produkt wird vom Hersteller festgelegt.</p> <p>Wenn besondere Anwendungen berücksichtigt werden, muss zusätzlich die bakterizide/levurozide/fungizide Wirkung unter relevanten Bedingungen bezüglich Einwirkzeit, Temperatur, Stämmen und Belastungssubstanzen bestimmt werden.</p> |                                                                                                                                                     |                                                                              |                                                                              |

## 5 Prüfverfahren

### 5.1 Kurzbeschreibung

Eine Prüfsuspension, die aus Bakterien oder Pilzen in einer Lösung von Belastungssubstanzen besteht, wird auf eine Prüfoberfläche aus nichtrostendem Stahl abgeimpft und getrocknet. 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 Organismen, die von der Oberfläche zurückgewonnen 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 Reduktion 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 bewertet werden:

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 15442<sup>TM1</sup>;
- *Staphylococcus aureus* ATCC® 6538<sup>TM</sup>;
- *Enterococcus hirae* ATCC® 10541<sup>TM</sup>;
- *Escherichia coli* ATCC® 10536<sup>TM</sup>.

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

- *Candida albicans* ATCC® 10231<sup>TM</sup>;
- *Aspergillus brasiliensis* (früher *A. niger*) ATCC® 16404<sup>TM</sup>.

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

- *Salmonella typhimurium* ATCC® 13311<sup>TM</sup>;
- *Lactobacillus brevis* DSM 6235;
- *Enterobacter cloacae* DSM 6234;
- *Listeria monocytogenes* ATCC® 15313<sup>TM</sup> oder ATCC® 19117<sup>TM</sup>;
- *Saccharomyces cerevisiae* (für Brauereien) ATCC® 9763<sup>TM</sup> oder DSM 1333;  
oder
- *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* (für Brauereien). DSM 70487.

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

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

Wenn die ausgewählten zusätzlichen Stämme nicht den festgelegten Stämmen entsprechen, muss ihre Eignung zur Bereitstellung von Impfkulturen mit der erforderlichen Konzentration verifiziert werden. Wenn die geprüften zusätzlichen Stämme nicht durch ein Referenzzentrum klassifiziert wurden, müssen ihre Identifikationsmerkmale angegeben werden. Zusätzlich müssen sie 5 Jahre von dem Prüflabor oder der nationalen Kultursammlung als Referenzprobe aufbewahrt werden.

### 5.2.2 Kulturmedien und Reagenzien

#### 5.2.2.1 Allgemeines

Die Reagenzien müssen von analytischer Qualität und/oder für mikrobiologische Zwecke geeignet sein.

---

1 ATCC® 15442<sup>TM</sup>, ATCC® 6538<sup>TM</sup>, ATCC® 10541<sup>TM</sup>, ATCC® 10536<sup>TM</sup>, ATCC® 10231<sup>TM</sup>, ATCC® 16404<sup>TM</sup>, ATCC® 13311<sup>TM</sup>, ATCC® 15313<sup>TM</sup>, ATCC® 19117<sup>TM</sup> und ATCC® 9763<sup>TM</sup> sind die Handelsmarken von Produkten, die von American Type Culture Collections vertrieben werden. Diese Information dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN. Gleichwertige Produkte können verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu identischen Ergebnissen führen.

### **5.2.2.2 Wasser**

Das Wasser muss frei von toxischen oder für Bakterien und Pilze hemmenden Substanzen sein. Es muss frisch in einer Glasapparatur destilliertes Wasser oder Wasser von gleicher Qualität/Reinheit und darf kein demineralisiertes Wasser sein.

Die Sterilisation erfolgt im Autoklaven (siehe 5.3.2.1).

**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 Injektionszwecke (siehe Europäisches Arzneibuch) verwendet werden.

### **5.2.2.3 Trypton-Soja-Agar (TSA)**

Für die Erhaltung von Bakterienstämmen und die Durchführung von Lebendkeimzählungen.

|                                                 |            |
|-------------------------------------------------|------------|
| Trypton, pankreatisch verdautes Casein          | 15,0 g     |
| Sojapepton, papainisch verdautes 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 Erhaltung von Pilzstämmen, die Sporenbildung und die Durchführung von Lebendkeimzählungen.

|                                                                                      |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Malzextrakt (in Lebensmittelqualität), z. B. Cristomalzpulver von Difal <sup>2</sup> | 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<sup>™</sup>)<sup>3</sup>. Wenn jedoch Probleme bei der Herstellung von mindestens 75 % stacheliger Sporen auftreten, siehe 5.4.1.3.

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  $(20 \pm 1)$  °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.

---

2 Cristomalzpulver von Difal ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN.

3 Malzextrakt von OXOID® ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN.