

DIN EN 16437



ICS 71.100.35

Ersatz für
DIN EN 16437:2014-07

**Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika –
Quantitativer Oberflächenversuch zur Bestimmung der bakteriziden
Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den
Veterinärbereich auf porösen Oberflächen ohne mechanische Wirkung –
Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2);
Deutsche Fassung EN 16437:2014+A1:2019**

Chemical disinfectants and antiseptics –

Quantitative surface test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in veterinary area on porous surfaces without mechanical action –

Test method and requirements (phase 2, step 2);

German version EN 16437:2014+A1:2019

Antiseptiques et désinfectants chimiques –

Essai quantitatif de surface pour l'évaluation de l'activité bactéricide des antiseptiques et des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine vétérinaire sur des surfaces poreuses sans action mécanique –

Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 2);

Version allemande EN 16437:2014+A1:2019

Gesamtumfang 42 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 16437:2014+A1:2019) wurde von der Arbeitsgruppe 2 „Anwendung im Veterinärbereich“ (Sekretariat: Vereinigtes Königreich, BSI) des Technischen Komitees CEN/TC 216 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika“, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird, unter Beteiligung deutscher Experten erarbeitet.

Für die deutsche Mitarbeit ist der Arbeitsausschuss NA 057-08-04 AA „Desinfektionsmittel Tierhaltung/Lebensmittelbereich“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) verantwortlich

Dieses Dokument enthält die Änderung 1, angenommen von CEN am 2019-08-09.

Der Beginn und das Ende von neuem oder geändertem Text werden durch die Markierungen   angezeigt.

Änderungen

Gegenüber DIN EN 16437:2014-07 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) das Europäische Vorwort und der Anwendungsbereich wurden aktualisiert;
- b) Tabelle 1 wurde geändert;
- c) der Text von 5.2.2.3, 5.2.2.8, 5.5.1.1 und 5.9.2 wurde geändert.

Frühere Ausgaben

DIN EN 16437: 2014-07

Deutsche Fassung

**Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika -
Quantitativer Oberflächenversuch zur Bestimmung der
bakteriziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und
Antiseptika für den Veterinärbereich auf porösen Oberflächen
ohne mechanische Wirkung - Prüfverfahren und
Anforderungen (Phase 2, Stufe 2)**

Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative surface test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in veterinary area on porous surfaces without mechanical action - Test method and requirements (phase 2, step 2)

Antiseptiques et désinfectants chimiques - Essai quantitatif de surface pour l'évaluation de l'activité bactéricide des antiseptiques et des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine vétérinaire sur des surfaces poreuses sans action mécanique - Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 2)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 30. November 2013 angenommen und schließt Änderung 1 ein, die am 9. August 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 24, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Anforderungen	6
5 Prüfverfahren	7
5.1 Kurzbeschreibung	7
5.2 Materialien und Reagenzien	8
5.2.1 Prüfkeime	8
5.2.2 Kulturmedien und Reagenzien	8
5.2.3 Prüffläche	11
5.3 Apparaturen und Glasgeräte	12
5.3.1 Allgemeines	12
5.3.2 Übliche mikrobiologische Laborausrüstung	12
5.4 Herstellung der Prüfkeimsuspension und der Produktprüflösungen	13
5.4.1 Prüfkeimsuspension (Prüf- und Validierungssuspension)	13
5.4.2 Produktprüflösung	15
5.5 Verfahrensablauf zur Beurteilung der bakteriziden Wirkung des Produkts	15
5.5.1 Allgemeines	15
5.5.2 Prüfverfahren (Verdünnungs-Neutralisations-Verfahren)	16
5.6 Versuchsdaten und Berechnung	20
5.6.1 Erläuterung von Begriffen und Abkürzungen	20
5.6.2 Berechnung	21
5.7 Verifizierung des Verfahrens	24
5.7.1 Allgemeines	24
5.7.2 Kontrolle der gewichteten mittleren Keimzahlen	25
5.7.3 Grundlegende Grenzwerte	25
5.8 Auswertung und Präzision	25
5.8.1 Keimreduktion	25
5.8.2 Kontrolle der wirksamen und der unwirksamen Produktprüflösung (5.4.2)	26
5.8.3 Limitierender Prüfkeim und bakterizide Konzentration	26
5.8.4 Präzision, Wiederholungen	26
5.9 Interpretation der Ergebnisse – Schlussfolgerung	26
5.9.1 Allgemeines	26
5.9.2 Bakterizide Wirkung für allgemeine Zwecke	26
5.9.3 Eignung für bestimmte Anwendungsgebiete	27
5.10 Prüfbericht	27
Anhang A (informativ) Referenzstämme in nationalen Kultursammlungen	29
Anhang B (informativ) Neutralisationsmedien – Beispiele von Neutralisationsmedien für die verbleibende antimikrobielle Wirkung von chemischen Desinfektionsmitteln und Antiseptika	30
Anhang C (informativ) Graphische Darstellung des Verdünnungs-Neutralisations-Verfahrens	32

Anhang D (informativ) Beispiel für einen typischen Prüfbericht	36
Literaturhinweise.....	40

▣_{A1} Europäisches Vorwort ▣_{A1}

Dieses Dokument (EN 16437:2014+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 April 2020, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis April 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 2019-08-09.

Der Beginn und das Ende von neuem oder geändertem Text werden durch die Markierungen **▣_{A1}** **▣_{A1}** angezeigt.

Dieses Dokument ersetzt **▣_{A1}** EN 16437:2014 **▣_{A1}**.

▣_{A1} Dieses Dokument wurde geändert, um den Anwendungsbereich zu aktualisieren und einen Fehler in der Rezeptur von Trypton-Soja-Agar und -Bouillon zu korrigieren. Die maximale Einwirkzeit wurde außerdem erweitert und eine obligatorische Einwirkzeit entfernt. Die oben detaillierten Änderungen haben keine Auswirkungen auf die Prüfergebnisse, die durch Anwendung der vorherigen Fassung erhalten wurden. Diese Ergebnisse sind weiterhin gültig. **▣_{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 legt einen Oberflächenversuch zur Ermittlung fest, ob ein chemisches Desinfektionsmittel oder Antiseptikum für die Anwendung im Veterinärbereich auf porösen Oberflächen ohne mechanische Wirkung eine bakterizide Wirkung unter den in dieser Europäischen Norm festgelegten Laborbedingungen aufweist, die die Wirkung von Desinfektionsmitteln bei der praktischen Anwendung beeinflussen.

Der Laborversuch berücksichtigt praktische Anwendungsbedingungen für das Produkt, einschließlich vorgetrockneter Prüfkeime und Belastungssubstanzen auf einer Oberfläche, Einwirkzeit und Temperatur, d. h. Bedingungen, die die Wirkung des Produkts in praktischen Situationen beeinflussen können.

Die Bedingungen sollen allgemeinen Ansprüchen genügen und einen Vergleich zwischen Laboratorien und Produktarten ermöglichen. Jede in dieser Prüfung festgestellte Gebrauchskonzentration des chemischen Desinfektionsmittels oder Antiseptikums entspricht den gewählten Untersuchungsbedingungen. Für einige Anwendungszwecke können jedoch die Anwendungsempfehlungen für ein Produkt abweichen, und deshalb müssen zusätzliche Prüfbedingungen angewendet werden.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein Prüfverfahren und die Mindestanforderungen an die bakterizide Wirkung von chemischen Desinfektionsmitteln und Antiseptika fest, die bei Verdünnung mit Wasser standardisierter Härte oder – im Fall gebrauchsfertiger Produkte – mit Wasser eine homogene, physikalisch stabile Zubereitung bilden.

Diese Europäische Norm gilt für Produkte, die im Veterinärbereich auf porösen Oberflächen ohne mechanische Wirkung angewendet werden, d.h. bei der Aufzucht, Haltung, Produktion A1 in veterinärmedizinischen Gesundheitseinrichtungen, A1 und beim Transport von Tieren sowie bei der Tierkörperbeseitigung, außer wenn die Tiere nach der Tötung durch Zuführung in die weiterverarbeitende Industrie in die Nahrungsmittelkette eintreten.

EN 14885 legt im Einzelnen die Beziehung der verschiedenen Prüfungen untereinander sowie zu den „Anwendungsempfehlungen“ fest.

ANMERKUNG 1 Das beschriebene Verfahren ist für die Bestimmung der Wirkung von handelsüblichen Zubereitungen oder Wirkstoffen unter den Bedingungen, unter denen sie verwendet werden, bestimmt.

ANMERKUNG 2 Dieses Verfahren entspricht einer Prüfung der Phase 2, Stufe 2.

ANMERKUNG 3 Dieses Verfahren kann nicht angewendet werden, um die Wirkung von Produkten gegen Mykobakterien oder bakterielle Sporen zu bewerten.

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*

3 Begriffe

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

4 Anforderungen

Bei dem Produkt muss bei Prüfung nach Tabelle 1 und Abschnitt 5 unter Simulierung von Verschmutzung (3,0 g/l Rinderserumalbumin) eine dezimal-logarithmische (lg-)Reduktion der Lebendkeimzahl gegenüber einem Kontrollversuch mit Wasser um mindestens 4 Stufen nachgewiesen werden.

Tabelle 1 — Obligatorische und zusätzliche Prüfbedingungen

Prüfbedingungen	Bakterizide Wirkung auf porösen Oberflächen ohne mechanische Wirkung im Veterinärbereich
Prüfkeim a) obligatorisch	<i>Enterococcus hirae</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
b) zusätzlich	jeder geeignete Prüfkeim
Prüftemperatur a) obligatorisch	$(10 \pm 1) ^\circ\text{C}$
b) zusätzlich	$(4 \pm 1) ^\circ\text{C}$; $(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$; $(40 \pm 1) ^\circ\text{C}$
A1 Einwirkzeit	Die Einwirkzeit(en) muss/müssen aus den nachfolgend angegebenen Werten ausgewählt werden. A1
A1 minimal	$1 \text{ min} \pm 5 \text{ s}$ A1
A1 Bereich	$5 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$, $15 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$, $30 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$, $60 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$ und dann in Intervallen von 30 min bis auf $330 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$ A1
A1 maximal	$360 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$ A1
Belastungssubstanz a) obligatorisch	3,0 g/l Rinderserumalbumin
b) zusätzlich	jede geeignete Substanz
A1 gelöschter Text A1 ANMERKUNG Bei den zusätzlichen Bedingungen kann die als Ergebnis festgelegte Konzentration niedriger sein als die unter den obligatorischen Prüfbedingungen erhaltene Konzentration.	

Jede beliebige zusätzliche spezifische bakterizide Wirkung muss nach 5.2.1 und 5.5.1.1 bestimmt werden, um besondere bestimmungsgemäße Anwendungsbedingungen zu berücksichtigen.

5 Prüfverfahren

5.1 Kurzbeschreibung

Eine Prüfsuspension von Bakterien gemischt mit der Belastungssubstanz wird auf die Prüffläche abgeimpft und trocknen gelassen. Nach der Trocknungszeit wird die Prüffläche in eine Probe des Produkts im Lieferzustand und/oder verdünnt mit Wasser standardisierter Härte (bei gebrauchsfertigen Produkten: Wasser) eingetaucht, wobei sichergestellt wird, dass die Prüffläche für eine Minute vollständig durch die Flüssigkeit bedeckt wird. Die Prüffläche wird aus der Produktlösung herausgenommen und über eine festgelegte Einwirkdauer bei einer festgelegten Temperatur gehalten, wie in Abschnitt 4 und 5.5.1.1 festgelegt. Nach Ablauf dieser Einwirkzeit wird die Prüffläche in ein Neutralisationsmedium überführt, so dass die Wirkung des Desinfektionsmittels unmittelbar neutralisiert wird. Durch Ultraschalleinwirkung werden die Bakterien von der Prüffläche entfernt. Die Anzahl überlebender Bakterien, die von der Prüffläche zurück gewonnen werden können, wird quantitativ bestimmt.

Die Anzahl der Bakterien auf einer mit Wasser anstelle des Desinfektionsmittels behandelten Fläche wird ebenfalls bestimmt und die Reduktion der Lebendkeimzahl berechnet.

Die Prüfung wird unter Verwendung von *Enterococcus hirae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* als Prüfkeime durchgeführt (Abschnitt 4, Tabelle 1).

Zusätzliche und optionale Einwirkzeiten und Temperaturen sind festgelegt (Abschnitt 4, Tabelle 1). Zusätzliche Belastungssubstanzen und Prüfkeime dürfen verwendet werden.

5.2 Materialien und Reagenzien

5.2.1 Prüfkeime

Zur Ermittlung der bakteriziden Wirkung sind die folgenden Stämme¹⁾ zu verwenden:

Enterococcus hirae ATCC 10541;

Proteus vulgaris ATCC 13315;

Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442;

Staphylococcus aureus ATCC 6538.

ANMERKUNG In Anhang A sind entsprechende Stammnummern in einigen anderen Kultursammlungen zu finden.

Die erforderliche Bebrütungstemperatur für diese Keime liegt bei (36 + 1) °C oder (37 + 1) °C (5.3.2.3).

Für alle während einer Prüfung sowie deren Kontrolle und Validierung durchgeführten Bebrütungen muss die gleiche Temperatur (entweder 36 °C oder 37 °C) angewendet werden.

Wenn zusätzliche Prüfkeime verwendet werden, müssen sie unter den im Prüfbericht angeführten optimalen Wachstumsbedingungen (Temperatur, Zeit, Atmosphäre, Medien) bebrütet werden. Wenn die gewählten zusätzlichen Prüfkeime nicht den festgelegten Stämmen entsprechen, muss ihre Eignung zur Bereitstellung der erforderlichen Inokula verifiziert werden. Wenn diese zusätzlichen Prüfkeime nicht in einem Referenz-Zentrum klassifiziert wurden, müssen ihre Identifizierungsmerkmale angegeben werden. Außerdem müssen sie von dem Prüflaboratorium oder der nationalen Kultursammlung für fünf Jahre zu Referenzzwecken aufbewahrt werden.

5.2.2 Kulturmedien und Reagenzien

5.2.2.1 Allgemeines

Alle in dieser Europäischen Norm angegebenen Gewichtsangaben von chemischen Substanzen beziehen sich auf wasserfreie Salze. Hydratisierte Formen dürfen als Alternative verwendet werden, aber die erforderlichen Gewichtsangaben müssen angepasst werden, um daraus resultierende Differenzen in den relativen Molekülmassen zu berücksichtigen.

Die Reagenzien müssen analysenrein und/oder für mikrobiologische Zwecke geeignet sein. Sie müssen frei von Substanzen sein, die toxisch oder hemmend auf die Prüfkeime wirken.

Wenn die zusätzlichen Stämme nicht auf den Kulturmedien (5.2.2.3) wachsen oder nicht mit dem Verdünnungsmittel (5.2.2.4) verwendet werden können, sind zusätzliche Medien zu verwenden und im Prüfbericht anzugeben, ebenso wie zusätzliche Bebrütungsbedingungen.

¹⁾ ATCC-Nummern sind die Sammlungsnummern von Stämmen, die durch die American Type Culture Collections (ATCC) geliefert werden. Dies dient lediglich zur Information der Anwender dieser Europäischen Norm und bedeutet keine Anerkennung dieses Produktes durch CEN.

Um die Reproduzierbarkeit zu verbessern, wird empfohlen, handelsübliche wasserfreie Materialien zur Herstellung von Kulturmedien zu verwenden. Die Anweisungen des Herstellers zur Verarbeitung dieser Erzeugnisse sollten strengstens befolgt werden.

Gebrauchsfertige Medien dürfen verwendet werden, wenn sie den Anforderungen entsprechen.

Für jedes Kulturmedium und Reagens sollte ein Verfallsdatum festgelegt werden.

5.2.2.2 Wasser

Das Wasser muss frisch in einer Glasapparatur destilliertes und darf nicht demineralisiertes Wasser sein. Falls kein destilliertes Wasser geeigneter Qualität zur Verfügung steht, darf Wasser für Injektionszwecke (siehe Literaturhinweis [1]) verwendet werden.

Die Sterilisation erfolgt im Autoklaven [5.3.2.1 a)]. Eine Sterilisation ist nicht erforderlich, falls das Wasser z. B. für die Herstellung von Kulturmedien verwendet und anschließend sterilisiert wird.

ANMERKUNG Hinsichtlich des Verfahrens zur Herstellung von Wasser standardisierter Härte siehe 5.2.2.6.

5.2.2.3 Trypton-Soja-Agar (TSA)

Trypton-Soja-Agar, bestehend aus:

Trypton, tryptisch verdautes Casein	15,0 g
Sojapepton, Papain-Aufschluss von Sojabohnenmehl	5,0 g
gelöschter Text	
Natriumchlorid (NaCl)	5,0 g
Agar	15,0 g
Wasser (5.2.2.2)	bis zu 1 000 ml

Die Sterilisation erfolgt im Autoklaven [5.3.2.1 a)]. Nach der Sterilisation muss der pH-Wert des Mediums $7,2 \pm 0,2$ betragen, gemessen bei $(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

Im Falle des Auftretens von Problemen mit der Neutralisation (5.5.1.2 und 5.5.1.3) ist es möglicherweise erforderlich, dem TSA ein Neutralisationsmedium zuzusetzen. Im Anhang B finden sich Beispiele von Neutralisationsmedien, die sich für einige Arten von Produkten verwendet werden können. Es wird empfohlen, kein Neutralisationsmedium zu verwenden, das zu einer Trübung im Agar führt.

5.2.2.4 Verdünnungsmittel

Trypton-Natriumchlorid-Lösung, bestehend aus:

Trypton, tryptisch verdautes Casein	1,0 g
Natriumchlorid (NaCl)	8,5 g
Wasser (5.2.2.2)	bis zu 1 000 ml

Sterilisation erfolgt im Autoklaven [5.3.2.1 a)]. Nach der Sterilisation muss der pH-Wert des Verdünnungsmittels $7,0 \pm 0,2$, gemessen bei $(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$, betragen.

5.2.2.5 Neutralisationsmedium

Das Neutralisationsmedium muss für das zu prüfende Produkt nach 5.5.1.2, 5.5.1.3 und 5.5.2 validiert sein. Das Neutralisationsmedium muss steril sein. Das Neutralisationsmedium wird dem Verdünnungsmittel (5.2.2.4) und TSB (5.2.2.8) hinzugefügt.

ANMERKUNG In Anhang B finden sich Angaben über Neutralisationsmedien, die sich für einige Arten von Produkten als geeignet erwiesen haben.

5.2.2.6 Wasser standardisierter Härte zur Verdünnung der Produkte

Die Vorgehensweise bei der Herstellung von 1 l Wasser standardisierter Härte ist wie folgt:

- Herstellung von Lösung A: 19,84 g Magnesiumchlorid (MgCl_2) und 46,24 g Calciumchlorid (CaCl_2) sind in Wasser (5.2.2.2) zu lösen und auf 1 000 ml aufzufüllen. Sterilisation erfolgt durch Membranfiltration (5.3.2.7) oder im Autoklaven [5.3.2.1 a)]. Sofern das Autoklavieren angewendet wird, kann dies 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 (5.3.2.8) nicht länger als einen Monat aufzubewahren;
- Herstellung von Lösung B: 35,02 g Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) sind in Wasser (5.2.2.2) zu lösen und auf 1 000 ml aufzufüllen. Sterilisation erfolgt durch Membranfiltration (5.3.2.7). Die Lösung ist im Kühlschrank (5.3.2.8) nicht länger als eine Woche aufzubewahren;
- in einen 1 000-ml-Messkolben (5.3.2.12) werden 600 ml bis 700 ml Wasser (5.2.2.2) gegeben; dazu sind 6,0 ml Lösung A und danach 8,0 ml Lösung B zu geben. Nach Durchmischen ist mit Wasser (5.2.2.2) auf 1 000 ml aufzufüllen. Der pH-Wert des Wassers standardisierter Härte muss $7,0 \pm 0,2$, gemessen bei $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$, betragen. Falls erforderlich, ist der pH-Wert mittels einer Lösung von etwa 40 g/l (etwa 1 mol/l) Natriumhydroxid (NaOH) oder etwa 36,5 g/l (etwa 1 mol/l) Salzsäure (HCl) einzustellen.

Das Wasser standardisierter Härte ist unter aseptischen Bedingungen frisch herzustellen und innerhalb von 12 h zu verbrauchen.

ANMERKUNG Bei Herstellung der Produktprüflösungen (5.4.2) führt die Zugabe des Produktes zum Wasser standardisierter Härte zu einer unterschiedlichen endgültigen Wasserhärte in jedem Reagenzglas. In jedem Fall ist die endgültige Wasserhärte im Reagenzglas niedriger als 375 mg/l Calciumcarbonat (CaCO_3).

5.2.2.7 Belastungssubstanzen

5.2.2.7.1 Allgemeines

Die Belastungssubstanz muss nach den für das Produkt festgelegten Anwendungsbedingungen ausgewählt werden.

Die Belastungssubstanz muss steril sein und in einer Konzentration hergestellt werden, die dem Doppelten der in der Prüfung verwendeten Endkonzentration entspricht.

Für die zusätzlichen Belastungssubstanzen sind die Ionenzusammensetzung (z. B. pH-Wert, Calcium- und/oder Magnesiumhärte) und die chemische Zusammensetzung (z. B. Mineralstoffe, Proteine, Kohlenhydrate, Lipide und Detergenzien) festzulegen.

ANMERKUNG Der Begriff „Belastungssubstanz“ wird auch dann verwendet, wenn es sich um mehrere Substanzen handelt.

5.2.2.7.2 Verschmutzung niedrigen Grades (Rinderserumalbumin-Lösung)

In einem 100-ml-Messkolben sind 0,6 g Rinderserumalbumin V (für mikrobiologische Zwecke geeignet) in 90 ml Wasser (5.2.2.2) zu lösen. Es ist mit Wasser (5.2.2.2) bis zur Marke aufzufüllen.

Die Sterilisation erfolgt durch Membranfiltration (5.3.2.7); die Lösung ist im Kühlschrank (5.3.2.8) aufzubewahren und innerhalb eines Monats zu verwenden.

Die Endkonzentration des Rinderserumalbumins im Prüfverfahren (5.5) beträgt 3 g/l.

5.2.2.8 Trypton-Soja-Bouillon (TSB) mit Neutralisationsmedium

Trypton-Soja-Bouillon, bestehend aus:

Trypton, tryptisch verdautes Casein	17,0 g
Sojapepton, Papain-Aufschluss von Sojabohnenmehl	3,0 g
Natriumchlorid (NaCl)	5,0 g
Dikaliumhydrogenphosphat (K_2HPO_4)	2,5 g
 Glucose	2,5 g 
Wasser (5.2.2.2)	bis zu 1 000 ml

Die Sterilisation erfolgt im Autoklaven [5.3.2.1 a)]. Nach der Sterilisation muss der pH-Wert des Mediums $7,3 \pm 0,2$ betragen, gemessen bei $(20 \pm 1) ^\circ C$.

Ein geeignetes Neutralisationsmedium muss entsprechend dessen chemischen Eigenschaften vor oder nach dem Autoklavieren (5.2.2.5) hinzugegeben werden. TSB mit Neutralisationsmedium sollte in Reagenzgläser aus Glas in 10-ml-Portionen gefüllt werden.

5.2.3 Prüffläche²⁾

Pappelholz: Größe: Breite 10 mm, Länge 20 mm und Dicke 0,6 mm bis 1,0 mm mit sichtbar glatten Schnittkanten. Zugeschnitten aus Furnier von unbehandeltem Holz der europäischen Pappel, gelagert mindestens ein Jahr lang vor der Verwendung.

Vor der Verwendung sind die Prüfflächen einlagig in eine Petrischale zu legen und im Autoklaven [5.3.2.1 a)] 15 min zu sterilisieren.

Die Prüfflächen sollten bis zur Verwendung in einem sterilen Behälter aufbewahrt werden. Die Prüfflächen sollten nur einmal verwendet werden.

2) DES-IN-TEST SUPPLY Walbrunnenstraße D-70599 Stuttgart Tel. ++49 (0) 711 45 54 06. Dies dient lediglich zur Information der Anwender dieser Europäischen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN.