

DIN EN 16616

ICS 11.080.20

**Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika –
Chemothermische Wäschedesinfektion –
Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2);
Deutsche Fassung EN 16616:2015**

Chemical disinfectants and antiseptics –
Chemical-thermal textile disinfection –
Test method and requirements (phase 2, step 2);
German version EN 16616:2015

Désinfectants chimiques et antiseptiques –
Désinfection thermochimique du textile –
Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 2);
Version allemande EN 16616:2015

Gesamtumfang 38 Seiten

DIN-Normenausschuss Medizin (NAMed)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 16616:2015) wurde von der Arbeitsgruppe 1 „Humanmedizin“ (Sekretariat: DIN) des Technischen Komitees CEN/TC 216 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika“ (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) unter Beteiligung deutscher Experten ausgearbeitet.

Die Mitarbeit des DIN in der Arbeitsgruppe 1 des CEN/TC 216 wird über den Arbeitsausschuss NA 063-04-07 AA „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika in der Humanmedizin“ des DIN-Normenausschusses Medizin (NAMed) wahrgenommen.

Der in der Norm erwähnte Anhang D mit einem Beispiel für einen typischen Prüfbericht soll in einer späteren Ausgabe aufgenommen werden.

Deutsche Fassung

Chemisches Desinfektionsmittel und Antiseptika —
Chemothermische Wäschedesinfektion —
Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2)

Chemical disinfectants and antiseptics —
Chemical-thermal textile disinfection —
Test method and requirements (phase 2, step 2)

Désinfectants chimiques et antiseptiques —
Désinfection thermochimique du textile —
Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 2)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 3. Juli 2015 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 Management-Zentrum des CEN-CENELEC 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, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, 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: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort.....	3
Einleitung.....	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	6
4 Anforderungen	6
5 Prüfverfahren	7
5.1 Kurzbeschreibung	7
5.2 Materialien und Reagenzien	7
5.2.1 Prüfkeime.....	7
5.2.2 Kulturmedien und Reagenzien	8
5.3 Apparate und Glasgeräte	11
5.3.1 Allgemeines.....	11
5.3.2 Übliche mikrobiologische Laborausrüstung	11
5.4 Herstellung der Prüfkeimsuspensionen und der Produktprüflösungen.....	15
5.4.1 Prüfkeimsuspensionen (Prüf- und Validierungssuspension).....	15
5.4.2 Produktprüflösungen für Validierungsprüfungen.....	19
5.5 Verfahrensablauf zur Beurteilung der mikrobiziden Wirkung des Produkts	20
5.5.1 Allgemeines.....	20
5.5.2 Verfahren	21
5.6 Versuchsdaten und Berechnung	24
5.6.1 Erläuterung von Begriffen und Abkürzungen.....	24
5.6.2 Berechnung	25
5.7 Verifizierung des Verfahrens	27
5.7.1 Allgemeines.....	27
5.7.2 Kontrolle der gewichteten mittleren Keimzahlen	27
5.7.3 Grundlegende Grenzwerte.....	28
5.8 Angabe der Ergebnisse und Präzision.....	28
5.8.1 Keimreduktion.....	28
5.8.2 Wiederholungen.....	28
5.9 Interpretation der Ergebnisse – Schlussfolgerung	29
5.9.1 Allgemeines.....	29
5.9.2 Mikrobizide Wirkung.....	29
5.10 Prüfbericht.....	29
Anhang A (informativ) Referenzstämme in nationalen Sammlungen	30
Anhang B (informativ) Geeignete Neutralisationsmedien und Spülflüssigkeiten	32
B.1 Allgemeines.....	32
B.2 Neutralisationsmedien	32
B.3 Dem Agar für die Keimzählung zugesetzte Neutralisationsmedien	33
Anhang C (informativ) Graphische Darstellung des Prüfverfahrens	34
Anhang ZA (informativ) Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der EU-Richtlinie 93/42/EWG über Medizinprodukte	35
Literaturhinweise	36

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN 16616:2015) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 216 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom AFNOR gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Februar 2016, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Februar 2016 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN [und/oder CENELEC] sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Dieses Dokument wurde unter einem Mandat erarbeitet, das die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben, und unterstützt grundlegende Anforderungen der EU-Richtlinien.

Zum Zusammenhang mit EU-Richtlinien siehe informativen Anhang ZA, der Bestandteil dieses Dokuments ist.

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

Einleitung

Diese Europäische Norm legt einen Keimträgerversuch zur Feststellung, ob ein Einzelwaschmittel zur Desinfektion oder eine Kombination von Produkten zur Behandlung von kontaminierten Textilien die notwendige mikrobizide Wirkung aufweist oder nicht, fest. Die Norm ist ausschließlich dafür vorgesehen, den desinfektionsbezogenen Teil des Waschprozesses zu validieren.

Dieser Laboratoriumsversuch berücksichtigt praktische Anwendungsbedingungen des Produkts, zu denen die Einwirkzeit, die Temperatur, die Prüfkeime und die Belastungssubstanzen gehören, d. h. Bedingungen, die dessen Wirkung in praktischen Situationen beeinflussen können.

Die Bedingungen sollen allgemeinen Ansprüchen genügen und einen Vergleich zwischen mikrobiologischen Laboratorien und Arten von Wasch- und Desinfektionsmitteln ermöglichen. Jede durch diese Prüfung ermittelte wirksame Dosierung des chemischen Desinfektionsmittels entspricht ausschließlich den festgelegten Versuchsbedingungen. Wenn die tatsächlichen Bedingungen schwanken, sind zur Bestimmung der wirksamen Dosierung zusätzliche Prüfungen in mikrobiologischen Laboren erforderlich. Für Gebrauchsanweisungen sind die Hersteller von Wasch- oder Desinfektionsmitteln verantwortlich.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein Prüfverfahren für und die Mindestanforderungen an die mikrobizide Wirkung eines festgelegten Desinfektionsprozesses zur Behandlung von kontaminierten Textilien fest. Dieses Verfahren wird unter Einsatz einer in 5.3.2.18 festgelegten Waschmaschine durchgeführt und bezieht sich auf den Desinfektionsschritt ohne Vorwaschen. Dieses Verfahren ist nicht auf bestimmte Arten von Textilien beschränkt. Die Anweisungen des Lieferanten müssen ausreichen, um die vollständige Durchführung (z. B. Dosierung des Desinfektionsmittels in einer beliebigen Waschphase, z. B. Spülen, Desinfektion bei 40 °C) des in der Norm beschriebenen Verfahrens zu ermöglichen.

Diese Europäische Norm gilt für Bereiche und unter Bedingungen, in denen eine Desinfektion angezeigt ist. Indikationen dieser Art liegen bei der Patientenbetreuung vor, z. B.:

- in Krankenhäusern, kommunalen medizinischen Einrichtungen und im Dentalbereich;
- in Schulen, Kindergärten und Heimen;
- Einrichtungen, in denen Patienten untergebracht sind, die an übertragbaren Krankheiten leiden könnten;
- andere Anwendungsarten, bei denen eine hygienische Behandlung von Textilien notwendig ist (z. B. Lebensmittelverarbeitung, Hotels, Arbeitsbekleidung z. B. aus der pharmazeutischen Industrie, Laboratorien, aus dem Lebensmittelbereich oder ähnlichen Einrichtungen).

Das beschriebene Verfahren dient der Bestimmung der Wirksamkeit eines Produkts oder einer Kombination von Produkten unter den Bedingungen, unter denen es/sie angewendet wird/werden. Das ist ein Laborversuch der Phase 2, Stufe 2, der die Bedingungen der Produktanwendung simuliert.

ANMERKUNG Dieses Verfahren entspricht einer Prüfung der Phase 2, Stufe 2 (siehe EN 14885).

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 13624, *Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika — Quantitativer Suspensionsversuch zur Prüfung der fungiziden oder levuroziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel für Instrumente im humanmedizinischen Bereich — Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 1)*

EN 13727, *Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika — Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung im humanmedizinischen Bereich — Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 1)*

EN 14348, *Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika — Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der mykobakteriziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel im humanmedizinischen Bereich einschließlich der Instrumentendesinfektionsmittel — Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 1)*

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 und die folgenden Begriffe.

3.1

Flottenverhältnis

Verhältnis der Masse der trockenen Textilien in Kilogramm zum Volumen der Waschflotte in Liter (m/V)

3.2

Desinfektionsprozess

Prozess, der die praktischen Anwendungsbedingungen des Produkts zur Desinfektion von Textilien berücksichtigt, zu denen die Einwirkzeit, die Temperatur, die Prüfkeime und die Belastungssubstanzen gehören

3.3

Behandlung von kontaminierten Textilien

Handhabung von Textilien in Übereinstimmung mit dem Desinfektionsprozess, um desinfizierte Textilien zu erhalten

4 Anforderungen

Die Prüfergebnisse müssen den grundlegenden Grenzwerten (siehe 5.7.3) entsprechen.

Die folgende Prüfung der Phase 2, Stufe 1 muss zusätzlich zu dieser Prüfung bestanden werden: EN 13727, EN 13624 und EN 14348 unter den folgenden Prüfbedingungen:

- Temperatur wie vom Hersteller empfohlen;
- vom Hersteller empfohlene Einwirkzeit;
- hohe Belastungen; und
- Reduktion, wie für die Desinfektion von Instrumenten empfohlen.

Bei Produkten zur Verwendung $> 60\text{ °C}$ sollten die Prüfungen nach EN 13624 und EN 14348 mit *Aspergillus brasiliensis* und *M. avium* bestanden werden.

a) Prozesse bei Temperaturen $< 60\text{ °C}$

Ein Prozess der chemothermischen Wäschedesinfektion wird als wirksam angesehen, wenn bei der Prüfung nach Abschnitt 5 in drei Prüfläufen (bei einer vorgegebenen Zeitdauer, mit der vorgeschlagenen Dosierung, bei der vorgeschlagenen Temperatur und dem vorgeschlagenen Flottenverhältnis) eine Reduktion von Bakterien in und auf den Keimträgern von mehr als 7 logarithmischen Einheiten, von *Candida albicans* und *Aspergillus brasiliensis* von 6 lg-Einheiten und von Mykobakterien (*M. avium* und/oder *M. terrae*) von 7 lg-Einheiten erreicht wird.

ANMERKUNG Die Einbeziehung von Sporen und Viren wurde erörtert. Für die technische Durchführbarkeit ist eine Weiterentwicklung notwendig.

Außerdem dürfen in 100 ml Wasch-/Desinfektionsflüssigkeit keine Prüfkeime nachzuweisen sein.

Als eine Mindestanforderung muss die bakterizide und levurozide Wirkung unter Verwendung der folgenden Prüfkeime bewertet werden: für die bakterizide Wirkung *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* (K12), *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus hirae* als Prüfkeime, und für die levurozide Wirkung *Candida albicans* als Prüfkeime.

Wenn eine zusätzliche fungizide Wirkung angegeben ist, muss außerdem *Aspergillus brasiliensis* als Prüfkeim verwendet werden.

Im Fall eines zusätzlichen Nachweises einer tuberkuloziden Wirkung ist *Mycobacterium terrae* zu prüfen.

Sollte eine mykobakterizide Wirkung bestätigt werden, ist es notwendig, die Prüfung auch mit *Mycobacterium terrae* und *Mycobacterium avium* durchzuführen.

b) Prozesse bei Temperaturen $\geq 60\text{ °C}$

Ein Prozess der chemothermischen Wäschedesinfektion wird als wirksam angesehen, wenn bei der Prüfung nach Abschnitt 5 in drei Prüfläufen (bei einer vorgegebenen Zeitdauer, mit der vorgeschlagenen Dosierung, bei einer Prozesstemperatur von $\geq 60\text{ °C}$ und einem festgelegten Flottenverhältnis) eine Reduktion von *Enterococcus faecium* in und auf den Keimträgern von mehr als 7 lg-Einheiten erreicht wird.

Außerdem dürfen in 100 ml Wasch-/Desinfektionsflüssigkeit keine Prüfkeime nachweisbar sein. Das schließt die fungizide, mykobakterizide/tuberkulozide Wirkung ein.

5 Prüfverfahren

5.1 Kurzbeschreibung

Die Keimträger aus Baumwollgewebe werden mit einer Prüfsuspension von Mikroorganismen in defibriniertem Schafsblut kontaminiert. Nach dem Trocknen werden die Keimträger in Baumwollbeutel überführt und anschließend wird der Desinfektionsprozess in der Waschmaschine bei Prüftemperaturen entweder $t < 60\text{ °C}$ oder $\geq 60\text{ °C}$ durchgeführt. Der Prozess bezieht sich auf den Desinfektionsschritt ohne Vorwäsche. Am Ende des Desinfektionsschrittes des Verfahrens sind die Beutel mit den Keimträgern zu entnehmen (siehe 5.3.2.18). Jeder Keimträger wird in ein getrenntes Röhrchen mit Neutralisationsmedium und Glasperlen überführt. Die Bakterien sollten durch Schütteln von den Keimträgern zurückgewonnen werden. Die Anzahl der überlebenden Bakterien in jeder Probe wird bestimmt und die (Keim-)Reduktionsrate berechnet.

5.2 Materialien und Reagenzien

5.2.1 Prüfkeime

Die bakterizide Wirkung ist unter Verwendung der folgenden als Prüfkeime ausgewählten Stämme¹⁾ zu bewerten:

— <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442
— <i>Escherichia coli</i> (K12)	ATCC 10538
— <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
— <i>Enterococcus hirae</i>	ATCC 10541
— <i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 6057

Die levurozide/fungizide Wirkung ist unter Verwendung der folgenden Prüfkeime zu bewerten:

— <i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
— <i>Aspergillus brasiliensis</i> (früher <i>Aspergillus Niger</i> ATCC 16404)	ATCC 16404

Die mykobakterizide/tuberkulozide Wirkung ist unter Verwendung der folgenden Prüfkeime zu bewerten:

— <i>Mycobacterium avium</i>	ATCC 15769
— <i>Mycobacterium terrae</i>	ATCC 15755

ANMERKUNG Zum Verweis auf Stämme in einigen anderen Kultursammlungen siehe Anhang A.

1) Die ATCC-Nummern sind die Sammlungsnummern von Stämmen, die von American Type Culture Collections (ATCC) geliefert werden. Diese Information dient lediglich zur Unterrichtung der Anwender dieser Europäischen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN.

Die geforderte Bebrütungstemperatur für diese Prüfkeime beträgt $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ oder $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ (5.3.2.3) [*C. albicans* und *A. brasiliensis*: $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$]. Die gleiche Temperatur ist für alle Bebrütungen während einer Prüfung und deren Kontrolle und Validierung anzuwenden.

Wenn zusätzliche Prüfkeime verwendet werden, sind diese unter den im Prüfbericht vermerkten optimalen Wachstumsbedingungen (Temperatur, Dauer, Atmosphäre und Medien) zu bebrüten. Wenn die ausgewählten zusätzlichen Prüfkeime nicht den festgelegten Stämmen/Arten entsprechen, ist deren Eignung zur Bereitstellung der geforderten Inokula zu verifizieren. Wenn diese zusätzlichen Prüfkeime nicht an einem Referenzzentrum klassifiziert wurden, sind deren Identifizierungsmerkmale anzugeben. Darüber hinaus müssen sie von dem Prüflaboratorium oder der nationalen Kultursammlung für fünf Jahre als Referenzprobe zurückgestellt werden.

5.2.2 Kulturmedien und Reagenzien

5.2.2.1 Allgemeines

Alle in dieser Europäischen Norm angegebenen Massen chemischer Substanzen beziehen sich auf die wasserfreien Salze. Hydratisierte Formen dürfen als Alternative verwendet werden, aber die erforderlichen Massen müssen angepasst werden, um daraus folgende 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 das Wachstum der Prüfkeime wirken.

Zur Verbesserung der Reproduzierbarkeit wird empfohlen, dass zur Herstellung von Kulturmedien handelsübliche wasserfreie Materialien verwendet werden. Die Anweisungen des Herstellers zur Verarbeitung dieser Erzeugnisse sollten genau befolgt werden.

Für jedes Kulturmedium und Reagens sollte eine (zeitliche) Begrenzung der Verwendung festgelegt werden.

5.2.2.2 Wasser zur Herstellung von Medien

a) Das Wasser muss frisch destilliertes und darf nicht nur entmineralisiertes Wasser sein. Die Sterilisation erfolgt im Autoklaven [5.3.2.1 a)].

ANMERKUNG 1 Die Sterilisation ist nicht erforderlich, falls das Wasser z. B. für die Herstellung von Kulturmedien verwendet und anschließend sterilisiert wird.

ANMERKUNG 2 Falls kein destilliertes Wasser geeigneter Qualität zur Verfügung steht, kann Wasser für Injektionszwecke (siehe Literaturhinweis [1]) verwendet werden.

ANMERKUNG 3 Hinsichtlich des Verfahrens zur Herstellung von Wasser standardisierter Härte siehe 5.2.2.3.

5.2.2.3 Wasser standardisierter Härte zur Verdünnung der Produkte für Validierungsprüfungen

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

- Herstellung von Lösung A: Es werden 19,84 g Magnesiumchlorid (MgCl_2) und 46,24 g Calciumchlorid (CaCl_2) in Wasser (5.2.2.2) gelöst und auf 1 000 ml aufgefüllt. Die Sterilisation erfolgt durch Membranfiltration (5.3.2.7) oder im Autoklaven [5.3.2.1 a)]. Sofern das Autoklavieren angewendet wird, kann das zu einem Flüssigkeitsverlust führen. In diesem Fall ist mit Wasser (5.2.2.2) unter aseptischen Bedingungen auf 1 000 ml aufzufüllen. Die Lösung lässt sich im Kühlschrank (5.3.2.8) bei 2°C bis 8°C bis zu einem Monat aufbewahren.
- Herstellung von Lösung B: Es werden 35,02 g Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) in Wasser (5.2.2.2) gelöst und auf 1 000 ml aufgefüllt. Die Lösung wird durch Membranfiltration (5.3.2.7) sterilisiert. Die Lösung lässt sich im Kühlschrank (5.3.2.8) bei 2°C bis 8°C bis zu einer Woche aufbewahren.

- 600 ml bis 700 ml Wasser (5.2.2.2) werden in einen 1 000-ml-Messkolben (5.3.2.12) gegeben, dazu gegeben werden mit Hilfe einer Pipette (5.3.2.9) 6,0 ml Lösung A und danach 8,0 ml Lösung B. Nach Durchmischen wird mit Wasser (5.2.2.2) auf 1 000 ml aufgefüllt. Der pH-Wert des Wassers standardisierter Härte muss, gemessen bei $(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$, $7,0 \pm 0,2$ betragen (5.3.2.4). Falls erforderlich, wird 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) eingestellt.

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 Produkts zum Wasser standardisierter Härte zu einer unterschiedlichen endgültigen Wasserhärte in jedem Reagenzglas. In jedem Fall liegt die endgültige Wasserhärte, angegeben als Calciumcarbonat (CaCO_3), im Reagenzglas unter 375 mg/l.

5.2.2.4 Trypton-Soja-Agar (TSA)

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

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

Wenn Probleme mit der Neutralisation (5.5.1.2 und 5.5.1.3) auftreten, ist es möglicherweise erforderlich, dem TSA Neutralisationsmedium zuzusetzen. Anhang B enthält eine Anleitung zu Neutralisationsmedien, die verwendet werden dürfen.

5.2.2.5 Trypton-Soja-Bouillon (TSB)

Trypton, pankreatisch verdautes Casein	15,0 g
Sojapepton, Papain-Aufschluss von Sojabohnenmehl	5,0 g
Natriumchlorid (NaCl)	5,0 g
Wasser (5.2.2.2)	bis auf 1 000,0 ml

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

5.2.2.6 Hirn-Herz-(Glucose)-Agar (en: Brain Heart Infusion; BHI Agar)

Beispiel:

Hirn-Herz-Aufguss (brain heart infusion)	12,5 g
Rinderherzaufguss	5,0 g
Proteose-Pepton	10,0 g
Glucose	2,0 g

Natriumchlorid (NaCl)	5,0 g
Dinatriumhydrogenphosphat	2,5 g
Agar	10,0 g
Wasser (5.2.2.2)	bis auf 1 000,0 ml

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

5.2.2.7 Malzextrakt-Agar (MEA)

Malzextrakt	30,0 g
Sojapepton, Papain-Auflösung von Sojabohnenmehl	3,0 g
Agar	15,0 g
Wasser (5.2.2.2)	bis auf 1 000,0 ml

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

5.2.2.8 Middlebrook-Cohn-7H10-Medium einschließlich 10 % OADC (7H10)

Middlebrook-7H10-Agar	19,0 g
Glycerol	5,0 ml
Wasser (5.2.2.2)	bis auf 900,0 ml

Zur vollständigen Auflösung wird bis zum Sieden erhitzt. Nach 10 min Sterilisation im Autoklaven [5.3.2.1 a)] wird auf $50 ^\circ\text{C}$ bis $55 ^\circ\text{C}$ abgekühlt. Unter aseptischen Bedingungen werden 100 ml Middlebrook-Medium mit OADC-Anreicherung zugegeben. Der endgültige pH-Wert des Mediums muss, gemessen bei $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$, $6,6 \pm 0,2$ betragen.

5.2.2.9 Verdünnungsmittel

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

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

5.2.2.10 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.

ANMERKUNG In Anhang B sind Angaben zu Neutralisationsmedien angeführt, die sich für einige Arten von Produkten als geeignet erwiesen haben.