

DIN EN 17387



ICS 11.080.20; 71.100.35

**Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika –
Quantitativer Versuch zur Bestimmung der bakteriziden und levuroziden
und/oder fungiziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel im
humanmedizinischen Bereich auf nicht porösen Oberflächen ohne
mechanische Einwirkung –
Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2);
Deutsche Fassung EN 17387:2021**

Chemical disinfectants and antiseptics –
Quantitative test for the evaluation of bactericidal and yeasticidal and/or fungicidal activity of
chemical disinfectants in the medical area on non-porous surfaces without mechanical
action –
Test method and requirements (phase 2, step 2);
German version EN 17387:2021

Antiseptiques et désinfectants chimiques –
Essai quantitatif pour l'évaluation de l'activité bactéricide et levuricide et/ou fongicide des
désinfectants chimiques utilisés en médecine sur des surfaces non poreuses sans action
mécanique –
Méthode d'essai et exigences (phase 2, étape 2);
Version allemande EN 17387:2021

Gesamtumfang 41 Seiten

DIN-Normenausschuss Medizin (NAMed)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 17387:2021) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 216 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika in der Humanmedizin“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 063-04-07 AA „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika in der Humanmedizin“ im DIN-Normenausschuss Medizin (NAMed).

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

Deutsche Fassung

Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika —
Quantitativer Versuch zur Bestimmung der bakteriziden und
levuroziden und/oder fungiziden Wirkung chemischer
Desinfektionsmittel im humanmedizinischen Bereich auf nicht
porösen Oberflächen ohne mechanische Einwirkung —
Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2)

Chemical disinfectants and antiseptics —
Quantitative test for the evaluation of bactericidal and
yeastocidal and/or fungicidal activity of chemical
disinfectants in the medical area on non-porous
surfaces without mechanical action —
Test method and requirements (phase 2, step 2)

Antiseptiques et désinfectants chimiques —
Essai quantitatif pour l'évaluation de l'activité
bactéricide et levuricide et/ou fongicide des
désinfectants chimiques utilisés en médecine sur des
surfaces non poreuses sans action mécanique —
Méthode d'essai et exigences (phase 2, étape 2)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 25. Januar 2021 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	3
Einleitung	4
1 Anwendungsbereich.....	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe und Abkürzungen	6
3.1 Begriffe	6
3.2 Symbole und Abkürzungen	6
4 Anforderungen	6
5 Prüfverfahren	7
5.1 Kurzbeschreibung.....	7
5.2 Materialien und Reagenzien.....	8
5.2.1 Prüforganismen	8
5.2.2 Kulturmedien und Reagenzien.....	8
5.2.3 Prüfoberfläche.....	12
5.3 Gerät und Glasgeräte	12
5.3.1 Allgemeines	12
5.3.2 Übliche mikrobiologische Laborausrüstung und insbesondere folgende Geräte:.....	12
5.4 Herstellung der Prüforganismensuspensionen und der Produktprüflösungen.....	14
5.4.1 Prüforganismensuspensionen.....	14
5.4.2 Produktprüflösungen.....	20
5.5 Verfahrensablauf zur Beurteilung der bakteriziden, levuroziden und fungiziden Wirkung des Produkts.....	21
5.5.1 Auswahl der Untersuchungsbedingungen	21
5.5.2 Versuchsdurchführung.....	21
5.5.3 Auszählen der Prüfmischungen	25
5.6 Berechnung und Darstellung der Ergebnisse	26
5.6.1 Berechnung der Daten	26
5.6.2 Verifizierung der Methodik	27
5.6.3 Darstellung der Ergebnisse.....	27
5.6.4 Schlussfolgerung.....	27
5.6.5 Präzision	28
5.7 Prüfbericht.....	28
Anhang A (informativ) Entsprechende referenzierte Stämme.....	30
Anhang B (informativ) Neutralisationsmedien.....	31
Anhang C (informativ) Darstellung der Ergebnisse mit dem Verdünnungs-Neutralisations-Verfahren.....	32
Anhang D (informativ) Bakterizide Wirkung auf Oberflächen unter Bedingungen niedriger Belastung	34
Anhang E (informativ) Trocknung durch Vakuum-Exsikkator — Gebrauchsanweisung.....	36
Anhang F (informativ) Präzision des Prüfergebnisses.....	38
Literaturhinweise.....	39

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN 17387:2021) 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 Februar 2022, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Februar 2022 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.

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 legt ein Oberflächenprüfverfahren zur Feststellung fest, ob ein chemisches Desinfektionsmittel in den im Anwendungsbereich beschriebenen Gebieten (Abschnitt 1) auf nichtporösen Oberflächen ohne mechanische Einwirkung eine bakterizide und/oder fungizide oder levurozide Wirkung aufweist oder nicht.

Dieses Verfahren ist ein Laborversuch und simuliert praxisnahe Anwendungsbedingungen. Die gewählten Bedingungen (Einwirkzeit, Temperatur und Mikroorganismen auf Oberflächen usw.) spiegeln Parameter wider, wie sie in der Praxis vorkommen, einschließlich der Bedingungen, die die Wirkung von Desinfektionsmitteln beeinflussen können.

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

Dieses Dokument soll nicht angewendet werden, wenn das Produkt in einem automatischen luftübertragenen Desinfektionsverfahren verwendet wird, in solchen Fällen siehe EN 17272.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Prüfverfahren und die Mindestanforderungen an die bakterizide und levurozide und zusätzlich auch fungizide Wirkung von chemischen Desinfektionsmitteln fest, die bei Verdünnung mit Wasser standardisierter Härte als homogene, physikalisch stabile Zubereitung vorliegen bzw. bei gebrauchsfertigen Produkten mit Wasser verdünnt werden.

ANMERKUNG Verdünnungen sind erforderlich, da drei Konzentrationen im aktiven bis nichtaktiven Bereich geprüft werden.

Dieses Dokument gilt für Produkte, die ohne mechanische Einwirkung zur Desinfektion nichtporöser Oberflächen im humanmedizinischen Bereich verwendet werden.

Dieses Dokument gilt für Bereiche und unter Bedingungen, wo eine Desinfektion oder Antiseptik aus medizinischen Gründen angezeigt ist. Indikationen dieser Art liegen z. B. bei der Patientenbetreuung in:

- Krankenhäusern, kommunalen medizinischen Einrichtungen und im Dentalbereich;
- medizinischen Einrichtungen in Schulen, Kindergärten und Heimen; vor und können auch am Arbeitsplatz und im häuslichen Bereich gegeben sein. Eingeschlossen sein können auch Einrichtungen wie Wäschereien und Küchen, die der direkten Versorgung der Patienten dienen.

EN 14885 legt im Einzelnen die Beziehungen der verschiedenen Prüfungen untereinander und zu den Anwendungsempfehlungen fest.

Mit diesem Dokument ist es möglich, die Wirkung von Produkten wie handelsüblichen Formulierungen oder Wirkstoffen unter den Bedingungen, unter denen sie verwendet werden, auf Bakterien und/oder Pilze zu bestimmen und entspricht somit einer Prüfung der Phase 2, Schritt 2.

Dieses Verfahren schließt die Bewertung der Wirkung von Produkten gegen Mykobakterien und bakterielle Sporen aus.

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*

3 Begriffe und Abkürzungen

3.1 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 <http://www.electropedia.org/>

3.2 Symbole und Abkürzungen

c	ist die Summe der berücksichtigten V_C -Werte
KBE (en: cfu)	koloniebildende Einheiten (en: colony forming units)
d	ist die berücksichtigte Verdünnung, geringerer Verdünnungsfaktor
m, m'	sind die beiden Replikate bei der geringeren Verdünnung, ausgedrückt als KBE
n, n'	sind die beiden Replikate bei der höheren Verdünnung, ausgedrückt als KBE
n	ist die Anzahl der berücksichtigten V_C -Werte
N	Anzahl der Zellen je ml in der Prüfsuspension
N_C	lg-Anzahl der von der Prüfoberfläche gewonnenen KBE in der Wasserkontrolle
N_C	ausgezählte KBE in der Kontrolle des Neutralisationsmediums
N_d	lg-Anzahl der von der Prüfoberfläche gewonnenen KBE im Versuch
N_T	ausgezählte KBE in der Verfahrensvalidierung
N_{ts}	Anzahl der auf der Prüfoberfläche verbleibenden koloniebildenden Einheiten
R	Reduktion
V	das Volumen der Impfkultur auf der Platte, ausgedrückt in ml;

4 Anforderungen

Das Produkt muss bei der Prüfung nach Tabelle 1 und 5.5 eine dezimal-logarithmische Reduktion (lg) um mindestens fünf Stufen für Bakterien und eine dezimal-logarithmische Reduktion (lg) um mindestens vier Stufen für Pilze aufweisen.

ANMERKUNG Die Reduktion um 5 lg wird für den medizinischen Bereich als notwendig erachtet, um das Risiko für die Patienten zu minimieren.

Tabelle 1 — Untersuchungsbedingungen

Prüfbedingungen	Bakterizide Wirkung	Levurozide Wirkung	Fungizide Wirkung
Mindestspektrum der Prüforganismen	Staphylococcus aureus Enterococcus hirae Pseudomonas aeruginosa	Candida albicans	Aspergillus brasiliensis Candida albicans
zusätzlich	jeder zutreffende Prüforganismus		
Prüftemperatur	entsprechend der Empfehlung des Herstellers, jedoch von (4 ± 1) °C bis (30 ± 1) °C Für Prüfungen bei Raumtemperatur muss der Bereich bei (21,5 ± 3,5) °C liegen		
Einwirkzeit	nach den Empfehlungen des Herstellers, aber mindestens 1 min und nicht länger als 5 min oder 60 min ^a (von 1 min bis 5 min in Intervallen von 1 min und von 5 min bis 60 min in Intervallen von 5 min)		
Belastungssubstanz			
Bedingungen niedriger Belastung	0,3 g/l Rinderserumalbuminlösung		
Bedingungen hoher Belastung	3,0 g/l Rinderserumalbuminlösung plus 3,0 ml/l Erythrozyten		
zusätzlich	alle relevanten Substanzen		
^a Die in dieser Tabelle angegebenen Einwirkzeiten für Oberflächendesinfektionsmittel werden auf der Grundlage der praktischen Anwendungsbedingungen des Produkts ausgewählt. Die empfohlene Einwirkzeit für die Anwendung des Produkts liegt in der Verantwortung des Herstellers. Produkte, die zur Desinfektion von Oberflächen vorgesehen sind, die wahrscheinlich mit dem Patienten und/oder dem medizinischen Personal in Kontakt kommen, und Oberflächen, die häufig von verschiedenen Personen berührt werden, was zu einer Übertragung von Mikroorganismen auf den Patienten führt, sind mit einer Einwirkzeit von höchstens 5 min zu prüfen. Das Gleiche gilt für Fälle, bei denen die Einwirkzeit des Produktes aus praktischen Gründen begrenzt sein muss. Produkte für alle weiteren, als die oben angeführten Oberflächen dürfen mit einer Einwirkzeit von höchstens 60 min geprüft werden.			
ANMERKUNG Für die zusätzlichen Bedingungen kann die als ein Ergebnis festgelegte Konzentration geringer sein als eine unter den Mindestprüfbedingungen erhaltene Konzentration.			

5 Prüfverfahren

5.1 Kurzbeschreibung

Eine Prüfsuspension von Bakterien oder Pilzen in einer Lösung mit Belastungssubstanzen (5.2.2.8) wird auf eine Edelstahl-Prüfoberfläche aufgebracht und getrocknet. Eine Probe des zu prüfenden Produkts wird so aufgetragen, dass sie die getrockneten Prüforganismen vollständig bedeckt. Die Oberfläche wird bei der in Abschnitt 4 und 5.5.1 festgelegten Temperatur und Einwirkzeit gehalten. Am Ende dieser Einwirkzeit wird die Oberfläche auf ein zuvor validiertes Neutralisationsmedium übertragen, um jegliche Produktaktivität zu unterdrücken. Es wird die Anzahl der von der Oberfläche gewonnenen überlebenden Prüforganismen quantitativ bestimmt.

Des Weiteren wird die Anzahl der Bakterien und Pilze auf einer Prüfoberfläche bestimmt, die anstelle des zu prüfenden Produkts mit Wasser definierter Härte (oder im Falle von gebrauchsfertigen Produkten mit Wasser) behandelt wurde. Die durch das Produkt bewirkte Reduktion der Lebendkeimzahl wird als Differenz zwischen den Ergebnissen der beiden Prüfoberflächen berechnet.

5.2 Materialien und Reagenzien

5.2.1 Prüforganismen

Die bakterizide Wirkung muss mit den folgenden Stämmen bewertet werden¹:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 6 538;
- *Enterococcus hirae* ATCC 10 541;
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15 442.

Die levurozide Wirkung muss mit dem folgenden Stamm bewertet werden¹:

- *Candida albicans* ATCC 10 231.

Die fungizide Wirkung muss mit den folgenden Stämmen bewertet werden¹:

- *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16 404;
- *Candida albicans* ATCC 10 231;

Falls für besondere Anwendungen erforderlich, dürfen zusätzliche Stämme gewählt werden.

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

Wenn zusätzliche Prüforganismen verwendet werden, müssen diese unter den im Prüfbericht vermerkten optimalen Wachstumsbedingungen (Temperatur, Dauer, Atmosphäre, Medien) bebrütet werden. Wenn die ausgewählten zusätzlichen Prüforganismen nicht den festgelegten Stämmen entsprechen, ist deren Eignung zur Bereitstellung der geforderten Inokula zu verifizieren. Wenn diese zusätzlichen Prüforganismen 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 diesem Dokument 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 die Prüforganismen wirken.

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

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

Für jedes Kulturmedium und Reagenz sollte eine zeitliche Begrenzung der Verwendung festgelegt werden.

Alle festgelegten pH-Werte werden bei (20 ± 1) °C gemessen.

5.2.2.2 Wasser

Das Wasser muss frisch in einer Glasapparatur destilliertes Wasser sein und darf nicht entmineralisiertes Wasser sein. Falls kein destilliertes Wasser geeigneter Qualität zur Verfügung steht, kann Wasser für Injektionszwecke verwendet werden.

Die Sterilisation erfolgt im Autoklaven [5.3.2.1a)]. Die 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 5.2.2.7.

5.2.2.3 Trypton-Soja-Agar (TSA)

Zur Erhaltung von Bakterienstämmen und zur Bestimmung der Lebendkeimzahl.

Trypton, Casein, tryptisch verdaut	15,0 g
Sojapepton, papainisch verdautes Sojabohnenmehl	5,0 g
Natriumchlorid (NaCl)	5,0 g
Agar	15,0 g
Wasser (5.2.2.2)	auf 1 000,0 ml

Die Sterilisation erfolgt im Autoklaven [5.3.2.1 a)]. Nach der Sterilisation muss der pH-Wert (5.3.2.6) des Mediums $7,2 \pm 0,2$ betragen.

5.2.2.4 Malzextraktagar (MEA)

Zur Erhaltung von Pilzstämmen, Sporenbildung und zur Bestimmung der Lebendkeimzahl.

Malzextrakt [Lebensmittelunbedenklich (z. B. Cristomalzpulver von Difal) oder ein entsprechender Extrakt, der nicht stark gereinigt ist und der nicht auf Maltose basiert (z. B. Malzextrakt von OXOID)] ²	30,0 g
Agar	15,0 g
Wasser (5.2.2.2)	auf 1 000,0 ml

Sollte es jedoch Probleme geben, so sind mindestens 75 % stachelige Sporen herzustellen, siehe 5.4.1.3.

Die Sterilisation erfolgt im Autoklaven [5.3.2.1 a)]. Nach der Sterilisation muss der pH-Wert (5.3.2.6) des Mediums $5,6 \pm 0,2$ betragen.

2 Die Malzextrakte von Difal und OXOID sind Beispiele für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Information dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Europäischen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN.

Wenn Probleme mit der Neutralisation (5.5.2.3 und 5.5.2.4) auftreten, ist es möglicherweise erforderlich, dem MEA (5.2.2.4) Neutralisationsmedium (5.2.2.6) zuzusetzen. Anhang B enthält eine Anleitung zu Neutralisationsmedien, die verwendet werden können. Es wird empfohlen, kein Neutralisationsmedium zu verwenden, das zu einer Trübung im Agar führt.

5.2.2.5 Verdünnungsmittel

Trypton-Natriumchloridlösung, bestehend aus:

Trypton, Casein, tryptisch verdaut	1,0 g
Natriumchlorid	8,5 g
Wasser (5.2.2.2)	auf 1 000,0 ml;

Die Sterilisation erfolgt im Autoklaven [5.3.2.1 a)]. Nach der Sterilisation muss der pH-Wert (5.3.2.6) des Verdünnungsmittels $7,0 \pm 0,2$ betragen.

5.2.2.6 Neutralisationsmedium

Das Neutralisationsmedium muss für das zu prüfende Produkt in Übereinstimmung mit 5.5.2.3 und 5.5.2.4 validiert sein. Es muss steril sein.

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

5.2.2.7 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: 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 (5.3.2.19) oder im Autoklaven [5.3.2.1 a)]. Sofern das Autoklavieren angewendet wird, kann dies zu einem Flüssigkeitsverlust führen. In diesem Fall wird unter aseptischen Bedingungen auf 1 000 ml mit Wasser (5.2.2.2) aufgefüllt. Die Lösung darf im Kühlschrank (5.3.2.15) nicht länger als einen Monat gelagert werden.
- 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 Sterilisation erfolgt durch Membranfiltration (5.3.2.19). Die Lösung darf im Kühlschrank (5.3.2.15) nicht länger als eine Woche gelagert werden.
- Es werden 600 ml bis 700 ml Wasser (5.2.2.2) in einen 1 000-ml-Messkolben (5.3.2.13) gefüllt und zunächst 6,0 ml Lösung A, dann 8,0 ml Lösung B hinzugegeben. Die erhaltene Lösung wird gemischt und mit Wasser auf 1 000 ml (5.2.2.2) aufgefüllt. Der pH-Wert des Wassers (5.3.2.6) standardisierter Härte muss $7,0 \pm 0,2$ betragen. 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 Produktes zum Wasser standardisierter Härte in jedem Reagenzglas zu einer unterschiedlichen endgültigen Wasserhärte. In jedem Fall liegt die endgültige Wasserhärte, angegeben als Calciumcarbonat (CaCO_3), im Reagenzglas unter 375 mg/l.

5.2.2.8 Belastungssubstanz

5.2.2.8.1 Allgemeines

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

Die Belastungssubstanz muss steril sein und in der zweifachen in der Prüfung verwendeten Endkonzentration hergestellt werden.

Für jede zusätzliche Belastungssubstanz müssen die Ionenzusammensetzung (z. B. pH-Wert, Calcium und/oder Magnesiumhärte) und die chemische Zusammensetzung (z. B. Mineralstoffe, Proteine, Kohlenhydrate, Lipide und Detergenzien) festgelegt sein.

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

Die Verfahren zur Herstellung und Sterilisation sowie die Zusammensetzung sind im Prüfbericht (5.7) zu vermerken.

5.2.2.8.2 Rinderserumalbumin-Lösung

Rinderserumalbumin-Lösungen für die Prüfbedingungen müssen wie folgt hergestellt werden.

a) Herstellung für Bedingungen niedriger Belastung:

- 0,3 g Rinderserumalbumin Fraktion V (für mikrobiologische Zwecke geeignet) werden in 100 ml Verdünnungsmittel (siehe 5.2.2.5) aufgelöst.
- Die Sterilisation erfolgt durch Membranfiltration (5.3.2.19).
- Mit dem Verdünnungsmittel (5.2.2.5) wird auf 1/5 verdünnt.
- Die Lösung wird im Kühlschrank aufbewahrt und innerhalb eines Monats verbraucht.

Die Endkonzentration des Rinderserumalbumins im Prüfverfahren (5.5.2) beträgt 0,3 g/l.

b) Herstellung für Bedingungen hoher Belastung

- In 97 ml Verdünnungsmittel (5.2.2.5) werden 3,0 g Rinderserumalbumin Fraktion V (für mikrobiologische Zwecke geeignet) gelöst.
- Die Sterilisation erfolgt durch Membranfiltration (5.3.2.19).
- Es werden mindestens 8,0 ml frisches steriles defibriertes Schafsblut hergestellt. Das Schafsblut wird für 10 min bei 800 g_N (5.3.2.14) zentrifugiert. Nach Verwerfen des Überstandes werden die Erythrozyten in Verdünnungsmittel (5.2.2.5) resuspendiert.
- Dieser Vorgang wird mindestens dreimal wiederholt, bis der Überstand farblos ist.
- 3 ml der angereicherten (gepackten) Schaf-Erythrozyten werden in den 97 ml sterilisierter Rinderserumalbuminlösung (siehe oben) resuspendiert.
- Mit dem Verdünnungsmittel (5.2.2.5) wird auf 1/5 verdünnt.