

DIN EN 17422



ICS 71.100.35

**Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika –
Quantitativer Oberflächenversuch zur Beurteilung von
Zitzendesinfektionsmittel für den Veterinärbereich –
Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2);
Deutsche Fassung EN 17422:2022**

Chemical disinfectants and antiseptics –
Quantitative surface test for the evaluation of teat disinfectants used in the veterinary area –
Test method and requirements (phase 2 step 2);
German version EN 17422:2022

Antiseptiques et désinfectants chimiques –
Essai quantitatif de surface pour l'évaluation des désinfectants de trayons utilisés dans le
domaine vétérinaire –
Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 2);
Version allemande EN 17422:2022

Gesamtumfang 32 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 17422:2022) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 216 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

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

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 Oberflächenversuch zur Beurteilung von
Zitendesinfektionsmittel für den Veterinärbereich —
Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2)

Chemical disinfectants and antiseptics —
Quantitative surface test for the evaluation of teat
disinfectants used in the veterinary area —
Test method and requirements (phase 2 step 2)

Antiseptiques et désinfectants chimiques —
Essai quantitatif de surface pour l'évaluation
des désinfectants de trayons utilisés
dans le domaine vétérinaire —
Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 2)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 8. Mai 2022 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	5
4 Anforderungen	5
5 Prüfverfahren	6
5.1 Kurzbeschreibung	6
5.2 Materialien und Reagenzien	6
5.2.1 Prüforganismen	6
5.2.2 Kulturmedien und Reagenzien	7
5.2.3 Prüfoberfläche – künstliche Haut	9
5.3 Geräte und Glasgeräte	9
5.3.1 Allgemeines	9
5.3.2 Übliche mikrobiologische Laborausrüstung, und insbesondere folgende Geräte:	9
5.4 Herstellung der Prüforganismussuspension und Produktprüflösungen	10
5.4.1 Prüforganismussuspension (Prüf- und Validierungssuspension)	10
5.4.2 Produktprüflösung	12
5.5 Verfahren zur Beurteilung der bakteriziden Wirkung des Produkts	13
5.5.1 Allgemeines	13
5.5.2 Prüfverfahren	14
5.6 Versuchsdaten und Berechnung	17
5.6.1 Erläuterung von Begriffen und Abkürzungen	17
5.6.2 Berechnung	17
5.7 Verifizierung des Verfahrens	20
5.7.1 Allgemeines	20
5.7.2 Kontrolle der gewichteten mittleren „WM“ Keimzahlen	20
5.7.3 Grundlegende Grenzwerte	20
5.8 Angabe der Ergebnisse und Präzision	21
5.8.1 Reduktion	21
5.8.2 Kontrolle der wirksamen und der unwirksamen Produktprüflösung (5.4.2)	21
5.8.3 Limitierender Prüforganismus und bakterizide Konzentration	21
5.8.4 Präzision, Wiederholungen	21
5.9 Interpretation der Ergebnisse – Schlussfolgerung	22
5.9.1 Allgemeines	22
5.9.2 Bakterizide Wirkung für die Zitzendesinfektion	22
5.10 Prüfbericht	22
Anhang A (informativ) Referenzstämme in nationalen Sammlungen	24
Anhang B (informativ) Beispiele von Neutralisationsmedien für die verbleibende antimikrobielle Wirkung von chemischen Desinfektionsmitteln und Antiseptika sowie Spülflüssigkeiten	25
Anhang C (informativ) Beispiel für einen typischen Prüfbericht	27
Literaturhinweise	30

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN 17422:2022) 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 Dezember 2022, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Dezember 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 einen Oberflächenversuch fest, mit dem festgestellt werden soll, ob ein Zitzendesinfektionsmittel zur Anwendung auf der Zitzenhaut ohne mechanische Einwirkung im Veterinärbereich unter den in diesem Dokument festgelegten Laborbedingungen, die die Wirkung von Desinfektionsmitteln bei der praktischen Anwendung beeinflussen, eine bakterizide Wirkung aufweist oder nicht.

Der Laborversuch berücksichtigt praktische Anwendungsbedingungen für das Produkt, einschließlich Anwendung von Prüforganismen und Belastungssubstanzen auf einer künstlichen Hautprüfoberfläche, Einwirkzeit und Temperatur, d. h. Bedingungen, die die Wirkung des Produkts in praktischen Situationen beeinflussen können.

In diesem Dokument wird künstliche menschliche Haut als Prüfoberfläche verwendet.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Prüfverfahren für und die Mindestanforderungen an die bakterizide Wirkung von Zitzendesinfektionsmitteln fest, die bei Verdünnung in Wasser standardisierter Härte – oder im Falle gebrauchsfertiger Produkte – in Wasser als homogenes und physikalisch stabiles Präparat vorliegen.

Dieses Verfahren ist anzuwenden für Zitzendesinfektionsmittel, die auf der Zitzenhaut ohne mechanische Einwirkung als Desinfektionsmittel vor und/oder nach dem Melken im Veterinärbereich zum Einsatz kommen, d. h. bei der Aufzucht, Haltung, Produktion, in veterinärischen Pflegeeinrichtungen, beim Transport von Tieren sowie bei der Tierkörperbeseitigung aller Tiere mit Ausnahme der Tiere, die nach der Tötung direkt als Nahrungsmittel verwendet oder der weiterverarbeitenden Industrie zugeführt werden.

ANMERKUNG 1 Das beschriebene Verfahren soll der Bestimmung der Wirkung handelsüblicher Zubereitungen unter den Bedingungen dienen, unter denen sie in der Praxis angewendet werden.

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

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 1656, *Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika — Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den Veterinärbereich — Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 1)*

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

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 (Desinfektionsmittel für nach dem Melken) oder 3 Dezimal-logarithmische (lg) Reduktion (Desinfektionsmittel für vor dem Melken) gegenüber einem Kontrollversuch mit Wasser aufweisen, wenn es nach Tabelle 1 und Abschnitt 5 unter simulierter Verschmutzung (Belastung) (10,0 g/l Milchkpulver für Zitzendesinfektionsmittel nach dem Melken, 3,0 g/l Rinderserumalbumin für Zitzendesinfektionsmittel vor dem Melken) geprüft wird.

Tabelle 1 — Anforderungen

Prüfbedingungen	Bakterizide Wirkung auf künstlicher Haut ohne mechanische Wirkung	
Prüforganismus	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	
Prüftemperatur	$(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$	
Minimale Einwirkzeit	Zitzendesinfektionsmittel vor dem Melken $(30 \pm 5) \text{ s}$	Zitzendesinfektionsmittel nach dem Melken $1 \text{ min} \pm 5 \text{ s}$
Maximale Einwirkzeit	Zitzendesinfektionsmittel vor dem Melken $3 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$	Zitzendesinfektionsmittel nach dem Melken $5 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$
Andere Einwirkzeiten dürfen in Abständen von 30 s für Einwirkzeiten bis zu 1 min und in Abständen von 1 min für Einwirkzeiten $> 1 \text{ min}$ gewählt werden.		
Belastungssubstanz Zitzendesinfektionsmittel nach dem Melken Zitzendesinfektionsmittel vor dem Melken	10,0 g/l Milchpulver 3,0 g/l Rinderserumalbumin	

5 Prüfverfahren

5.1 Kurzbeschreibung

Eine Prüfsuspension von Bakterien gemischt mit der Belastungssubstanz wird auf die künstliche Hautprüfoberfläche abgeimpft und für die Dauer der Konditionierung bei $30 ^\circ\text{C}$ gehalten.

Nach dieser Konditionierungszeit wird die Prüfoberfläche in das Produkt oder Verdünnungen des Produkts bei $30 ^\circ\text{C}$ für eine festgelegte Dauer eingetaucht, wie in Tabelle 1 festgelegt. Nach Ablauf dieser Einwirkzeit wird ein Neutralisationsmedium zugegeben, so dass die Wirkung des Desinfektionsmittels unmittelbar neutralisiert wird.

Durch Ultraschalleinwirkung werden die Bakterien von der Oberfläche entfernt. Die Anzahl der überlebenden Bakterien, die von der Prüffläche zurückgewonnen werden können, wird quantitativ bestimmt.

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

5.2 Materialien und Reagenzien

5.2.1 Prüforganismen

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

- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*

ANMERKUNG Verweisungen auf Stämme aus anderen Kultursammlungen sind in Anhang A genannt.

Die erforderliche Bebrütungstemperatur für diese Prüforganismen liegt bei $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ oder $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ (5.3.2.3).

5.2.2 Kulturmedien und Reagenzien

5.2.2.1 Allgemeines

Alle für dieses Verfahren 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 die daraus folgenden Differenzen in der relativen Molekülmasse 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.

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

Ein gebrauchsfertiges Medium darf verwendet werden, wenn es den erforderlichen Anforderungen entspricht.

Für jedes Kulturmedium und Reagens sollte ein begrenzter Anwendungszeitraum festgelegt werden.

5.2.2.2 Wasser

Das Wasser muss frisch in einer Glasapparatur destilliert werden und darf kein demineralisiertes Wasser sein. Falls kein destilliertes Wasser geeigneter Qualität zur Verfügung steht, darf Wasser für Injektionszwecke verwendet werden (siehe Literaturhinweis [2]).

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

5.2.2.3 Trypton-Soja-Agar (TSA)

Trypton-Soja-Agar, bestehend aus:

Trypton aus Casein, pankreatisch verdaut	15,0 g;
Sojapepton, Papain-Aufschluss von Sojabohnenmehl	5,0 g;
Natriumchlorid (NaCl)	5,0 g;
Agar	15,0 g;
Destilliertes Wasser auf	1 000,0 ml.

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

5.2.2.4 Verdünnungsmittel

Trypton-Natriumchlorid-Lösung, bestehend aus:

Trypton aus Casein, pankreatisch verdaut	1,0 g;
Natriumchlorid (NaCl)	8,5 g;
Destilliertes Wasser auf	1 000,0 ml.

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

5.2.2.5 Neutralisationsmedium

Das Neutralisationsmedium muss für das zu prüfende Produkt nach 5.5.1.2 validiert sein. Das Neutralisationsmedium muss steril sein.

ANMERKUNG In Tabelle B.1 sind Angaben zu Neutralisationsmedien aufgeführt, die sich für einige Arten von Produkten als geeignet erwiesen haben.

5.2.2.6 Wasser standardisierter Härte

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) werden in destilliertem Wasser gelöst und auf 1 000 ml verdünnt. Die Sterilisation erfolgt durch Membranfiltration oder im Autoklaven. Sofern das Autoklavieren angewendet wird, kann dies zu einem Flüssigkeitsverlust führen. In diesem Fall wird mit Wasser unter aseptischen Bedingungen auf 1 000 ml aufgefüllt. Die Lösung wird im Kühlschrank (5.3.2.8) bei $2 ^\circ\text{C}$ bis $8 ^\circ\text{C}$ für höchstens einen Monat aufbewahrt.

Herstellung von Lösung B:

35,02 g Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) werden in destilliertem Wasser gelöst und auf 1 000 ml verdünnt. Die Sterilisation erfolgt durch Membranfiltration. Die Lösung wird im Kühlschrank (5.3.2.8) bei $2 ^\circ\text{C}$ bis $8 ^\circ\text{C}$ für höchstens eine Woche aufbewahrt.

In einen sterilen 1 000 ml-Messkolben werden 600 ml bis 700 ml steriles destilliertes Wasser gegeben und dazu werden 6,0 ml Lösung A und anschließend 8,0 ml Lösung B gegeben. Es wird durchmischt und mit sterilem destilliertem Wasser auf 1 000 ml verdünnt. Der pH-Wert des Wassers standardisierter Härte muss $7,0 \pm 0,2$ betragen, gemessen bei $(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$. 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 muss unter aseptischen Bedingungen frisch hergestellt und innerhalb von 12 h verwendet werden.

5.2.2.7 Belastungssubstanzen

5.2.2.7.1 Allgemeines

Belastungssubstanzen müssen steril sein und in einer Konzentration hergestellt werden, die dem 2-Fachen der in der Prüfung verwendeten Endkonzentration entspricht.

5.2.2.7.2 Magermilch

Eine Lösung von 20 g Milchpulver, die garantiert frei von Antibiotika und Zusatzstoffen ist, wird in 1 000 ml Wasser (5.2.2.2) hergestellt.

Diese wird für 30 min bei $105^{+3} _0 ^\circ\text{C}$ (oder für 5 min bei $121^{+3} _0 ^\circ\text{C}$) erhitzt.

Die Endkonzentration im Prüfverfahren (5.5) beträgt 10 g/l Milchpulver.