

DIN EN 17430



ICS 11.080.20

Einsprüche bis 2019-10-09

Entwurf**Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika –
Viruzide hygienische Händedesinfektion –
Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2);
Deutsche und Englische Fassung prEN 17430:2019**

Chemical disinfectants and antiseptics –
Hygienic handrub virucidal –
Test method and requirements (phase 2/step 2);
German and English version prEN 17430:2019

Désinfectants chimiques et antiseptiques –
Traitement hygiénique virucide de mains par frictions –
Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 2);
Version allemande et anglaise prEN 17430:2019

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2019-08-09 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an named@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Medizin (NAMED), 10772 Berlin, Saatwinkler Damm 42/43, 13627 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 64 Seiten

DIN-Normenausschuss Medizin (NAMED)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17430:2019) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 216 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika“ 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).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika — Viruzide hygienische Händedesinfektion — Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 2, Stufe 2)

Désinfectants chimiques et antiseptiques — Traitement hygiénique virucide de mains par frictions — Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 2)

Chemical disinfectants and antiseptics — Hygienic handrub virucidal — Test method and requirements (phase 2/step 2)

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokument-Stage: CEN-Umfrage
Dokument-Sprache: D

STD Version 2.9p

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Begriffe	4
4 Anforderungen	5
5 Prüfverfahren	5
5.1 Kurzbeschreibung	5
5.2 Materialien und Reagenzien	5
5.2.1 Prüforganismus	5
5.2.2 Kulturmedien und Reagenzien	5
5.3 Apparate und Glasgeräte	8
5.3.1 Allgemeines	8
5.3.2 Übliche mikrobiologische Laborausrüstung und insbesondere folgende Geräte:	8
5.4 Herstellung der Prüforganismussuspensionen und der Produktprüflösungen	9
5.4.1 Virusprüfsuspension (Prüforganismussuspensionen, Kontaminationsflüssigkeit)	9
5.4.2 Zelllinien	10
5.5 Zellkulturvorbereitung zur Prüfung auf viruzide Wirkung	10
5.6 Infektiositätsprüfung	10
5.6.1 Quantalversuche (Endpunkttitration)	10
5.6.2 Plaqueversuche	10
5.7 Verfahrensablauf zur Beurteilung der viruziden Wirksamkeit des Produkts auf den Händen von Probanden	11
5.7.1 Allgemeines	11
5.7.2 Prüfverfahren mit Probanden	13
6 Versuchsdaten und Berechnung	14
6.1 Protokollierung der Ergebnisse	14
6.2 Berechnung des Virustiters	14
6.3 Berechnung der PFU	15
6.4 Berechnung der Ig-Reduktion R (Ig-Vorwert – Ig-Nachwert)	15
6.5 Verifizierung des Verfahrens — Validierung des Versuchs	15
6.6 Statistische Auswertung (Signifikanzprüfung), Angabe der Ergebnisse und Präzision	15
6.7 Schlussfolgerung	16
6.8 Prüfbericht	16
Anhang A (normativ) Standard-Händedesinfektionsverfahren	18
Anhang B (informativ) Berechnung des viralen Infektiositätstiters	19
B.1 Beispiel für die Bestimmung der TCID ₅₀ nach der Spearman-Kärber-Methode	19
B.2 Berechnung der Plaque bildenden Einheiten (PFU)	19
Anhang C (informativ) Qualitätskontrolle der Kaliseife	21
Anhang D (informativ) Beispiele für die Angabe der Ergebnisse und die Signifikanzprüfung	22
Anhang E (normativ) Test auf Nichtunterlegenheit	29
Literaturhinweise	31

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17430:2019) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 216 „Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Prüfverfahren fest, das praktische Bedingungen simuliert um festzustellen, ob ein Produkt für die hygienische Händedesinfektion die Abgabe der auf den Händen befindlichen Virenkontamination verringert, wenn es auf den künstlich kontaminierten Händen von freiwilligen Probanden verrieben wird.

ANMERKUNG 1 Es wird darauf hingewiesen, dass Versuche mit menschlichen Probanden in bestimmten europäischen Ländern/Regionen gesetzlichen Bestimmungen unterliegen.

Dieses Dokument gilt für Produkte zur hygienischen Händedesinfektion, die in Bereichen und unter Bedingungen angewendet werden, wo eine Desinfektion 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 des Patienten dienen.

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

ANMERKUNG 2 Das 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 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 EN 14885.

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

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

4 Anforderungen

Bei der Prüfung nach Abschnitt 5 darf die bei der hygienischen Händedesinfektion mit dem zu prüfenden Produkt erreichte mittlere Reduktion der Abgabe des Prüforganismus *Murines Norovirus* Stamm S99 Berlin zumindest nicht unterlegen sein im Vergleich zu der mit einem festgelegten Mittel für die hygienische Referenz-Händedesinfektion (Ethanol mit einer Volumenkonzentration von 70 %) erreichten Reduktion.

5 Prüfverfahren

5.1 Kurzbeschreibung

Die Hände von Probanden werden künstlich mit Prüforganismen kontaminiert. Die Anzahl der von den Fingerkuppen in eine Probenahme Flüssigkeit abgegebenen Prüforganismen wird vor und nach der hygienischen Händedesinfektion ermittelt. Das Verhältnis der beiden sich ergebenden Werte (Virustiter) stellt ein Maß für die antimikrobielle Wirksamkeit des geprüften Produktes dar. Die erforderliche Präzision wird durch eine Versuchswiederholung an 18 bis 22 Probanden erreicht. Um äußere Einflüsse zu kompensieren, erfolgt ein Vergleich mit der Reduktion, die in einer mit denselben Probanden, am selben Tag und unter vergleichbaren Umgebungsbedingungen durchgeführten Referenz-Händedesinfektion erhalten worden ist.

5.2 Materialien und Reagenzien

5.2.1 Prüforganismus

Murines Novovirus, Stamm S99 Berlin¹

Dieser Prüforganismus wurde speziell ausgewählt, um den Anforderungen von Leitfäden zum Gesundheitsschutz und zur Sicherheit sowie von Ethikkommissionen Rechnung zu tragen. Nach der deutschen Gentechnik-Sicherheitsverordnung [4] wird das *Murine Norovirus* als Organismus der Risikogruppe 1 eingestuft.

5.2.2 Kulturmedien und Reagenzien

5.2.2.1 Allgemeines

Alle Gewichtsangaben von chemischen Substanzen in diesem Dokument beziehen sich auf wasserfreie 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. 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 strengstens befolgt werden. Für jedes Kulturmedium und Reagens sollte ein Endverbrauchsdatum festgelegt werden.

1 Das *Murine Norovirus* ist erhältlich beim Friedrich-Loeffler-Institut Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Hauptsitz Insel Riems Südufer 10, 17493 Greifswald-Insel Riems (Tel.: +49 38351 7-0, Fax: +49 38351 7-121. <http://www.fli.de/>). Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung des Anwenders dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN.

5.2.2.2 Wasser

Das Wasser muss frisch in einer Glasapparatur destilliertes und darf kein entmineralisiertes Wasser sein. Falls kein destilliertes Wasser geeigneter Qualität zur Verfügung steht, darf Wasser für Injektionszwecke (siehe Literaturhinweis [3]) verwendet werden.

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

Wird das Wasser während der Sterilisation der Reagenzien sterilisiert, ist dies nicht erforderlich.

5.2.2.3 Phosphatgepufferte-Kochsalzlösung (PBS)

Natriumchlorid (NaCl)	8,00 g
Kaliumchlorid (KCl)	0,20 g
Dinatriumhydrogenphosphat, 12fach verdünnt ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$)	2,89 g
Kaliumphosphat, monobasisch (KH_2PO_4)	0,20 g
Wasser (5.2.2.2)	auf 1 000,0 ml;

5.2.2.4 Neutralrot (1 : 1000-Lösung)

Die Stammlösung wird aus 0,1 mg/ml Neutralrot (Sigma N7005) in Wasser (5.2.2.2) hergestellt. Anschließend wird diese durch einen Filter mit der Porengröße 0,40 µm gefiltert und bei 4 °C im Dunkeln gelagert.

5.2.2.5 Fötales Kälberserum (FCS)

Das FCS muss zertifiziert frei von Viren und Mykoplasmen sein. Überflüssige Viren und Mykoplasmen können das Zell- und Virenwachstum beeinflussen und zu falschen Ergebnissen führen.

Für RAW 264.7 Zellen ist ein spezielles FCS aufgrund der hohen Zellempfindlichkeit gegenüber Endotoxinen zu verwenden.

5.2.2.6 Trichloressigsäure (10%ige-Lösung) (TCA)

10 g der TCA-Kristalle werden mit 80 ml Wasser (5.2.2.2) verdünnt, dann wird das Volumen auf 100 ml mit Wasser aufgefüllt. Durch Umrühren wird die Lösung vervollständigt.

5.2.2.7 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 Wasser (5.2.2.2) gelöst und auf 1 000 ml aufgefüllt. Die Sterilisation erfolgt durch Membranfiltration (5.3.2.12) 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 (5.3.2.16) nicht länger als einen Monat gelagert werden;

- Herstellung von Lösung B: 35,02 g Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) werden in Wasser (5.2.2.2) gelöst und auf 1 000 ml aufgefüllt. Die Sterilisation erfolgt durch Membranfiltration (5.3.2.12). Die Lösung darf im Kühlschrank (5.3.2.16) nicht länger als eine Woche gelagert werden;
- In einen 1 000-ml-Messkolben (5.3.2.10) werden 600 ml bis 700 ml Wasser (5.2.2.2) gegeben, dazu gegeben werden 6,0 ml (5.3.2.9) 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 $7,0 \pm 0,2$ 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 (5.6.3) 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 Wachstums- und Erhaltungsmedien

Es muss Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) oder ein gleichwertiges Medium verwendet werden, ergänzt mit einer geeigneten Konzentration von hitzeinaktiviertem (z. B. 30 min bei 56 °C) und mykoplasmafreiem fetalem Kälberserum (FCS) (5.2.2.5), Antibiotika und weiteren Wachstumsfaktoren je nach Erfordernis.

- a) Ein *Wachstumsmedium* für die Zellvermehrung wird mit 10 % FCS (5.2.2.5) ergänzt. Es werden 10 Teile FCS zu 90 Teilen MEM gegeben.
- b) Ein *ErhaltungsmEDIUM*, um den Zellstoffwechsel ohne Stimulation des Zellwachstums aufrechtzuerhalten, wird mit 2 % FCS ergänzt. Es werden 2 Teile FCS (5.2.2.5) zu 98 Teilen MEM gegeben.

Andere Medien dürfen verwendet werden, wenn sie für die bestimmte Zelllinie geeignet sind.

Siehe auch Literaturhinweis [5]. Siehe EN 12353 für eine detaillierte Beschreibung.

ANMERKUNG Materialien und Reagenzien für eine Zellkultur können von Lieferfirmen für Biologika erworben werden.

5.2.2.9 Verdünnte Kaliseife

Leinöl	50 Masseteile
Kaliumhydroxid [3]	9,5 Masseteile
Ethanol (mindestens 95 %ig) [3]	7 Masseteile
Heißes destilliertes Wasser ($75\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$)	nach Bedarf

Es wird eine Lösung aus 9,5 Teilen Kaliumhydroxid in 15 Teilen Wasser (5.2.2.2) hergestellt, zu der 50 Teile Leinöl zugegeben werden. Der Ansatz wird unter ständigem Rühren auf etwa 70 °C erwärmt. Nach Zusatz des Ethanol wird das Erwärmen unter Rühren fortgesetzt, bis der Verseifungsprozess beendet ist und sich eine Probe in Wasser klar und in Ethanol fast klar löst. Die Masse der Kaliseife wird anschließend durch Zusatz von auf $75\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ erwärmtem Wasser (5.2.2.2) zum Verdünnen der Kaliseife auf 100 Teile gebracht. 200 g der Kaliseife werden entnommen, mit Wasser (5.2.2.2) auf 1 000 g aufgefüllt und im Autoklaven [5.3.2.1 a)] sterilisiert. Der pH-Wert der Endverdünnung der Kaliseife muss zwischen 10,0 und 11,0 liegen.

Zur Qualitätskontrolle der Kaliseife siehe Anhang C.

5.2.2.10 Ethanol als Referenz-Händedesinfektion [Volumenanteil von 70 % bei 20 °C]

547,2 g Ethanol werden mit einer Reinheit von einem Mindestvolumenanteil von 99,5 % (gaschromatographisch bestimmt; Dichte 0,790) in einen mit einem Glasstopfen ausgestatteten 1 000-ml-Kolben auf einer Wägebrücke (Fehlergrenze 0,1 g) gefüllt. 322,7 g Wasser (5.2.2.2) werden zugegeben. Der Kolben wird mit dem passenden Glasstopfen verschlossen und der Kolbeninhalt gründlich geschüttelt. Während des Mischens erwärmt sich die Lösung auf etwa 30 °C. Nach dem Abkühlen auf 20 °C ergibt sich ein Volumen von etwa 980 ml.

ANMERKUNG Die Lösung kann, sofern lichtgeschützt, unbegrenzt bei Raumtemperatur aufbewahrt werden.

5.3 Apparate und Glasgeräte

5.3.1 Allgemeines

Mit Ausnahme steril gelieferter sind alle Glasgeräte und alle Geräteteile, die mit den Kulturmedien und Reagenzien oder der Probe in Berührung kommen, nach einem der folgenden Verfahren zu sterilisieren:

- a) durch feuchte Hitze im Autoklaven [5.3.2.1 a)];
- b) durch trockene Hitze im Heißluft-Sterilisator [5.3.2.1 b)].

5.3.2 Übliche mikrobiologische Laborausrüstung² und insbesondere folgende Geräte:

5.3.2.1 Geräte zur Sterilisation (feuchte und trockene Hitze)

- a) zur Dampfsterilisation ein Autoklav, der für eine Mindesthaltezeit von 15 min bei (121^{+3}_0) °C gehalten werden kann;
- b) zur Sterilisation durch trockene Hitze ein Heißluftsterilisator, der für eine Mindesthaltezeit von 30 min bei (180^{+5}_0) °C, für eine Mindesthaltezeit von 1 h bei (170^{+5}_0) °C oder für eine Mindesthaltezeit von 2 h bei (160^{+5}_0) °C gehalten werden kann.

5.3.2.2 Wasserbäder, einstellbar auf 20 °C $\pm$ 1 °C.

5.3.2.3 Umkehr-Mikroskop für die mikroskopische Untersuchung von Zellkulturen.

5.3.2.4 pH-Messgerät, mit einer Kalibrierungsgenauigkeit von 0,1 pH-Einheiten bei 20 °C $\pm$ 1 °C.

5.3.2.5 Stoppuhr.

5.3.2.6 Tiefkühlschrank (–20 °C und –70 °C oder weniger).

5.3.2.7 Elektromechanisches Rührwerk, z. B. Vortex®-Mischer³.

5.3.2.8 Behälter: sterile Prüfröhrchen, Kulturflaschen oder Glaskolben mit geeignetem Volumen.

2 Sterile Einweggeräte sind eine annehmbare Alternative zu wiederverwendbaren Glasgeräten.

3 Der Vortex®-Mischer ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Information dient lediglich zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN.

5.3.2.9 Messpipetten mit Nennvolumina von 10 ml, 1 ml und 0,1 ml. Kalibrierte automatische Pipetten mit Einweg-Spitzen dürfen verwendet werden.

5.3.2.10 Messkolben, kalibriert bei 20 °C.

5.3.2.11 Sterile Mikrotiterplatten, Platten mit sechs Vertiefungen für Zellkulturen und Kolben für die Zellkulturen.

5.3.2.12 Membranfiltrationsgerät für die Filtration von Medien mit einer Porenweite von 0,2 µm.

5.3.2.13 CO₂-Brutschrank (95 % Luft, 5 % CO₂), einstellbar auf entweder 36 °C ± 1 °C oder 37 °C ± 1 °C für die Bebrütung von Zellkulturen.

5.3.2.14 Biologische Sicherheitswerkbank, Klasse II.

5.3.2.15 Zentrifuge (400 g_N bis 1 000 g_N).

5.3.2.16 Kühlschrank, einstellbar auf 2 °C bis 8 °C.

5.3.2.17 Zylindrische Polypropylen-Röhrchen mit Schraubverschluss, Volumen 25 ml, Länge 54 mm, Durchmesser 27 mm (für die Edelstahlscheiben), z. B. Sarstedt AG & Co. D-51582 Nümbrecht, Art. Nr.: 60.9922.115 PS⁴.

5.3.2.18 Zylindrische Polypropylen-Röhrchen mit Schraubverschluss, Volumen 10 ml, Länge 79 mm, Durchmesser 16 mm (für die Glasträger), z. B. Sarstedt AG & Co. D-51582 Nümbrecht, Art. Nr.: 60.551.001)⁴.

5.4 Herstellung der Prüforganismussuspensionen und der Produktprüflösungen

5.4.1 Virusprüfsuspension (Prüforganismussuspensionen, Kontaminationsflüssigkeit)

Die Prüforganismen und deren Stammkulturen müssen nach EN 12353 hergestellt und aufbewahrt werden.

Die Virus-Stammsuspension wird in einer geeigneten Zelllinie, die hohe Titer von infektiösen Viren erzeugt, vermehrt. Die Zelltrümmer müssen danach durch Zentrifugieren (400 g_N für 15 min) abgetrennt werden. Dieses Präparat wird als „Virusprüfsuspension“ bezeichnet.

Die Virussuspension sollte einen Mindesttiter von 10⁸ TCID₅₀/ml - bestimmt durch einen Quantalversuch (5.6.1) oder durch einen Plaqueversuch (5.6.2) - aufweisen. In jedem Fall muss er hoch genug sein, damit mindestens 10⁴ TCID₅₀/ml von den Händen gewonnen werden können.

In besonderen Fällen darf die Virusprüfsuspension durch geeignete Verfahren (z. B. Ultrazentrifugieren) konzentriert werden.

Die Virusprüfsuspension wird in kleinen Mengen und bei Temperaturen unter –70 °C oder vorzugsweise bei –196 °C unter Stickstoff aufbewahrt. Aus Sicherheitsgründen und - in einigen Fällen - zur Begrenzung einer möglichen Genmutation sind nur 10 Passagen aus dem ursprünglichen Aussaatvirus (z. B. Virus aus der Kulturensammlung) zulässig.

Für das Prüfverfahren (5.7) wird die Virusprüfsuspension unverdünnt verwendet.

4 Diese „Art. Nr.“ von Sarstedt AG & Co. D-51582 Nümbrecht sind Beispiele für geeignete handelsübliche Produkte. Diese Angaben dienen nur der Information der Anwender dieses Dokuments und stellen keine Anerkennung dieser Produkte durch CEN dar.

Der Titer der Virussuspension wird wie beschrieben bestimmt (siehe 6.2 und 6.3).

5.4.2 Zelllinien

Das *Murine Norovirus* wird in RAW 264.7-Zellen (ATCC TIB-71) oder anderen Zelllinien mit einer geeigneten Sensibilität vermehrt.

5.5 Zellkulturvorbereitung zur Prüfung auf viruzide Wirkung

Die als Suspension in Quantalversuchen verwendeten Zellen müssen den Verdünnungen des Prüfgemischs in einer solchen Dichte hinzugefügt werden, dass die Bildung einer einschichtigen Zellschicht (Monolayer) in der Zellkontrollprobe mindestens innerhalb von zwei Tagen möglich ist (siehe 5.6.1.1).

Einschicht-Zellkulturen müssen vor der Beimpfung zu > 90 % zusammengewachsen (konfluierend) sein. Zelllinien und Kulturmedien werden in Übereinstimmung mit dem Prüfvirus (siehe 5.2.1) ausgewählt.

5.6 Infektiositätsprüfung

5.6.1 Quantalversuche (Endpunkttitration)

5.6.1.1 Virustitration auf Zellen in Suspension

Die Virusprüfsuspension (5.4.1) wird in zehnfachen Verdünnungsschritten verdünnt, wobei jeweils 0,5 ml oder 0,1 ml Virusprüfsuspension zu einer angemessenen Menge Erhaltungsmedium (siehe 5.2.2.8) gegeben werden. Nach jeder Verdünnung muss die Pipette gewechselt werden.

0,1 ml jeder Verdünnung wird, beginnend mit der höchsten Verdünnung, in sechs oder acht Vertiefungen einer Mikrotiterplatte übertragen. 0,1 ml einer Zellkultursuspension wird in einer solchen Dichte hinzugefügt, dass die Bildung einer einschichtigen Zellschicht mindestens innerhalb von zwei Tagen in der Zellkontrollprobe möglich ist. In die letzte Reihe von sechs oder acht Vertiefungen darf keine Virusprüfsuspension gegeben werden, sie dient als Zellkontrollprobe.

Die zytopathologische Wirkung (CPE) des Virus wird nach der geeigneten Bebrütungszeit entsprechend dem Virustyp mittels eines Umkehr-Mikroskops beurteilt (siehe 5.3.2.3).

5.6.1.2 Virustitration auf einschichtigen Zellschichten

0,1 ml jeder Verdünnung (siehe 5.6.1.1) wird in sechs bis acht Vertiefungen einer Mikrotiterplatte übertragen, die eine konfluierende (> 90 %) einschichtige Zellschicht enthalten. In die letzte Reihe von sechs oder acht Vertiefungen wird 0,2 ml Erhaltungsmedium (siehe 5.2.2.8) gegeben, das als Zellkontrollprobe dient. Werden die Zellen ohne Medium bebrütet, wird nach einer Bebrütungsdauer von 1 h bei 37 °C jeder Vertiefung 0,1 ml Erhaltungsmedium zugesetzt.

Die Platten werden bei 37 °C über die geeignete Bebrütungszeit bebrütet. Die zytopathische Wirkung wird mittels eines Umkehr-Mikroskops beurteilt (siehe 5.3.2.3).

5.6.2 Plaqueversuche

Vertiefungen in Untersuchungstabletts aus Kunststoff (Oberflächendurchmesser 30 mm bis 35 mm) mit konfluierenden einschichtigen Zellschichten werden einmal mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) (5.2.2.3) gewaschen und mit jeweils 0,2 ml der Verdünnungsreihen der Viren in DMEM + 2 % FCS beimpft (siehe 5.2.2.8). Je Verdünnung werden in der Regel drei Vertiefungen verwendet. Nach einer Adsorptionsdauer von 1 h bei 37 °C, in der die Einschicht-Zellschichten durch Neigen der Platten alle 8 min bis 10 min feucht gehalten werden, wird das Inokulum entfernt und die Zellschichten werden einmal mit PBS gewaschen. Anschließend werden die Vertiefungen mit 3 ml einer Mischung aus 2 % geschmolzener Agarose oder einem anderen geeigneten halbfesten Medium und 2fach konzentriertem DMEM mit 4 % FCS überlagert. Die

Kulturen werden in einem CO₂-Brutschrank (siehe 5.3.2.13) 5 Tage bis 6 Tage bei 37 °C bebrütet. Die Plaques können nach Zusatz von 2 ml einer zweiten Übersichtung mit der gleichen Zusammensetzung wie die erste, die ebenfalls 5 % Neutralrotlösung 1 : 1 000 enthält, und weiterer Bebrütung (im Dunkeln) bei 37 °C für 24 h bis 48 h in einem CO₂-Brutschrank (siehe 5.3.2.13) ausgezählt werden. Die Auszählung kann auch nach Zugabe von Kristallviolett erfolgen. Die Einsicht-Zellkulturen werden durch Zugabe von 2 ml Trichloressigsäure (TCA) 10 % (5.2.2.6) über die Agarüberschichtung für 10 min bis 15 min bei Raumtemperatur fixiert. Die Agarüberschichtung wird dann entfernt und 2 ml Kristallviolett 0,1 % in 20%igem Ethanol werden zugegeben. Nach 10 min bis 15 min bei Raumtemperatur werden die Vertiefungen ausgiebig mit Wasser gespült und die Plaques (weiße Flecken) ausgezählt.

Produktprüflösungen

Das Produkt im Lieferzustand muss als Produktprüflösung verwendet werden, wenn es vom Hersteller empfohlen wird. Produktprüflösungen von Produkten, die nach der Empfehlung des Herstellers zu verdünnen sind, müssen mit Wasser standardisierter Härte (5.2.2.7) hergestellt werden.

Bei festen Produkten wird das Produkt im Lieferzustand gelöst, indem mindestens 1,0 g $\pm$ 10 mg des Produkts in einen Messkolben eingewogen werden und dieser mit Wasser standardisierter Härte (5.2.2.7) aufgefüllt wird. Die nachfolgenden Verdünnungen (= niedrigere Konzentrationen) müssen in Messkolben (5.3.2.10) im Verhältnis Volumen zu Volumen in Wasser standardisierter Härte (5.2.2.7) hergestellt werden.

Bei flüssigen Produkten müssen die Verdünnungen des Produkts mit Wasser standardisierter Härte in Messkolben (5.3.2.10) im Verhältnis Volumen zu Volumen hergestellt werden.

Die Produktprüflösungen müssen frisch hergestellt und innerhalb von 3 h in der Prüfung verwendet werden. Sie müssen eine physikalisch homogene Zubereitung ergeben, die während des gesamten Verfahrens stabil ist. Wenn im Verlauf des Verfahrens eine sichtbare Inhomogenität durch Bildung einer Ausfällung oder Ausflockung auftritt, muss dies im Prüfbericht angegeben werden.

ANMERKUNG Das Auszählen in einer Ausfällung oder Ausflockung eingebetteter Mikroorganismen ist schwierig und unzuverlässig.

Die Prüfkonzentration ist als Massenkonzentration oder als Volumenkonzentration anzugeben, ebenso Einheiten der Produktprobe im Lieferzustand.

5.7 Verfahrensablauf zur Beurteilung der viruziden Wirksamkeit des Produkts auf den Händen von Probanden

5.7.1 Allgemeines

5.7.1.1 Untersuchungsbedingungen

a) Temperatur:

Die Temperatur für die Kontrolle und Virusprüfsuspension (Kontaminationsflüssigkeit) beträgt 20 °C $\pm$ 1 °C.

b) Einwirkzeit t (in s):

Die zu prüfende Einwirkzeit wird nach den Empfehlungen des Herstellers ausgewählt, sie darf jedoch nicht kürzer sein als 30 s und nicht länger als 60 s. Die Einwirkzeit ist die gesamte Einreibedauer. Für die hygienische Referenz-Händedesinfektion [Ethanol (5.2.2.10)] beträgt sie 60 s.

Die zulässige Abweichung für jede gewählte Einwirkzeit beträgt $\pm$ 5 s.

ANMERKUNG Aufgrund des Standard-Einreibeverfahrens (Anhang A) ist eine kürzere Einwirkzeit als 30 s nicht möglich und kann nicht verifiziert werden.

c) Prüforganismus:

Der Prüforganismus ist das *Murine Norovirus* (5.2.1).

5.7.1.2 Temperaturgleichgewicht

Alle Reagenzien [Produktprüflösungen (5.6.3), Ethanol (5.2.2.10), verdünnte Kaliseife (5.2.2.9), Virusprüfsuspension (5.4.1) und - falls notwendig - Wasser standardisierter Härte (5.2.2.7)] werden vor der Prüfung im auf 20 °C eingestellten Wasserbad (5.3.2.2) auf die Prüftemperatur von 20 °C eingestellt. Die Stabilisierung der Temperatur der Reagenzien auf 20 °C ist zu überprüfen.

5.7.1.3 Auswahl der Probanden

Die Prüfung ist mit 18 bis 22 gesunden Personen mit gesunder Haut, ohne Schnitt- oder Schürfwunden an den Händen und mit kurzen, sauberen Fingernägeln durchzuführen. Am Tag der Prüfung sollten die Probanden keinen Schmuck oder andere Gegenstände an den Händen und Handgelenken tragen. Der Gesundheitszustand der Teilnehmer sollte nach nationalen Vorschriften validiert werden. Zusätzlich kann es notwendig sein, eine Risikobewertung in Bezug auf die Zelllinien vorzunehmen.

Obwohl das Alter im Allgemeinen kein einschränkender Faktor ist, sollten die Probanden mindestens 18 Jahre alt sein.

Da es sein kann, dass Werte von Probanden nicht für die Berechnung verwendet werden können, wird empfohlen, die Prüfung eher mit einer höheren Anzahl als mit 18 Probanden durchzuführen.

5.7.1.4 Versuchsanordnung

Für die Prüfung eines einzelnen Produktes wird eine Überkreuz-Anordnung verwendet. Die Probanden werden hierzu nach dem Zufallsprinzip zwei etwa gleichgroßen Gruppen zugeordnet. Die Probanden der Gruppe 1 führen die hygienische Referenz-Händedesinfektion durch (RP, 5.7.2.3.2) und die Probanden der Gruppe 2 die Händedesinfektion mit dem zu prüfenden Produkt (PP, 5.7.2.3.3).

Die Prüfung wird dann am selben Tag wiederholt, wobei Gruppe 1 die Händedesinfektion mit dem zu prüfenden Produkt und Gruppe 2 die Referenz-Händedesinfektion durchführt. Vor jeder Referenz-Händedesinfektion sowie jeder Desinfektion der Hände mit dem zu prüfenden Produkt müssen die Verfahren nach 5.7.2.3.2 und 5.7.2.3.3 durchgeführt werden.

Für die Prüfung mehrerer Produkte auf einmal ist eine Anordnung im lateinischen Quadrat mit so vielen Probandengruppen und so vielen Versuchsdurchläufen zu verwenden, wie zu prüfende Produkte (einschließlich der Referenz Ethanol) vorhanden sind. In jedem Durchlauf werden alle Händedesinfektionsverfahren parallel ausgeführt. Am Ende der gesamten Durchläufe muss jeder Proband jedes zu prüfende Produkt, einschließlich der Referenz Ethanol, einmal verwendet haben. Bei jedem zu prüfenden Produkt sind die Hände zwischen den Prüfungen der verschiedenen Produkte 1 min mit Leitungswasser und verdünnter Kaliseife (5.2.2.9) zu reinigen, weil Rückstände vom Produkt an den Händen des Probanden das Leistungsverhalten des im Anschluss zu prüfenden Produktes beeinflussen können. Abschließend müssen die Hände gründlich mit einem sauberen (Papier-)Handtuch abgetrocknet werden. Nach der Referenz-Händedesinfektion ist ein Abspülen mit Leitungswasser hinreichend.

5.7.2 Prüfverfahren mit Probanden

5.7.2.1 Anwendung der Virusprüfsuspension

Die Hände der Probanden werden vorbereitet, indem sie 1 min ohne Verwendung einer Bürste mit 5 ml verdünnter Kaliseife (5.2.2.9) gewaschen werden. Nach Abspülen mit fließendem Leitungswasser werden sie mindestens 30 s gründlich mit Papierhandtüchern abgetrocknet. Das Kontaminationsverfahren muss unter einer laminaren Luftströmung in einer biologischen Sicherheitswerkbank (5.3.2.14) erfolgen.

250 µl der Virusprüfsuspension (5.4.1, geringes Kontaminationsvolumen) werden in eine der trockenen hohlen Hände gegossen, und die Flüssigkeit wird auf der Haut der Handfläche und Fingerspitzen verrieben. Die Hände werden in waagerechter Haltung 1 min lang unter der Sicherheitswerkbank (5.3.2.14) getrocknet, wobei eine Tropfenbildung durch Spreizen der Finger und Hin- und Herdrehen vermieden wird.

Während dieses Verfahrens sollte darauf geachtet werden, dass eine Kontamination der angrenzenden Arbeitsfläche vermieden wird.

Es ist sicherzustellen, dass während eines Versuches die Hände aller Probanden mit derselben Charge der Virusprüfsuspension behandelt werden, selbst wenn mehrere Produkte im Vergleich zur Referenz-Händedesinfektion geprüft werden.

Die Haut des Probanden sollte für höchstens 15 min in Kontakt mit dem Virus sein.

5.7.2.2 Probenahme der Prüforganismen vor der Behandlung („Vorwert“)

Unmittelbar nach dem Trocknen beginnt die Probenahme an jeder Fingerspitze (einschließlich Daumen), indem jede Fingerspitze 1 min lang auf dem Boden einer kleinen 5 ml Zellkulturmedium enthaltenden Petrischale (5.2.2.8) mit 2 % FCS als Probenflüssigkeit gerieben wird, wobei dieselbe Schale für alle 5 Finger, aber eine gesonderte Schale für jede Hand verwendet wird - um 1 Virustiterwert pro Hand zu erzeugen. Deshalb wird für jede Hand eine gesonderte Petrischale verwendet.

Von den Probenahme flüssigkeiten werden innerhalb von mindestens 30 min zehnfache Verdünnungen in eiskaltem Erhaltungsmedium hergestellt (siehe 5.2.2.8). Nach jeder Verdünnung muss die Pipette gewechselt werden, um ein Verschleppen von Viren zu vermeiden. Die Zellkulturen werden mit den Verdünnungen entweder mittels Monolayer oder Zellsuspension beimpft. Infektiositätsprüfungen werden entweder durch Plaqueversuche oder Quantalversuche durchgeführt. Für den Quantalversuch müssen mindestens 6 Einheiten mit 100 µl jeder Verdünnung beimpft werden.

In einem CO₂-Brutschrank (siehe 5.3.2.13) wird 4-6 Tage bei 37 °C bebrütet.

Nach dem Bebrüten wird der Virustiter berechnet. Die Titrationsergebnisse des Quantalversuchs müssen Verdünnungsschritte mit einem prozentualen Anteil an positiven Ergebnissen zwischen 100 % und 0 % anzeigen (siehe Anhang B). Titerwerte werden nach Spearman und Kärber berechnet (siehe B.1). Die Ergebnisse des Plaqueversuchs müssen nach B.2 berechnet werden.

5.7.2.3 Verfahren der hygienischen Händedesinfektion

5.7.2.3.1 Allgemeines

Nach der Probenahme für die Vorwerte (5.7.2.2) lässt man die Hände trocknen. Unmittelbar nach dem Trocknen und ohne erneute Kontamination der Hände wird die Händedesinfektion entweder nach 5.7.2.3.2 oder 5.7.2.3.3 durchgeführt, je nachdem, was anwendbar ist (5.7.1.4).

5.7.2.3.2 Referenzverfahren für die hygienische Händedesinfektion (RP)

3 ml Ethanol (5.2.2.10) werden in die trockenen hohlen Hände gegossen, die 30 s nach dem in Anhang A dargestellten Standard-Händedesinfektionsverfahren bis zu den Handgelenken verrieben werden, um die vollständige Benetzung der Hände sicherzustellen:

In einem ersten Schritt wird das Ethanol (5.2.2.10) über die Hände einschließlich der Handgelenke Handfläche auf Handfläche verteilt, dann wird es fünfmal kreisend mit den geschlossenen Fingern der rechten Hand in die feuchte Handfläche der linken Hand und den geschlossenen Fingern der linken Hand in die feuchte Handfläche der rechten Hand gerieben. Dann erfolgt ein fünfmaliges Reiben der rechten Handfläche über den linken Handrücken und der linken Handfläche über den rechten Handrücken, fortgefahren wird mit fünf geradlinigen Bewegungen hin und her, Handfläche auf Handfläche mit verschränkten Fingern, weiter mit fünfmaligem Reiben der Außenseite der Finger auf den jeweils gegenüberliegende Handflächen mit verschränkten Fingern, anschließend fünfmaliges kreisendes Reiben des rechten Daumens in der geschlossenen linken Handfläche und des linken Daumens in der geschlossenen rechten Handfläche. Sämtliche Verfahrensschritte werden mit weiteren 3 ml Ethanol wiederholt (5.2.2.10), so dass sich insgesamt eine Einreibedauer von 60 s ergibt.

Hinsichtlich der Probenahme siehe 5.7.2.3.4.

5.7.2.3.3 Verfahren der hygienischen Händedesinfektion mit dem zu prüfenden Produkt (PP)

Dieses Verfahren muss nach den Empfehlungen des Herstellers durchgeführt werden, die Produktvolumen, Häufigkeit der Anwendung sowie Einwirkzeit [zwischen 30 s und 60 s, 5.7.1.1 b)] umfassen müssen. Auf jeden Fall sind die Schritte des in Anhang A beschriebenen Standard-Händedesinfektionsverfahrens einzuhalten.

Hinsichtlich der Probenahme siehe 5.7.2.3.4.

5.7.2.3.4 Probenahme der Prüforganismen nach der Behandlung („Nachwert“)

Unmittelbar nach der Behandlung (5.7.2.3.2 und 5.7.2.3.3) wird ein ähnliches Probenahmeverfahren angewendet, wie es für die Vorwerte beschrieben wurde (5.7.2.2). Gleichzeitig wird jede Fingerspitze einer Hand 1 min lang auf dem Boden einer 5 ml Probenflüssigkeit enthaltenden Petrischale gerieben wird, wobei dieselbe Schale für alle 5 Finger, aber eine gesonderte Schale für jede Hand verwendet wird - um 1 Virustiterwert je Hand zu erzeugen.

5.7.2.4 Händedekontamination nach Virusbeimpfung

5 ml eines 1 : 10 mit Wasser verdünnten Haushaltsbleichmittels (~5 % Natriumhypochlorit) in die hohlen Hände des Probanden geben. Das Bleichmittel muss für etwa 2 min gründlich über die Oberfläche beider Hände gerieben werden. Anschließend werden die Hände gründlich mit verdünnter Kaliseife (5.2.2.9) gewaschen und mit einem Papiertuch getrocknet.

6 Versuchsdaten und Berechnung

6.1 Protokollierung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der Zellkultur werden als 0 (Zellen ohne CPE) und 1 (25 % der Zellen mit CPE) bis 4 (alle Zellen mit CPE) oder als Anzahl der Plaques dokumentiert.

6.2 Berechnung des Virustiters

Die Berechnung der Viruskonzentration sollte mithilfe der Spearman-Kärber-Methode erfolgen. (Ein Beispiel für die Berechnung findet sich in B.1).

6.3 Berechnung der PFU

Die Anzahl der Plaque bildenden Einheiten pro Milliliter (PFU/ml) sollte nach B.2 berechnet werden. Nur Vertiefungen mit nicht konfluierenden Plaques dürfen bei der Berechnung berücksichtigt werden.

6.4 Berechnung der lg-Reduktion R (lg-Vorwert – lg-Nachwert)

Die TCID₅₀/ml während des Prüfverfahrens mit Probanden (Vorwerte und Nachwerte) wird aufgezeichnet, und es wird aufgezeichnet, ob der Proband zu Gruppe 1 (RP → PP) oder Gruppe 2 (PP → RP) (5.7.1.4) gehört. Sowohl für das Referenz- als auch für das Produkt-Prüfverfahren müssen die lg-Organismuszahlen der rechten und linken Hand jedes Probanden für Vor- und Nachwerte getrennt gemittelt werden.

Aus der Differenz zwischen diesem individuellen, kombinierten lg-Vorwert und dem lg-Nachwert wird für jeden Probanden die lg-Reduktion (lgR) ermittelt.

Danach werden aus allen einzelnen lg-Reduktionen die arithmetischen Mittelwerte sowohl für das Referenz- als auch für das Produkt-Prüfverfahren berechnet.

Wenn die Daten allen Anforderungen von 6.5 a) bis d) genügen, werden die Ergebnisse beider Verfahren, PP und RP, miteinander verglichen.

6.5 Verifizierung des Verfahrens — Validierung des Versuchs

Nur wenn die Ergebnisse des Prüfverfahrens die folgenden Anforderungen erfüllen, dürfen sie für die weitere Bewertung verwendet werden, andernfalls muss die Prüfung wiederholt werden (Annahmekriterien für die Prüfergebnisse).

- a) Es muss ein vollständiger Satz von Ergebnissen von mindestens 18 Probanden zur Verfügung stehen. Alle vollständigen Sätze von Ergebnissen müssen für die weitere Bewertung verwendet werden.
- b) Die Gesamtmittelwerte der lg-Vorwerte für RP und PP müssen beide mindestens 4,00 betragen.
- c) Die absolute Differenz der mittleren Differenzen zwischen den lg-Reduktionen von RP und PP von Gruppe RP → PP und Gruppe PP → RP muss weniger als 2,00 betragen.
- d) Die Kriterien von 6.6 müssen erfüllt sein.

6.6 Statistische Auswertung (Signifikanzprüfung), Angabe der Ergebnisse und Präzision

Wenn sich die Qualität der Daten als annehmbar erwiesen hat (6.5), sind sie unter Anwendung des folgenden Kriteriums für das Bestehen der Prüfung zur Bewertung der (des) zu prüfenden Produkte(s) zu verwenden:

PP (Verfahren mit dem Produkt) darf nicht unter RP (Verfahren mit dem Referenzprodukt Ethanol) liegen.

Für die Prüfung des Leistungsverhaltens von PP im Vergleich zu RP muss ein Test auf Nichtunterlegenheit auf die lg-Reduktionen in jeder Bewertung angewendet werden. Es ist das in Anhang E beschriebene statistische Verfahren anzuwenden. Andere Verfahren sind akzeptabel, wenn sie die gleiche oder eine überlegene Leistung haben und ihre Anwendbarkeit durch geeignete statistische Verfahren nachgewiesen werden kann (z. B. wenn die Unterschiede von RP - PP keine signifikante Abweichung von einer Normalverteilung aufweisen, dürfen parametrische Verfahren verwendet werden).

Für die Prüfung der Daten, die in einem Versuch mit einer Anordnung im lateinischen Quadrat erhalten wurden, ist der Test auf Nichtunterlegenheit zu verwenden, wobei die Ergebnisse von mehr als einem Prüfverfahren paarweise mit denen der Referenz verglichen werden. Die statistischen Verfahren, siehe

Tabelle D.4 b) und Tabelle D.5, sollten verwendet werden. Andere Verfahren sind akzeptabel, wenn sie die gleiche oder eine überlegene Leistung haben und ihre Anwendbarkeit durch geeignete statistische Verfahren nachgewiesen werden kann.

Das Signifikanzniveau wird mit $P = 0,025$ festgesetzt. Die Prüfung ist einseitig durchzuführen.

Die Unterlegenheitsmarge beträgt 0,6 lg-Einheiten.

6.7 Schlussfolgerung

Ein Produkt, das die Anforderungen (Abschnitt 4 und 6.5) erfüllt hat, wird als geeignet für die Verwendung als viruzide hygienische Händedesinfektion im medizinischen Bereich angesehen.

6.8 Prüfbericht

Der Prüfbericht muss auf dieses Dokument (prEN 17430:2019) verweisen.

Der Prüfbericht muss mindestens folgende Angaben enthalten:

- a) Identität des Prüflaboratoriums;
- b) Identifizierung der Probe:
 - 1) Name des Produkts;
 - 2) Chargennummer und - falls verfügbar - Endverbrauchsdatum;
 - 3) Hersteller;
 - 4) Datum der Lieferung;
 - 5) Lagerbedingungen;
 - 6) vom Hersteller empfohlenes Verdünnungsmittel für das Produkt;
 - 7) Wirkstoff(e) und seine/ihre Konzentration(en) (optional);
 - 8) Erscheinungsbild des Produkts;
- c) Untersuchungsbedingungen:
 - 1) Prüfdatum;
 - 2) für die Produktprüflösung verwendetes Verdünnungsmittel (Wasser standardisierter Härte oder Wasser);
 - 3) Produktprüfkonzentrationen;
 - 4) Erscheinungsbild der Produktverdünnungen;
 - 5) Einwirkzeit(en);
 - 6) Bebrütungstemperatur;
 - 7) Identität der verwendeten Prüforganismen;

d) Prüfergebnisse:

- 1) Lebendkeimzahl der Virusprüfsuspension;
- 2) eine genaue Beschreibung, wie PP durchgeführt wurde (5.7.2.3.3): Volumen, Einwirkzeit, Häufigkeit der Anwendung;
- 3) Listen der Versuchsergebnisse für RP und PP (Anhang D, Tabellen D.1 und D.2), die die auf den Platten gefundenen Koloniezahlen enthalten und jeweils mit dem Hinweis versehen sind, auf welche Verdünnung der Probenahme Flüssigkeit sie bezogen sind, und mit einer Kennzeichnung der Koloniezahlen, die für die weitere Berechnung verwendet wurden;
- 4) Liste der berechneten lg-Werte, d. h. dekadische Logarithmen (Anhang D, Tabelle D.3) der links-rechts gemittelten und, sofern anwendbar, gewichteten Lebendkeimzahlen je ml Probenahme Flüssigkeit, abgeleitet aus den gekennzeichneten/unterstrichenen Koloniezahlen. Diese Liste enthält die einzelnen lg-Vorwerte und lg-Nachwerte und die lg-Reduktion für jeden Probanden, getrennt nach RP und PP, sowie die Gesamtmittelwerte und Standardabweichungen und die chronologische Reihenfolge des Händedesinfektionsverfahren [PP vor RP (PP → RP) oder umgekehrt (RP → PP)];
- 5) Liste, aus der die Berechnung der oberen einseitigen 97,25 %-Vertrauensgrenzen nach Hodges-Lehmann hervorgeht [Anhang D, Tabelle D.4 a)] und eine Tabelle, aus der die Sortierung und Berechnung der oberen Vertrauensgrenzen nach Hodges-Lehmann hervorgeht [Anhang D, Tabelle D.4 b)];

e) Besondere Anmerkungen;

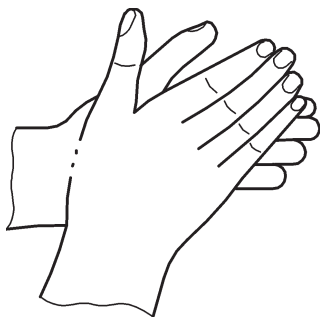
f) Schlussfolgerung;

g) Ort, Datum und Unterschrift mit Namen.

Anhang A (normativ)

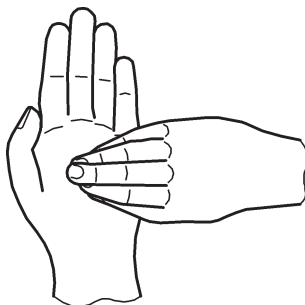
Standard-Händedesinfektionsverfahren

Es ist nach den Schritten 1 bis 6 vorzugehen (3 ml der Referenz-Händedesinfektion in die hohlen Hände geben, für das zu prüfende Produkt das vom Hersteller angegebene Volumen verwenden).



a) Schritt 1

Handfläche auf Handfläche



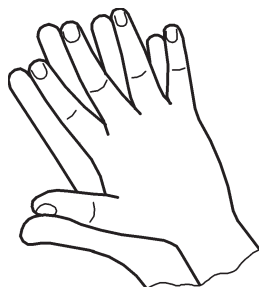
b) Schritt 2

Rechte Handfläche über linkem
Handrücken und linke Handfläche
über rechtem Handrücken (fünf
Mal)



c) Schritt 3

Handfläche auf Handfläche mit
verschränkten Fingern (fünf Mal)



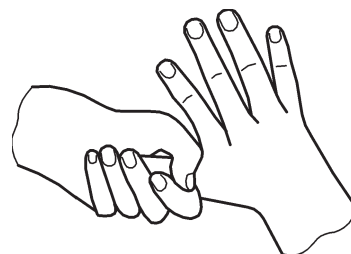
d) Schritt 4

Außenseite der Finger auf
gegenüberliegende Handfläche
mit verschränkten Fingern (fünf
Mal)



d) Schritt 5

Kreisendes Reiben des rechten
Daumens in der geschlossenen
linken Handfläche und umgekehrt
(fünf Mal)



e) Schritt 6

Kreisendes Reiben, hin und her
mit geschlossenen Fingern der
rechten Hand in der linken
Handfläche und umgekehrt (fünf
Mal)

Für die Referenz-Händedesinfektion werden die Hände für eine Einwirkzeit von 30 s weiter gerieben und der gesamte Vorgang weitere 30 s lang wiederholt (für das zu prüfende Produkt sind die Anweisungen des Herstellers bezüglich der Einwirkzeit und eventueller Wiederholungen zu befolgen!).

Bild A.1 — Standard-Händedesinfektionsverfahren