

DIN EN ISO 22610

ICS 13.340.10

Entwurf

Einsprüche bis 2017-06-21
 Vorgesehen als Ersatz für
 DIN EN ISO 22610:2006-10;
 Ersatz für
 E DIN EN ISO 22610:2015-12

**Operationsabdecktücher, -mäntel und Rein-Luft-Kleidung zur Verwendung
 als Medizinprodukte für Patienten, Klinikpersonal und Geräte –
 Prüfverfahren für die Widerstandsfähigkeit gegen Keimdurchtritt im
 feuchten Zustand (ISO/DIS 22610.2:2017);
 Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 22610:2017**

Surgical drapes, gowns and clean air suits, used as medical devices, for patients, clinical staff
 and equipment –

Test method to determine the resistance to wet bacterial penetration
 (ISO/DIS 22610.2:2017);

German and English version prEN ISO 22610:2017

Champs chirurgicaux, casaques et tenues de bloc, utilisés en tant que dispositifs médicaux,
 pour les patients, le personnel et les équipements –

Méthode d'essai de résistance à la pénétration de la barrière bactérienne à l'état humide
 (ISO/DIS 22610.2:2017);

Version allemande et anglaise prEN ISO 22610:2017

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2017-04-21 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, Burggrafenstr. 6,
 10787 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 69 Seiten

DIN-Normenausschuss Medizin (NAMED)
 DIN-Normenausschuss Textil und Textilmaschinen (Textilnorm)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 22610:2017) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 94 „Personal safety — Protective clothing and equipment“ (Sekretariat: SA, Australien) in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 205 „Nicht aktive Medizinprodukte“ (Sekretariat: DIN, Deutschland) unter Beteiligung deutscher Experten erarbeitet.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 063-01-08 GA „Gemeinschaftsarbeitsausschuss NAMED/Textilnorm: Operationstextilien“ des DIN-Normenausschusses Medizin (NAMED).

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 11135	siehe DIN EN ISO 11135
ISO 11607-1	siehe DIN EN ISO 11607-1
ISO 17665-1	siehe DIN EN ISO
ISO/IEC 17025	siehe DIN EN ISO/IEC 17025

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.

Nach der Abstimmung des internationalen Norm-Entwurfes ISO/DIS 22610:2015 (DIS = Draft International Standard) wurde vom ISO/TC 94 entschieden, eine zweite DIS-Umfrage zu starten. Als wesentlicher Grund wurde angeführt, dass es technische Probleme bei der Umsetzung des internationalen Norm-Entwurfes gegeben hat. Um wiederholbare und vergleichbare Ergebnisse zu erzielen, wurde in 2016 eine zweite Versuchsstudie mit insgesamt 8 Laboratorien angesetzt, deren Ergebnisse im zweiten DIS-Dokument berücksichtigt wurden. Aus diesem Grunde wurde auch ein zweiter Norm-Entwurf zu DIN EN ISO 22610 notwendig, der mit diesem Dokument vorliegt und zur Abstimmung steht.

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 22610:2006-10 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) komplette inhaltliche Überarbeitung zur Verbesserung der Präzision des Prüfverfahrens;
- b) detailliertere Beschreibung der Geräte, Reagenzien und Materialien;
- c) Änderung des Bakterienstamms für das Prüfverfahren;
- d) Festlegung engerer Toleranzen sowohl in Bezug auf die Geräteanforderungen als auch für die Behandlung von Messproben;
- e) komplette redaktionelle Überarbeitung.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 11135, *Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge — Ethylenoxid — Anforderungen an die Entwicklung, Validierung und Lenkung der Anwendung eines Sterilisationsverfahrens für Medizinprodukte*

DIN EN ISO 11607-1, *Verpackungen für in der Endverpackung zu sterilisierende Medizinprodukte — Teil 1: Anforderungen an Materialien, Sterilbarrieresysteme und Verpackungssysteme*

DIN EN ISO 17665-1, *Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge — Feuchte Hitze — Teil 1: Anforderungen an die Entwicklung, Validierung und Lenkung der Anwendung eines Sterilisationsverfahrens für Medizinprodukte*

DIN EN ISO/IEC 17025, *Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien*

— Leerseite —

Operationsabdecktücher, -mäntel und Rein-Luft-Kleidung zur Verwendung als Medizinprodukte für Patienten, Klinikpersonal und Geräte — Prüfverfahren für die Widerstandsfähigkeit gegen Keimdurchtritt im feuchten Zustand (ISO/DIS 22610.2:2017)

Champs chirurgicaux, casaques et tenues de bloc, utilisés en tant que dispositifs médicaux, pour les patients, le personnel et les équipements — Méthode d'essai de résistance à la pénétration de la barrière bactérienne à l'état humide (ISO/DIS 22610.2:2017)

Surgical drapes, gowns and clean air suits, used as medical devices, for patients, clinical staff and equipment — Test method to determine the resistance to wet bacterial penetration (ISO/DIS 22610.2:2017)

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokumentstufe: zweite parallele Umfrage
Dokumentsprache: D

STD Version 2.8f

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich.....	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	8
5 Geräte, Reagenzien und Materialien	9
6 Prüfgerät und Zubehör	10
7 Vorbereitung der Agarplatten	11
8 Bakteriellcs Inokulum	12
9 Durchführung.....	12
9.1 Allgemeines	12
9.2 Vorbereitung der Agarplatten mit einem Durchmesser von 14 cm.....	13
9.2.1 Trocknen der Platten	13
9.2.2 Bestimmung des Abstandes zwischen Agar und Rand.....	13
9.3 Beimpfung des Keimspenders	13
9.4 Prüfmaterial	14
9.5 Vorbereitung der Materialkombination für die Prüfung.....	14
9.6 Prüfverfahren	15
9.7 Kontrollplatten.....	17
9.7.1 Umgebungskontrollen	17
9.7.2 Bakterielle Belastungssubstanz.....	18
10 Bewertung.....	18
10.1 Bedingungen für eine gültige Prüfung.....	18
10.2 Bestimmung der Anzahl der Kolonien von <i>Bacillus atrophaeus</i>	19
11 Angabe der Ergebnisse	19
12 Präzision	19
12.1 Referenzsubstanz	19
12.2 Probematerial.....	20
13 Bericht	21
Anhang A (normativ) Prüfgerät und Zubehör.....	22
Anhang B (normativ) Nährmedien.....	26
B.1 TGE agar (TGEA).....	26
B.2 Peptonwasser.....	26
Anhang C (normativ) Gerätetechnische und laborbezogene Leistungsüberwachung.....	27
C.1 Allgemeines	27
C.2 Gerätetechnische Überwachung	27
C.3 Laborbezogene Überwachung	27

Anhang D (informativ) Schätzung der bakteriellen Verunreinigung auf der Oberseite der Messprobe und der auf dem Keimspendermaterial verbliebenen Keimbelastung.....	28
D.1 Allgemeines	28
D.2 Vorbereitung zusätzlicher Petrischalen	28
D.3 Verfahrensweise	28
Anhang E (informativ) Übertragung von Infektionserregern bei invasiven chirurgischen Eingriffen	29
Anhang F (informativ) Genauigkeit der Prüfung zur Bestimmung des Keimdurchtritts im feuchten Zustand	30
Anhang ZA (informativ) Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der EU-Richtlinie 93/42/EWG über Medizinprodukte	33
Literaturhinweise.....	34

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 22610:2017) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 94 „Personal safety — Protective clothing and equipment“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 205 „Non-active medical devices“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur zweiten parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument ersetzt den Norm-Entwurf prEN ISO 22610:2015-12.

Dieses Dokument wird EN ISO 22610:2006 ersetzen.

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.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 22610.2:2017 wurde vom CEN als prEN ISO 22610:2017 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der empfangenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Eine Erläuterung der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

Das für dieses Dokument zuständige Komitee ist ISO/TC 94/SC 13.

Diese zweite Ausgabe ersetzt die erste Ausgabe (2006), die technisch und redaktionell überarbeitet wurde.

Dieses Prüfverfahren wurde technisch und redaktionell grundlegend überarbeitet. Obwohl derselbe Grundsatz wie für ISO 22610:2006 gilt, sollte dieses überarbeitete Prüfverfahren technisch als neues Prüfverfahren gelten.

Zu den wichtigsten Unterschieden zwischen ISO 22610:2017 und ISO 22610:2006 gehören:

- Anderer Bakterienstamm
- Detailliertere Beschreibung der Geräte, Reagenzien und Materialien
- Engere Toleranzen in Bezug auf die Geräteanforderungen
- Engere Toleranzen in Bezug auf die (Vor)Behandlung der Messproben, Vorbereitung der Agarplatten, das bakterielle Inokulum und den Keimspender
- Striktes Protokoll für das Prüfverfahren.

Einleitung

Es gibt zahlreiche Beispiele für Situationen, in denen durch Flüssigkeit übertragene Bakterien ein Barrierematerial in seinem feuchten Zustand durchdringen können. Der Durchtritt von Hautflora durch ein feuchtes Abdeckmaterial ist ein Beispiel.

Die Europäische Richtlinie über Medizinprodukte erlegt die Verantwortung für die Verhinderung von durch Medizinprodukte bedingten Infektionen ausdrücklich dem Hersteller auf. Um die Übereinstimmung mit dieser Anforderung nachzuweisen und ein Produkt für den Anwender zu beschreiben, ist es erforderlich, harmonisierte und anerkannte internationale Prüfverfahren anzuwenden.

Bei dem in dieser Internationalen Norm beschriebenen Prüfverfahren werden mikrobiologische Techniken angewendet, und es ist deshalb ausschließlich durch Laboratorien durchzuführen, die in solchen Tätigkeiten erfahren und dafür sachgerecht ausgestattet sind.

ISO 22610:2006 wurde grundlegend überarbeitet, um die Präzision des Prüfverfahrens zu verbessern.

Der wichtigste Unterschied zwischen ISO 22610:2016 und ISO 22610:2006 besteht darin, dass in der Version von 2016 ein anderer Bakterienstamm und engere Toleranzen für die Handhabung von Materialien und das Verfahren festgelegt werden, was zu besser reproduzierbaren und genaueren Messungen führt.

Um genau wiederholbare und reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, müssen nicht nur die Geräte die in dieser Norm festgelegten Anforderungen erfüllen, sondern auch die Handhabung von Materialien und das Prüfverfahren müssen genau und konsequent eingehalten werden. Geringfügige Abweichungen von den Geräteanforderungen, der Verfahrensweise und/oder der Handhabung der Messproben können zu einem erheblichen Verlust an Wiederholpräzision, Vergleichspräzision und Genauigkeit der Messung führen.

WARNUNG — Die Anwendung dieser Norm kann mit der Anwendung gefährlicher Stoffe, Verfahrensschritte und Ausrüstungsgegenstände verbunden sein. Diese Norm beansprucht nicht, alle damit verbundenen Sicherheitsprobleme zu behandeln. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieser Norm, geeignete Vorkehrungen für den Arbeits- und Gesundheitsschutz zu treffen und die Anwendbarkeit von gesetzlichen Einschränkungen vor der Anwendung zu bestimmen.

WICHTIG — Dieses Prüfverfahren wurde technisch und redaktionell grundlegend überarbeitet. Die Geräte müssen die in diesem Dokument festgelegten Anforderungen erfüllen und die Messungen müssen unter den festgelegten Bedingungen durchgeführt werden, wobei besonders auf die (Vor)Behandlung der Messproben unter genauer Einhaltung des in diesem Dokument vorgeschriebenen Verfahrens zu achten ist. Geringfügige Abweichungen von den Geräteanforderungen, der Verfahrensweise und/oder der Handhabung der Messproben können zu einem erheblichen Verlust an Wiederholpräzision, Vergleichspräzision und Genauigkeit der Messung führen.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm definiert ein Prüfverfahren mit dazugehörige Prüfgerät, das für die Bestimmung der Widerstandsfähigkeit eines Materials gegen den Durchtritt von durch Flüssigkeit übertragenen Bakterien verwendet wird, während das Material mechanischem Reiben ausgesetzt wird.

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).

ISO 11135, *Sterilization of health-care products — Ethylene oxide — Requirements for the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices*

ISO 11607-1, *Packaging for terminally sterilized medical devices — Part 1: Requirements for materials, sterile barrier systems and packaging systems*

ISO/IEC 17025, *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*

ISO 17665-1, *Sterilization of health care products — Moist heat — Part 1: Requirements for the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Agarplatte

Petrischale, die ein steriles Agarmedium enthält

Anmerkung 1 zum Begriff: In Bezug auf die Zusammensetzung der Nährmedien siehe Anhang B.

3.2

Trägermaterial

als Unterlage des Keimspenders (Polyurethan-Folie) während der Herstellung und Vorbereitung verwendetes Material (Lage Papier)

3.3

Keimspender

Material, das mit einer bekannten Anzahl lebensfähiger Zellen oder Sporen eines festgelegten Stammes eines Prüfkeims kontaminiert wurde

3.4

Abdeckfolie

HDPE-Material, das zur Abdeckung des Keimspenders und der Messprobe während der Prüfung verwendet wird

3.5

Finger

Teil an einem Gerät zur Prüfung der Widerstandsfähigkeit gegen Keimdurchtritt im feuchten Zustand, der dazu dient, den Keimspender und die Messprobe mit der Oberfläche einer Agarplatte in Kontakt zu bringen

3.6

Mehrfachuntersuchung

Eine vollständige Bewertung einer einzelnen, aus der Probe (z. B. Operationsabdecktücher, -mäntel) geschnittenen Messprobe, die fünf Plattenauszahlungen bei direktem Kontakt mit dem Keimspender umfasst.

3.7

Messprobe

Stück Material, ca. 25 cm × 25 cm, dessen Widerstandsfähigkeit gegen Keimdurchtritt im feuchten Zustand bestimmt wird

3.8

Referenzmaterial

genormtes Material zur Beurteilung der Präzision des Laboratoriums bei der Durchführung der Prüfung der Widerstandsfähigkeit gegen Keimdurchtritt im feuchten Zustand

3.9

Widerstandsfähigkeit gegen Keimdurchtritt im feuchten Zustand

Widerstandsfähigkeit eines Barrierematerials gegen den Durchtritt von durch einen Keimspender übertragenen Bakterien, während das Material mechanischem Reiben und Benetzen ausgesetzt wird

3.10

Bakterielle Belastungssubstanz

Anzahl von Bakterien pro ml der Suspension von *Bacillus atrophaeus*, die zur Beimpfung der Messprobe verwendet wird

3.11

Bakterielles Inokulum

Suspension von *Bacillus atrophaeus* mit einer verifizierten Konzentration

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Konzentration sollte zwischen 5×10^3 und $1,5 \times 10^4$ liegen.

4 Kurzbeschreibung

Eine Lage Keimspendermaterial, von der gleichen Größe wie die Messprobe und mit Bakterien versehen, wird auf die Messprobe mit der kontaminierten Seite nach unten gelegt und mit einer Lage HDPE-Folie abgedeckt. Zwei konische Metallringe, die genau ineinander passen, halten die drei Lagen zusammen. Die Kombination der Materialien wird auf einer Agarplatte angeordnet, wobei die Stahlringe frei über den Rand hängen und eine Zugkraft aufbringen. Oben auf die Materialien wird ein abriebfester Finger gesetzt, der auf die Messprobe mit einer festgelegten Kraft wirkt, um diese mit der Agaroberfläche in Kontakt zu bringen. Der Finger wird mittels eines zapfengelagerten Arms, der durch eine exzentrische Nocke geführt wird, in weniger als 15 Minuten über die gesamte Oberfläche der Platte bewegt. Die Kombination der Materialien wird durch die Masse der Stahlringe so gedehnt, dass zu jedem beliebigen Zeitpunkt nur eine kleine Fläche der Messprobe mit der Agaroberfläche in Kontakt gebracht wird. Infolge der kombinierten Wirkung von Reibung und Flüssigkeitsdurchwanderung von der Agaroberfläche aus nach oben können sich Bakterien vom Keimspendermaterial durch die Messprobe bis auf die Agaroberfläche ausbreiten.

Die Prüfung wird 15 Minuten durchgeführt. Nach 15 Minuten wird die Agarplatte durch eine frische ersetzt und die Prüfung mit derselben Kombination der Materialien, d. h. demselben Keimspender und derselben Messprobe, wiederholt. Fünf aufeinanderfolgende Prüfungen werden an der gleichen Kombination von Materialien vorgenommen; das ermöglicht eine Schätzung des Keimdurchtritts im Verlauf der Zeit.

Mit derselben Technik dürfen die bakterielle Verunreinigung auf der Oberseite der Messprobe geschätzt und die auf dem Keimspendermaterial verbliebene Keimbelastung bestimmt werden.

Die Agarplatten werden bebrütet, damit die Bakterienkolonien wachsen, die dann gezählt werden.

Die Ergebnisse werden als prozentualer Anteil (%) des Keimdurchtritts im Vergleich zur ursprünglich auf den Keimspender abgeimpften Keimbelastung angegeben.

ANMERKUNG Wenn das Prüfmaterial (die Messprobe) eine antimikrobielle Substanz enthält, sollte diese vor der Prüfung deaktiviert werden. Falls es nicht möglich ist, die antimikrobielle Substanz zu deaktivieren, oder davon ausgegangen wird, dass das Material eine antimikrobielle Substanz enthält, sollte darüber hinaus die auf einer antimikrobiellen Substanz verbliebene bakterielle Verunreinigung bestimmt werden. Der Prüfbericht sollte Angaben zu allen etwaigen antimikrobiellen Behandlungen und zu den Ergebnissen der Durchlassprüfung und der zusätzlichen Prüfung enthalten.

5 Geräte, Reagenzien und Materialien

Neben den üblichen Anforderungen an die Laborausrüstung, Reagenzien und Materialien gilt Folgendes:

Reagenzien müssen analysenrein und/oder für mikrobiologische Zwecke geeignet sein.

Prüfeinrichtungen mit Einweggeräten/-materialien sind genauso zulässig wie wiederverwendbare Laborgeräte aus Glas und Kunststoff, wenn die technischen Angaben vergleichbar sind.

5.1 Biologische Sicherheitswerkbank der Klasse II.

5.2 Brutschränke, die eine Temperatur von $(56 \pm 2) ^\circ\text{C}$ und $(37 \pm 2) ^\circ\text{C}$ aufrechterhalten können.

5.3 Kühlschrank, der eine Temperatur von $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ aufrechterhalten kann.

5.4 Wasserbad, das eine Temperatur von $(45 \pm 2) ^\circ\text{C}$ aufrechterhalten kann.

5.5 Suspension eines Bakterienstammes, gereinigte Sporen von *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372, suspendiert in 90%igem Ethanol, mit einer Konzentration von etwa 10^9 Sporen/ml¹⁾. Andere Titer dürfen verwendet werden. Die maximale Ethanolkonzentration nach der Verdünnung darf jedoch 0,02 % nicht überschreiten.

5.6 Destilliertes Wasser, frisch destilliert und/oder deionisiert und/oder ultragefiltert und/oder durch Umkehrosmose gefiltert, frei von toxischen oder bakterienhemmenden Stoffen.

5.7 Peptonwasser, 10 g Pepton, 5 g NaCl und 1 g Polysorbat 80 in 1 000 ml Reinstwasser, 15 Minuten bei $(121 - 0 + 3) ^\circ\text{C}$ in einem Autoklaven dampfsterilisiert.

5.8 TGE Agar (TGEA), 3 g Rindfleischextrakt, 5 g Trypton, 1 g Dextrose, 15 g Agar in 1 000 ml Reinstwasser, 15 Minuten bei $(121 - 0 + 3) ^\circ\text{C}$ dampfsterilisiert.

5.9 Petrischalen, steril, mit einem Durchmesser von 14 cm und 9 cm, mit Deckel.

1) Die Sporensuspension in Alkohol kann bei SIMICON GmbH, München erworben werden. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Internationalen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produktes durch ISO.

5.10 Keimspendermaterial, fünf Stücke, ca. 25 cm × 25 cm, Polyurethan-(PU-)Folie auf silikonisiertem Trägerpapier, Dicke der Folie 25 µm bis 30 µm, jedes Stück verpackt in einem Sterilisationsbeutel und 15 Minuten dampfsterilisiert bei (121 -0+3) °C²⁾.

ANMERKUNG Anleitung zur Auswahl eines geeigneten Keimspendermaterials: benetzbare Polyurethan-(PU)Gießfolie von 25 µm bis maximal 30 µm Dicke, auf silikonisiertem Trägerpapier. Das Material hat eine Dichte von 1,12 g/cm³, (gemäß ISO 1183-1-A), eine Härte (Shore-A) von 87 ± 1 (gemäß ISO 7619-1), einen Schmelzpunkt von 160 °C – 175 °C (nach Kofler), eine Reißfestigkeit von 40 ± 10 MPa (gemessen an Folien mit einer Dicke von 50 µm, Messung gemäß ISO 527-1, -3) und eine Reißdehnung von 500 ± 125 % (gemessen an Folien mit einer Stärke von 50 µm, Messung gemäß ISO 527-1, -3).

5.11 Abdeckfolie, fünf Stücke, ca. 25 cm × 25 cm oder mit einem Durchmesser von 25 cm, Folie aus Polyethylen hoher Dichte (HDPE), Dicke der Folie 12 ± 2 µm, Dichte 0,95 ± 0,095 g/cm³³⁾.

ANMERKUNG Ein oder zwei zusätzliche Stücke sind notwendig, wenn die Prüfungen auch durchgeführt werden, um die bakterielle Verunreinigung auf der Oberseite der Messprobe zu schätzen und/oder die auf dem Keimspendermaterial verbliebene Keimbelastung zu bestimmen (siehe Abschnitt 7, Anhang D).

5.12 Referenzmaterial, '400.1.0.6 – ISO 22610 Referenzmaterial'⁴⁾.

5.13 Pipetten, 1 ml, 10 ml.

5.14 Mikropipetten, 1 000 µl und 100 µl, mit geeigneten sterilen Spitzen.

5.15 Sterile Verdünnungsröhrchen, 10 ml.

5.16 Spatel, in L- oder Dreiecksform mit einer horizontalen Seite von 3 cm.

5.17 Messproben, fünf Stücke des zu prüfenden Barrierematerials, ca. 25 cm × 25 cm oder mit einem Durchmesser von ca. 25 cm.

6 Prüfgerät und Zubehör

6.1 Prüfgerät, wie in Anhang A aufgeführt⁵⁾.

Das Prüfgerät wird als Schema in Bild A.1 gezeigt. Das Prüfgerät hat einen elektrisch betriebenen, durch einen Zeitgeber gesteuerten Drehteller, der eine Agarplatte von 14 cm Durchmesser aufnehmen kann.

2) Geeignetes Keimspendermaterial kann von Gerlinger Industries GmbH, Schwarzhammermühle, D-08491 Netzschkau., Deutschland, (Artikelnummer: 4220M oder 4220) bezogen werden. Das Material ist auch bei Schütt-Biotec GmbH, Rudolf-Wissell-Str. 13, D-37079 Göttingen als Teil eines Testkits erhältlich. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Internationalen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produktes durch ISO.

3) Geeignete Abdeckfolie kann u. a. von Mo Industri AB, Stråkenvägen 3, SE-56576 Bottnaryd, Schweden (Artikelnummer: 1623-001) bezogen werden. Das Material ist auch bei Schütt-Biotec GmbH, Rudolf-Wissell-Str. 13, D-37079 Göttingen als Teil eines Testkits erhältlich. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Internationalen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produktes durch ISO.

4) Zu beziehen von Rotecno AG, Via Vite 3, CH-6855 Stabio, Schweiz. Das Material ist auch bei Schütt-Biotec GmbH, Rudolf-Wissell-Str. 13, D-37079 Göttingen als Teil eines Testkits erhältlich. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Internationalen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produktes durch ISO.

5) Zu beziehen von Schuett-biotec GmbH, Rudolf-Wissell-Str. 13, D-37079 Göttingen, Deutschland. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Internationalen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produktes durch ISO.

Ein horizontaler Arm mit einem vertikal angebrachten „Finger“ aus Stahl an seinem Ende ist an einem Zapfen angebracht, der Seitwärtsbewegungen des Fingers vom Zentrum zur Peripherie der rotierenden (60 ± 1) U/min Agarplatte und zurück zum Rand ermöglicht. Ein Massestück kann längs des Arms verschoben werden, um die Kraft einzustellen, die über den Finger auf die Kombination der Materialien wirkt. Die Bewegung des Arms wird mittels einer exzentrischen Nocke geführt, die mit $(5,6 \pm 0,1)$ U/min rotiert. Der Stahlfinger mit halbkugelförmigem poliertem Ende mit 11 mm Radius ist abnehmbar und muss zwischen den Prüfungen desinfiziert werden.

ANMERKUNG Die Spitze des Stahl fingers kann als Folge von Abrieb abflachen. Der Stahlfinger sollte regelmäßig auf Abflachung der Spitze geprüft und gegebenenfalls ausgetauscht werden.

Die Kraft, die über den Finger auf die Materialien wirkt, muss $(3 \pm 0,05)$ N betragen, gemessen mittels eines am Arm angebrachten Dynamometers oder mittels einer auf den Drehteller gestellten Waage, bei Bedarf mittels des verschiebbaren Massestücks eingestellt (Anhang A).

Das zu prüfende Material darf zu einem gegebenen Zeitpunkt nur an einem Punkt mit dem Agar in Kontakt stehen. Um sicherzustellen, dass der Finger sich über die gesamte Oberfläche bewegt, ist er regelmäßig mittels des in Anhang C beschriebenen Verfahrens zu überwachen. Es muss ein Qualitätsprotokoll geführt werden.

6.2 Zylindrischer Gegenstand, nichtrostender Stahl oder ein anderes sterilisationstaugliches Material von etwa 9 cm Durchmesser und 4 cm Höhe.

6.3 Konische Stahlringe, insgesamt (800 ± 1) g, zum Fixieren der Materialkombination (Anhang A).

6.4 Dynamometer mit dem eine Kraft von $(3 \pm 0,05)$ N gemessen werden kann.

7 Vorbereitung der Agarplatten

Standard-Petrischalen, 9 cm Durchmesser, werden für die Bestimmung der bakteriellen Belastungssubstanz auf dem Keimspender (9.7), die Überprüfung der Konzentration des Inokulums (8) und die Umgebungskontrolle (9.7) verwendet.

Für eine Messprobe werden folgende Agarplatten vorbereitet:

- 5 Petrischalen, 14 cm Durchmesser, je Prüfung (9.2);
- 1 Petrischale, 14 cm Durchmesser, zur Messung des Abstandes zwischen Agar und Rand (9.2.2);

Die Agarplatten mit einem Durchmesser von 14 cm müssen auf einer horizontalen Oberfläche vorbereitet und nach folgendem Verfahren mit TGE Agar bis $(3 \pm 0,5)$ mm unter den Rand gefüllt werden.

ANMERKUNG 1 Bei Platten mit einem Durchmesser von 9 cm braucht der Abstand zwischen Agar und Rand nicht $(3 \pm 0,5)$ mm zu betragen. Ein Standardvolumen von TGEA kann verwendet werden.

ANMERKUNG 2 Wenn in einem Durchlauf mehr als eine Prüfung durchgeführt wird, brauchen die Überprüfung der Konzentration des Inokulums und die Messung des Abstandes zwischen Agar und Rand nur einmal durchgeführt zu werden und somit kann die Anzahl der Petrischalen entsprechend verringert werden.

ANMERKUNG 3 Die Höhe der Petrischalen kann in Abhängigkeit vom Lieferanten und/oder der Charge unterschiedlich sein. Im Voraus ist das Volumen oder die Masse des Agars, das/die zur Folge hat, dass jede Schale bis zum korrekten Abstand zum Rand gefüllt ist, durch Messung der Höhe und des Durchmessers zu bestimmen.

Die ermittelte Menge TGE Agar wird in einen geeigneten Glaskolben gegossen und 15 Minuten bei $(121 - 0+3)$ °C sterilisiert. Beim Eingießen des Agars in die Petrischalen sind volumetrische oder gravimetrische Verfahren anzuwenden.

Die Kolben mit TGEAgar dürfen für einen maximalen Zeitraum von 3 Monaten bei $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ im Kühlschrank gelagert werden.

Für die Herstellung der Agarplatten wird TGEA wieder verflüssigt, indem die Kolben in einem Wasserbad oder einer Mikrowelle erhitzt werden. Danach wird das flüssige TGEA auf ca. $45 ^\circ\text{C}$ abgekühlt und in die Petrischalen eingefüllt, wobei darauf zu achten ist, dass Luftblasen und Unregelmäßigkeiten an der Oberfläche vermieden werden. Die Oberfläche des erstarrten Agars muss möglichst eben sein. Im Konfliktfall muss frisch hergestelltes Agar verwendet werden.

Jede Platte wird in einer biologischen Sicherheitswerkbank der Klasse II 20 Minuten ohne Deckel bei Raumtemperatur getrocknet. Es darf keine sichtbare Flüssigkeit (Kondensat) auf der Agaroberfläche vorhanden sein. Die Platten werden verschlossen und in der biologischen Sicherheitswerkbank oder in einem sauberen, aseptischen, geschlossenen Kunststoffbeutel gelagert und innerhalb von (24 ± 4) Stunden verwendet.

8 Bakteriell es Inokulum

Das Inokulum wird nach folgendem Verfahren hergestellt.

- Am Tag vor der Prüfung wird 1 ml der im Kühlschrank aufbewahrten Stammsuspension von *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372 mit 10^9 Sporen/ml mit 9 ml Ethanol (96%ig) verdünnt. Diese zehnfach verdünnte Suspension wird bis zum nächsten Tag im Kühlschrank aufbewahrt. Die Konzentration wird überprüft, indem eine Lebendkeimzahlbestimmung unter Anwendung genormter mikrobiologischer Techniken durchgeführt wird, d.h. durch Reihenverdünnung der Suspension in Peptonwasser und Ausstreichen von 100 µl auf TGEA-Platten von 9 cm.
- Die Platten werden 16 h bis 24 h bei $(37 \pm 2) ^\circ\text{C}$ bebrütet. Die Kolonien auf der Platte dürfen nicht zusammenwachsen.
- Am Tag der Prüfung wird die Konzentration der zehnfach verdünnten Suspension von *Bacillus atrophaeus* bestimmt, indem die bebrüteten Platten ausgewertet werden. Auf der Grundlage der erhaltenen Konzentration wird die Suspension mit Peptonwasser verdünnt, um eine Endkonzentration von 5×10^3 bis $1,5 \times 10^4$ Sporen/ml zu erhalten.

ANMERKUNG Es kann hilfreich sein, die Quantifizierung der zehnfach verdünnten Suspension an mehreren nachfolgenden Tagen zu wiederholen

9 Durchführung

9.1 Allgemeines

Vor Beginn des Prüfverfahrens müssen sämtliche Oberflächen im Labor mit einem Sporozid desinfiziert und getrocknet werden.

Der Vorgang sollte unter aseptischen Bedingungen durchgeführt werden. Für das Plattieren wird eine biologische Sicherheitswerkbank empfohlen.

ANMERKUNG Ein oder zwei zusätzliche Petrischalen sind notwendig, wenn die Prüfungen auch durchgeführt werden, um die bakterielle Verunreinigung auf der Oberseite der Messprobe zu schätzen und/oder die auf dem Keimspendermaterial verbliebene Keimbelastung zu bestimmen (siehe Abschnitt 7, Anhang D).

9.2 Vorbereitung der Agarplatten mit einem Durchmesser von 14 cm

9.2.1 Trocknen der Platten

Am Tag der Prüfung wird geprüft, ob sich in der Platte und/oder im Deckel der 14 cm Agarplatten Wasser angesammelt hat. Falls Kondensat vorhanden ist, werden die zu verwendenden 14 cm Agarplatten geöffnet und in einer biologischen Sicherheitswerkbank getrocknet, bis die Kondensattröpfchen verdunstet sind. Vor dem Schließen wird geprüft, dass kein Kondensat vorhanden ist.

9.2.2 Bestimmung des Abstandes zwischen Agar und Rand

Zur Überprüfung des Abstandes zwischen Agar und Rand wird eine Platte geöffnet und der Abstand bestimmt, indem eine Rasierklinge (Dicke $0,1 \text{ mm} \pm 0,01 \text{ mm}$) auf die Agaroberfläche und ein Stahllineal über die Schale gelegt werden (Bild 1). Der Abstand zwischen dem Lineal und der Rasierklinge wird mittels Messschieber gemessen (Bild 1). Der Abstand wird an fünf Punkten auf der Oberfläche gemessen. Der mittlere Abstand muss $(3 \pm 0,5) \text{ mm}$ betragen. Dieser Abstand muss für jede gleichzeitig gegossene Plattencharge bestimmt werden.

ANMERKUNG Die scharfen Kanten einer Rasierklinge sollten vor Gebrauch abgeschliffen werden.

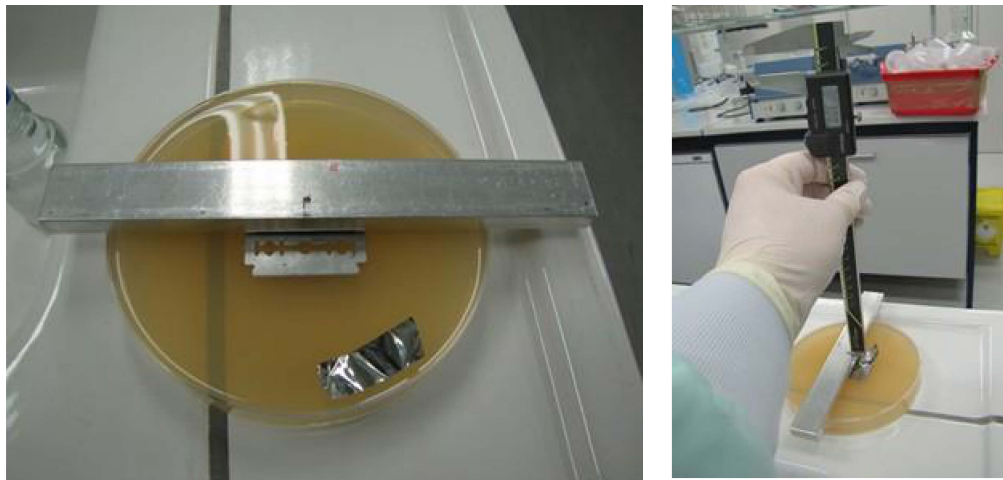


Bild 1 — Messung des Abstandes zwischen Agar und Rand

9.3 Beimpfung des Keimspenders

Die verdünnte Suspension von *Bacillus atrophaeus* (8), eingestellt mit Peptonwasser auf 5×10^3 bis $1,5 \times 10^4$ Sporen/ml, wird zur Beimpfung des Keimspenders verwendet.

Bei der Handhabung und Vorbereitung des Keimspendermaterials sind sterile Handschuhe zu tragen. Die Handschuhe müssen nach jedem Schritt der nachfolgenden Verfahrensweisen gewechselt werden, um eine Verschleppung von Bakteriensporen zu vermeiden.

- 1) Der sterilisierte Beutel mit dem Keimspendermaterial wird unter aseptischen Bedingungen geöffnet. Die Folie des Keimspenders wird auf dem Papierträger belassen und auf dem desinfizierten (Einlege)Boden mit der Papierseite nach unten und der mit Sporen zu beschichtenden PU-Seite nach oben angeordnet (Bild 2). Mit einem Permanentmarker wird der zu beimpfende Bereich auf dem Keimträger, der der Fläche einer Agarplatte entspricht, markiert.

Mit einer 1,0 ml Mikropipette wird 1 ml der Suspension von *Bacillus atrophaeus* gleichmäßig über diesen Bereich verteilt. Das Inokulum wird mit einem Spatel (5.16) ausgestrichen. Das Ausstreichen führt nicht zu einer unverzüglichen Bildung eines Films, sondern zur Bildung kleiner Tropfen auf der gesamten Oberfläche (Bild 2).

Unmittelbar nach dem Beimpfen des Keimspenders wird das verbliebene Inokulum auf Eis gelegt.

- 2) Der Keimspender wird etwa 30 Minuten in einem Brutschrank bei 56 °C getrocknet, bis er vollständig trocken ist, gleichzeitig wird die Suspension von *Bacillus atrophaeus* auf dem Keimspender alle 2 Minuten ausgestrichen, um eine gleichmäßige Verteilung sicherzustellen (Bild 2).

ANMERKUNG Durch das Öffnen des Brutschrankes alle 2 Minuten sinkt die Temperatur von 56 °C während des Trocknens geringfügig. Es wird das Erreichen einer gleichförmigen Verteilung der Sporen beabsichtigt, ohne dabei 56 °C im Brutschrank zu überschreiten.

ANMERKUNG Um den Verlust von Sporen zwischen den Schritten des Ausstreichens (alle 2 Minuten) zu vermeiden, kann der Spatel, teilweise in Berührung mit den Sporen, nach obenweisend auf einem Spatenthalter aufbewahrt werden. Es ist darauf zu achten, dass der Teil des Spatels, der mit den Sporen in Berührung kommt, nicht mit einer Oberfläche in Berührung kommt, auf der Sporen verloren gehen könnten (z. B. dem Boden eines Becherglases).

Der Keimspender muss unmittelbar nach dem Trocknen verwendet werden.

9.4 Prüfmateriail

Die Größe der Messprobe muss 25 cm × 25 cm betragen oder einen Durchmesser von 25 cm aufweisen.

Jede Messprobe muss einzeln verpackt und nach den Empfehlungen des Lieferanten sterilisiert werden, z. B. mit Dampf oder durch Ethylenoxid.

Falls nicht sterilisiertes Material im Prüflabor zugeschnitten, vorbereitet und geprüft wird, muss angegeben werden, ob die Proben vor Beginn der Prüfung sterilisiert werden, und falls ja, welches Sterilisierungsverfahren angewendet wird.

Die mit dem beimpften Keimspender in Kontakt zu bringende Seite muss vom Hersteller des Materials angegeben werden.

Die Prüfung wird an 5 Messproben durchgeführt, wobei jede Messprobe fünfmal 15 Minuten mit einer neuen 14-cm-Agarplatte in Kontakt gebracht wird.

ANMERKUNG 1 Gewebe werden häufig 4 min bei (134 –0+3) °C sterilisiert. Vliesmaterialien werden im Allgemeinen mit Ethylenoxid sterilisiert.

ANMERKUNG 2 Ethylenoxid (ETO) ist in vielen Ländern verboten. Die Vorbereitung der Messproben, das Schneiden und das Sterilisieren sollte vorzugsweise durch den Hersteller unter Anwendung von dessen üblicher Verfahrensweise erfolgen (siehe ISO 11135).

9.5 Vorbereitung der Materialkombination für die Prüfung

Eine sterilisierte Pinzette (oder ein gleichwertiges Instrument) wird eingesetzt, um die PU-Folie des Keimspenders an einem Rand oder zwei Rändern teilweise von der Lage Papier zu trennen. Der Keimspender, dessen PU-Folie sich noch auf dem Papierträger befindet, wird mit der beimpften Seite nach unten auf der textilen Messprobe angeordnet. Die PU-Folie wird mit der Hand auf dem textilen Flächengebilde fixiert, indem die Folie an einem Rand oder zwei Rändern gehalten wird. Der Papierträger wird vorsichtig entfernt und entsorgt. Die Abdeckfolie (HDPE-Folie) wird auf der PU-Folie angeordnet, um die Materialkombination für die Prüfung fertigzustellen (Bild 2).

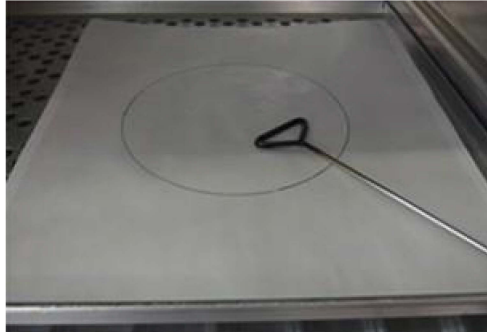


Bild 2a – Die Sporensuspension wird in Tröpfchen über den markierten zu beimpfenden Bereich der Keimspenderfolie verteilt. Das wiederholte Ausstreichen mit einem Spatel während des Trocknens bei 56 °C führt zu einer gleichmäßigen Verteilung der Sporen.

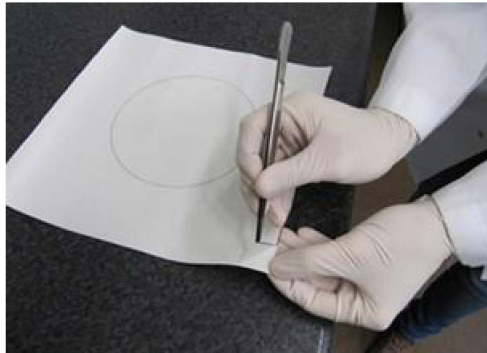


Bild 2b – Die PU-Folie wird mit einer sterilisierten Pinzette an einem Rand oder zwei Rändern teilweise vom Papierträger getrennt.



Bild 2c – Der getrocknete Keimspender wird mit der sporenbeschichteten PU-Seite auf das zu prüfende Gewebe gelegt. Der Papierträger auf der Rückseite des Keimspenders wird entfernt.

Bild 2 — Beimpfung des Keimspenders und Vorbereitung der Materialkombination für die Prüfung

9.6 Prüfverfahren

Die über den Finger auf die Materialien wirkende Kraft von $(3 \pm 0,05)$ N muss mindestens einmal am Tag vor Beginn der Vorbereitungen für die Prüfung überprüft und bei Bedarf eingestellt werden (Anhang A, Bild A.3).

Die erste Agarplatte wird mit dem Deckel auf den Drehteller gestellt.

Der innere Ring der beiden konischen Metallringe (Bild 3a, Bild A.2) wird auf den desinfizierten Arbeitstisch gelegt und der sterile zylindrische Gegenstand wird in die Mitte gelegt. Die Materialkombination Messprobe-Keimspender-HDPE (9.5, Bild 3b, Bild 3c) wird mit der Messprobe nach unten und der HDPE-Seite nach oben auf den zylindrischen Gegenstand gelegt. Die markierte Seite wird sorgfältig mittig im Ring ausgerichtet. Der äußere Ring wird auf die zu prüfende Materialkombination gelegt, an den inneren Ring angeglichen und dann fest nach unten gedrückt, so dass die drei Materialien eingespannt und sicher zwischen den beiden Ringen fixiert werden (Bild 3d). Der Deckel wird von der Agarplatte genommen und mit leicht schlaff liegenden Materialien werden die Ringe über die Agarplatte auf dem Drehteller gelegt. Die Stahlringe müssen frei über den Rand der Platte hängen (Bild 3e).

ANMERKUNG Aufgrund des etwas höheren zylindrischen Gegenstandes, der beim Vorbereiten der Messprobe in der Mitte des inneren Ringes angeordnet ist, liegt die Materialkombination leicht schlaff, wenn die Ringe von dem zylindrischen Gegenstand abgehoben werden.



Bild 3a – Konische Metallringe mit einem sterilen zylindrischen Gegenstand

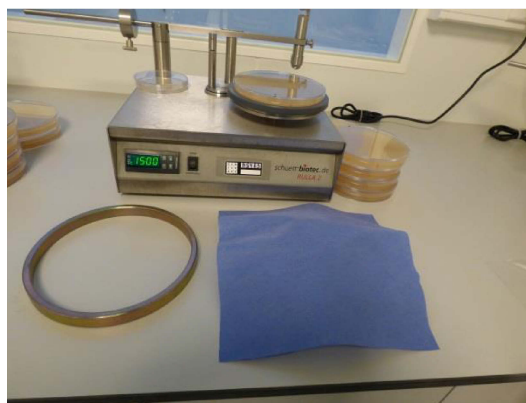


Bild 3b – Messprobe auf den konischen Metallringen und dem sterilen zylindrischen Gegenstand



Bild 3c – Materialkombination
Messprobe-Messprobe- Keimspender-HDPE-Folie
auf den konischen Metallringen und dem sterilen
zylindrischen Gegenstand



Bild 3d – Materialkombination Keimspender-HDPE
zwischen den beiden Ringen fixiert



Bild 3e – Die zwischen den beiden Ringen fixierte Messprobe-Keimspender-HDPE wird über die Petrischale auf den Drehteller gestellt. Der Stahlfinger wird auf der Materialkombination genau neben dem Innenrand der Petrischale angeordnet

Bild 3 — Vorbereitung der Messprobe und der Materialkombination

Der Finger wird auf der zu prüfenden Materialkombination genau neben dem Innenrand angeordnet. Die Messprobe muss die Agaroberfläche berühren. Die Prüfung wird wie beschrieben 15 Minuten bei einem Fingerdruck von $(3 \pm 0,05)$ N durchgeführt.

Die Umdrehungsgeschwindigkeit des Drehtellers muss 60 ± 1 Umdrehungen pro Minute betragen. Nach 15 Minuten werden die Ringe mit der zu prüfenden Materialkombination unverzüglich entfernt und auf dem desinfizierten Arbeitstisch angeordnet. Die erste Agarplatte wird vom Drehteller genommen und durch Auflegen des Deckels verschlossen. Umgehend wird die zweite Agarplatte auf den Drehteller gestellt, die zu prüfende Materialkombination wird auf der Agarplatte angeordnet, der Finger wird auf der Materialkombination genau neben dem Innenrand angeordnet und die Prüfung wird für 15 Minuten fortgesetzt.

Die Verfahrensweise wird an derselben zu prüfenden Materialkombination unter Verwendung von insgesamt 5 Agarplatten wiederholt.

Die Agarplatten werden ca. 10 Minuten auf einem sauberen Arbeitstisch getrocknet (vorzugsweise unter laminarer Strömung) und anschließend mit geschlossenen Deckeln 16 h bis 24 h bei (37 ± 2) °C bebrütet, bis das Wachstum ausreichend ist, um eine genaue Auszählung zu ermöglichen, ohne dass die Kolonien auf der Platte zusammenwachsen.

Die Verfahrensweise wird an den anderen vier Messproben wiederholt, wobei für jede Messprobe ein frisch hergestellter Keimspender verwendet wird.

Die Prüfeinrichtung, einschließlich des Fingers, der Ringe und Arbeitsflächen, muss zwischen den Prüfungen mit einem Desinfektionsmittel gereinigt werden.

ANMERKUNG Wenn z. B. zu Forschungszwecken und/oder zur Materialentwicklung die verbliebene bakterielle Verunreinigung auf der Oberseite der Messprobe und auf dem Keimspender geschätzt werden soll, sollte das Verfahren in Anhang D durchgeführt werden

9.7 Kontrollplatten

9.7.1 Umgebungskontrollen

Eine geöffnete Agarplatte, Petrischale von 9 cm, mit TGEA wird während des Trocknens des Keimspenders in dem Brutschrank bei 56 °C angeordnet.