

DIN ISO 16000-36

Diese Norm ist Bestandteil des VDI/DIN-Handbuches Reinhaltung der Luft, Band 5.

ICS 13.040.20

Einsprüche bis 2017-09-28

Entwurf

**Innenraumluftverunreinigungen –
Teil 36: Prüfkammer-Verfahren zur Bestimmung der Minderungsrate
luftgetragener, kultivierbarer Bakterien durch Luftreiniger
(ISO/DIS 16000-36:2017);
Text Deutsch und Englisch**

Indoor air –

Part 36: Standard method for assessing the reduction rate of culturable airborne bacteria by air purifiers using a test chamber (ISO/DIS 16000-36:2017);

Text in German and English

Air intérieur –

Partie 36: Méthode d'essai pour le taux de réduction des bactéries en suspension par des purificateurs d'air en utilisant une chambre d'essai (ISO/DIS 16000-36:2017);

Texte en allemand et anglais

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2017-07-28 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 krdl@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 die VDI/DIN-Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) - Normenausschuss, 40002 Düsseldorf, Postfach 10 11 39, VDI-Platz 1, 40468 Düsseldorf.

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 51 Seiten

VDI/DIN-Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) - Normenausschuss

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort.....	4
Vorwort	6
Einleitung	9
1 Anwendungsbereich.....	10
2 Normative Verweisungen	10
3 Begriffe	10
4 Kurzbeschreibung	11
5 Geräte und Materialien.....	11
5.1 Prüfvorrichtung	11
5.1.1 Emissionsprüfkammer	11
5.1.2 Vernebler.....	13
5.1.3 Impaktor für die Probenahme von Bakterien	13
5.1.4 Halterung.....	13
5.1.5 Autoklav.....	13
5.1.6 Inkubator.....	13
5.1.7 Tiefkühlschrank.....	13
5.1.8 Mikrobiologische Sicherheitswerkbank der Klasse II.....	13
5.1.9 Waage.....	13
5.1.10 Impföse.....	13
5.1.11 Petrischalen.....	13
5.1.12 Desinfektionsmittel	14
5.1.13 pH-Meter	14
5.1.14 Zeitmesser	14
5.2 Werkstoffe.....	14
5.2.1 Prüfbakterien.....	14
5.2.2 Nährmedien und Reagenzien	14
6 Vorbereitung der Stamm- und Arbeitskulturen der Prüfbakterien	15
6.1 Vorbereitung und Wartung.....	15
6.2 Vorbereitung und Wartung der Arbeitskulturen der Prüfbakterien auf Agarplättchen	15
6.3 Vorbereitung von Kulturlösungen	15
7 Verfahren.....	15
7.1 Allgemeines	15
7.2 Schritt 1: Messung der Prüfbakterienlösung c _i ohne laufenden Luftreiniger.....	16
7.2.1 Vorbereitung des Luftreinigers.....	16
7.2.2 Sterilisierung des Luftreinigers	16
7.2.3 Erhaltung der Temperatur und relativen Luftfeuchtigkeit in der Emissionsprüfkammer.....	16
7.2.4 Sterilisierung der Emissionsprüfkammer	16
7.2.5 Einbringen des Impaktors.....	16
7.2.6 Messung der bakteriellen Hintergrundkonzentration in der Emissionsprüfkammer	16
7.2.7 Zerstäuben der Prüfbakterienlösung	17
7.2.8 Messung der Anfangskonzentration der Prüfbakterien innerhalb der Prüfkammer nach dem Zerstäuben	17
7.2.9 Messung der Bakterienkonzentration mit den Impaktoren nach einer bestimmten Zeit	17

7.2.10	Maßnahmen nach der Prüfung.....	17
7.3	Schritt 2: Messung der Konzentration kultivierbarer Bakterien c_t nach dem Betrieb des Luftreinigers.....	17
8	Berechnung und Angabe der Ergebnisse.....	18
8.1	Berechnung der Konzentration luftgetragener, kultivierbarer Bakterien.....	18
8.2	Bedingungen für eine gültige Prüfung.....	18
8.3	Minderungsrate der Bakterien.....	19
9	Prüfbericht.....	19
10	Qualitätssicherung.....	19
	Anhang A (informativ) Emissionsprüfkammer.....	20
	Anhang B (informativ) Natürliche Verfallrate nach der Betriebsart des Luftreinigers.....	23
	Anhang C (informativ) Homogenität luftgetragener, kultivierbarer Bakterien in der Emissionsprüfkammer.....	25
	Literaturhinweise.....	26

Nationales Vorwort

Internationale Technische Regelsetzung zum Innenraumluftbereich

Dieses Dokument (ISO/DIS 16000-36) wurde von der Arbeitsgruppe ISO/TC 146/SC 6/WG 10, „Microbial contaminants“, des Technischen Komitees ISO/TC 146, „Air quality“, Unterkomitee SC 6, „Indoor air“, erarbeitet. Das Sekretariat der WG 10 liegt bei DIN (Deutschland). An der Erstellung dieser Norm war der Fachbereich IV „Umweltmesstechnik“ der VDI/DIN-Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) – Normenausschuss maßgeblich beteiligt.

Nationale Technische Regelsetzung zum Innenraumluftbereich

DIN ISO bzw. DIN EN ISO 16000 mit dem allgemeinen Titel Innenraumluftverunreinigungen besteht aus folgenden Teilen:

- DIN EN ISO 16000-1, *Allgemeine Aspekte der Probenahmestrategie*
- DIN EN ISO 16000-2, *Probenahmestrategie für Formaldehyd*
- DIN ISO 16000-3, *Messen von Formaldehyd und anderen Carbonylverbindungen in der Innenraumluft und in Prüfkammern — Probenahme mit einer Pumpe*
- DIN ISO 16000-4, *Bestimmung von Formaldehyd — Probenahme mit Passivsammlern*
- DIN EN ISO 16000-5, *Probenahmestrategie für flüchtige organische Verbindungen (VOC)*
- DIN ISO 16000-6, *Bestimmung von VOC in der Innenraumluft und in Prüfkammern, Probenahme auf Tenax TA®, thermische Desorption und Gaschromatographie mit MS oder MS-FID*
- DIN EN ISO 16000-7, *Probenahmestrategie zur Bestimmung luftgetragener Asbestfaserkonzentrationen*
- DIN ISO 16000-8, *Bestimmung des lokalen Alters der Luft in Gebäuden zur Charakterisierung der Lüftungsbedingungen*
- DIN EN ISO 16000-9, *Bestimmung der Emission von flüchtigen organischen Verbindungen aus Bauprodukten und Einrichtungsgegenständen — Emissionsprüfkammer-Verfahren*
- DIN EN ISO 16000-10, *Bestimmung der Emission von flüchtigen organischen Verbindungen aus Bauprodukten und Einrichtungsgegenständen — Emissionsprüfzellen-Verfahren*
- DIN EN ISO 16000-11, *Bestimmung der Emission von flüchtigen organischen Verbindungen aus Bauprodukten und Einrichtungsgegenständen — Probenahme, Lagerung der Proben und Vorbereitung der Prüfstücke*
- DIN EN ISO 16000-12, *Probenahmestrategie für polychlorierte Biphenyle (PCB), polychlorierte Dibenzo-p-dioxine (PCDD), polychlorierte Dibenzofurane (PCDF) und polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH)*
- DIN ISO 16000-13, *Bestimmung der Summe gasförmiger und partikelgebundener dioxin-ähnlicher polychlorierter Biphenyle (PCB) und polychlorierter Dibenzo-p-dioxine/Dibenzofurane (PCDD/PCDF) — Probenahme auf Filtern mit nachgeschalteten Sorbenzien*

- DIN ISO 16000-14, *Bestimmung der Summe gasförmiger und partikelgebundener polychlorierter dioxin-ähnlicher Biphenyle (PCB) und polychlorierter Dibenzo-p-dioxine/Dibenzofurane (PCDD/PCDF) — Extraktion, Reinigung und Analyse mit hochauflösender Gaschromatographie und Massenspektrometrie*
- DIN EN ISO 16000-15, *Probenahmestrategie für Stickstoffdioxid (NO₂)*
- DIN ISO 16000-16, *Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen — Probenahme durch Filtration*
- DIN ISO 16000-17, *Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen — Kultivierungsverfahren*
- DIN ISO 16000-18, *Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen — Probenahme durch Impaktion*
- DIN ISO 16000-19, *Probenahmestrategie für Schimmelpilze*
- DIN ISO 16000-20, *Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen — Bestimmung der Gesamtsporenanzahl*
- DIN ISO 16000-21, *Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen — Probenahme von Materialien*
- DIN ISO 16000-24, *Leistungsprüfung zur Beurteilung der Konzentrationsminderung von flüchtigen organischen (ohne Formaldehyd) durch sorbierende Baumaterialien*
- DIN ISO 16000-25, *Bestimmung der Emission von schwerflüchtigen organischen Verbindungen aus Bauprodukten — Mikro-Prüfkammerverfahren*
- DIN EN ISO 16000-26, *Probenahmestrategie für Kohlendioxid (CO₂)*
- DIN ISO 16000-27, *Standardverfahren für die quantitative Analyse von Asbestfasern in abgelagertem Staub*
- DIN ISO 16000-28, *Bestimmung der Geruchsstoffemissionen aus Bauprodukten mit einer Emissionsprüfkammer*
- DIN ISO 16000-29, *Prüfverfahren für VOC Detektoren*
- DIN ISO 16000-30, *Sensorische Prüfung der Innenraumluft*
- DIN ISO 16000-31, *Bestimmung von Flammenschutzmitteln und Weichmachern auf der Basis phosphororganischer Verbindungen — Phosphorsäureester*
- DIN ISO 16000-32, *Untersuchung von Gebäuden auf Schadstoffe*

Weiterhin wird auf

DIN EN ISO 16017-1, *Innenraumluft, Außenluft und Luft am Arbeitsplatz — Probenahme und Analyse flüchtiger organischer Verbindungen durch Sorptionsröhrchen/thermische Desorption/Kapillar-Gaschromatographie — Teil 1: Probenahme mit einer Pumpe*

und

DIN EN ISO 16017-2, *Innenraumluft, Außenluft und Luft am Arbeitsplatz — Probenahme und Analyse flüchtiger organischer Verbindungen durch Sorptionsröhrchen/thermische Desorption/Kapillar-Gaschromatographie — Teil 2: Probenahme mit Passivsammlern*

hingewiesen, in denen VOC-Messungen beschrieben werden.

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

Vorwort

Die ISO (Internationale Organisation für Normung) ist die weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedskörperschaften). Die Erarbeitung Internationaler Normen obliegt den Technischen Komitees der ISO. Jede Mitgliedskörperschaft, die sich für ein Thema interessiert, für das ein Technisches Komitee eingesetzt wurde, ist berechtigt, in diesem Komitee mitzuarbeiten. Internationale (staatliche und nichtstaatliche) Organisationen, die mit der ISO in Verbindung stehen, sind an den Arbeiten ebenfalls beteiligt. Die ISO arbeitet bei allen Angelegenheiten der elektrotechnischen Normung eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) 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. Insbesondere die für die verschiedenen ISO-Dokumententypen notwendigen Annahmekriterien sollten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Besonders zu beachten ist, dass einige der Elemente dieses Dokuments Gegenstand von Patentrechten sein können. ISO darf nicht für die Kennzeichnung einiger oder all dieser Patentrechte verantwortlich gemacht werden. 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).

Alle in diesem Dokument verwendeten Handelsnamen werden als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellen keine Empfehlung dar.

Eine Erläuterung der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertungen beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der WTO-Grundsätze 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 146/SC 6 „Indoor Air“.

ISO 16000 besteht aus den folgenden Teilen:

- *Part 1: General aspects of sampling strategy*
- *Part 2: Sampling strategy for formaldehyde*
- *Part 3: Determination of formaldehyde and other carbonyl — Active sampling method*
- *Part 4: Determination of formaldehyde — Diffusive sampling method*
- *Part 5: Sampling strategy for volatile organic compounds (VOCs)*
- *Part 6: Determination of volatile organic compounds in indoor and test chamber air by active sampling on Tenax TA® sorbent, thermal desorption and gas chromatography using MS or MS-FID*
- *Part 7: Sampling strategy for determination of airborne asbestos fibre concentrations*
- *Part 8: Determination of local mean ages of air in buildings for characterizing ventilation conditions*

- *Part 9: Determination of the emission of volatile organic compounds from building products and furnishing — Emission test chamber method*
- *Part 10: Determination of the emission of volatile organic compounds from building products and furnishing — Emission test cell method*
- *Part 11: Determination of the emission of volatile organic compounds from building products and furnishing — Sampling, storage of samples and preparation of test specimens*
- *Part 12: Sampling strategy for polychlorinated biphenyls (PCBs), polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)*
- *Part 13: Determination of total (gas and particle-phase) polychlorinated dioxin-like biphenyls (PCBs) and polychlorinated dibenzo-p-dioxins/dibenzofurans (PCDDs/PCDFs) — Collection on sorbent-backed filters*
- *Part 14: Determination of total (gas and particle-phase) polychlorinated dioxin-like biphenyls (PCBs) and polychlorinated dibenzo-p-dioxins/dibenzofurans (PCDDs/PCDFs) — Extraction, clean-up and analysis by high-resolution gas chromatography and mass spectrometry*
- *Part 15: Sampling strategy for nitrogen dioxide (NO₂)*
- *Part 16: Detection and enumeration of moulds — Sampling by filtration*
- *Part 17: Detection and enumeration of moulds — Culture-based method*
- *Part 18: Detection and enumeration of moulds — Sampling by impaction*
- *Part 19: Sampling strategy for moulds*
- *Part 21: Detection and enumeration of moulds — Sampling from materials*
- *Part 23: Performance test for evaluating the reduction of formaldehyde concentrations by sorptive building materials*
- *Part 24: Performance test for evaluating the reduction of volatile organic compound (except formaldehyde) concentrations by sorptive building materials*
- *Part 25: Determination of the emission of semi-volatile organic compounds by building products — Micro-chamber method*
- *Part 26: Sampling strategy for carbon dioxide (CO₂)*
- *Part 28: Determination of odour emissions from building products using test chambers*
- *Part 29: Test methods for VOC detectors*
- *Part 30: Sensory testing of indoor air*
- *Part 31: Measurement of flame retardants and plasticizers based on organophosphorus compounds — Phosphoric acid esters*
- *Part 32: Investigation of constructions on pollutants and other injurious factors — Inspection*
- *Part 33: Determination of phthalates with gaschromatography/massspectrometry (GC/MS)*

Die folgenden Teile befinden sich in der Vorbereitung:

- *Part 34: Strategies for the measurement of airborne particles*
- *Part 37: Strategies for the measurement of PM 2.5*
- *Part 38: Determination of amines in indoor and test chamber air — Active sampling on samplers containing phosphoric acid impregnated filters*
- *Part 39: Determination of amines in indoor air and test chamber air — Analysis of amines by means of high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled with tandem mass spectrometry (MS MS)*
- *Part 40: Indoor Air Quality Management System*

Einleitung

Das mikrobielle Umfeld in Innenräumen ist wichtig für die Gesundheit der Bewohner, vor allem, da immer mehr Zeit in Gebäuden verbracht wird.

Zur Reduzierung der Konzentration von Mikroorganismen in der Innenraumluft werden Luftreiniger eingesetzt.

Der Wirkungsgrad solcher Luftreiniger zur Reduzierung luftgetragener Mikroorganismen kann in Emissionsprüfkammern bei konstanter Temperatur und relativer Luftfeuchte untersucht werden.

Dieser Teil der ISO 16000 beschreibt ein Standardverfahren zur Bewertung der Minderungsrate kultivierbarer, luftgetragener Bakterien durch Luftreiniger in einer Emissionsprüfkammer.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument beschreibt ein Standardverfahren zur Bewertung der Leistungsfähigkeit von Luftreinigern zur Reduzierung der Konzentration von kultivierbaren, luftgetragenen Bakterien in Innenräumen.

Die Prüfung ist anwendbar auf Luftreiniger, die gewöhnlich in Einzelräumen verwendet werden.

WARNUNG—Diese Prüfung muss von Fachleuten durchgeführt werden, die im Umgang mit Techniken zur Bestimmung von Mikroorganismen geschult und dafür qualifiziert sind. Das Prüfbakterium *Staphylococcus aureus* ist für Menschen und Tiere fakultativ pathogen. Bei der Arbeit mit infektiösem Biomaterial sollten nationale und internationale Sicherheitsverfahren eingehalten werden, um die Verunreinigung der Prüfeinrichtung, des Arbeitsplatzes oder der Umwelt zu verhindern. Die Untersuchung und Vorbereitung der Kulturen sollte in einer mikrobiologischen Sicherheitswerkbank der Klasse II ausgeführt werden.

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 22196, *Measurement of antibacterial activity on plastics and other non-porous surfaces*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

**3.1
Luftreiniger**
elektrisches Gerät, dass aus einem Ventilator und einem Satz Bauteilen besteht, und das über die Fähigkeit verfügt, luftverunreinigende Stoffe zu erfassen und/oder (teilweise oder ganz) zu zerstören

**3.2
koloniebildende Einheit (KBE)**
Einheit, in der die Anzahl der kultivierbaren Bakterien ausgedrückt wird

[DIN EN 13098:2000]

**3.3
Bakterien**
prokaryotische, einzellige, mikroskopische Organismen mit einer Zellwand aus Peptidoglycane

**3.4
Inkubation**
Verfahren zur Erhöhung der Anzahl von Mikroorganismen in einer künstlich regulierten Umgebung

**3.5
Hintergrundkonzentration**
Konzentration der kultivierbaren, luftgetragenen Bakterien innerhalb der Emissionsprüfkammer vor der Prüfung

3.6

natürliche Verfallrate

Minderungsrate (in %) kultivierbarer Bakterien, die durch den Vergleich der Anzahl an Bakterien direkt nach dem Zerstäuben einer Bakterienlösung in der Prüfkammer und der Anzahl, die nach einer bestimmten Zeit (Prüfzeit) ohne Luftreinigung noch vorhanden ist, bestimmt wird

3.7

bakterielle Minderungsrate

Minderungsrate (in %) kultivierbare Bakterien, die durch den Vergleich der Anzahl an Bakterien direkt nach dem Zerstäuben einer Bakterienlösung in der Prüfkammer und der Anzahl, die nach einer bestimmten Laufzeit (Prüfzeit) des Luftreinigers gemessen wird, bestimmt wird

3.8

Impaktion

Probenahme luftgetragener, kultivierbaren Bakterien durch Trägheitsabscheidung auf einer festen Agar-Oberfläche

3.9

Bioaerosole

bakterielle Lösung, die in einer Emissionsprüfkammer zerstäubt wird

4 Kurzbeschreibung

Die Emissionsprüfkammer ist dafür vorgesehen, den Wirkungsgrad von Luftreinigern mithilfe von zerstäubten Bakterienlösungen im Innern einer Emissionsprüfkammer bei konstanter Temperatur und relativer Luftfeuchte zu überprüfen. Der Wirkungsgrad wird durch die Minderungsrate kultivierbarer, luftgetragener Bakterien über eine festgelegte Dauer errechnet und berücksichtigt die Homogenität und die natürliche Verfallrate der Bakterien.

5 Geräte und Materialien

5.1 Prüfvorrichtung

5.1.1 Emissionsprüfkammer

Die Emissionsprüfkammer muss aus einem geeigneten Material bestehen, d.h. einem Material, dass möglichst wenig Schadstoffe abgibt und korrosionsbeständig ist, wie Edelstahl, und muss über eine ausreichende Luftdichtung verfügen.

Das Volumen der Emissionsprüfkammer sollte die spätere Anwendung des Luftreinigers widerspiegeln. Das Mindestvolumen darf 8 m^3 nicht unterschreiten und liegt üblicherweise zwischen 15 m^3 und 30 m^3 .

Es müssen eine HEPA-Filtereinheit zur Luftreinigung durch das Entfernen von Partikeln, eine Klimaanlage zur Steuerung der Temperatur und Luftfeuchte und ein System zur Sterilisierung der Luft innerhalb der großen Prüfkammer montiert werden. Besonders bei größeren Emissionsprüfkammern ist ein Ventilator für eine gleichmäßige Verteilung der Bakterien notwendig.

Im Allgemeinen muss die Prüfumgebung sauber gehalten werden und frei von mikrobiellen Verunreinigungen sein. Sie muss über ein geeignetes Umgebungs-Steuersystem verfügen, um Temperatur und Luftfeuchte konstant zu halten. Um dies zu erreichen muss die Emissionsprüfkammer folgendes beinhalten:

- ein System, dass in der Lage ist, Verunreinigungen zu entfernen und innerhalb der Prüfkammer aseptische Bedingungen aufrechtzuerhalten, wie eine UV-Sterilisierungslampe;

- eine Einrichtung zum Überführen von Gegenständen in die Prüfkammer hinein und aus ihr heraus ohne Kreuzkontamination. Dies kann ein Speziaisystem beinhalten, wie z. B. einen Handschuhkasten;
- eine Einrichtung zur Steuerung der Stromversorgung innerhalb der Prüfkammer von außen;
- eine Einrichtung zum Erzeugen von Aerosolen der Prüfbakterien innerhalb der Prüfkammer und zur Sicherstellung ihrer Homogenität. Dies kann durch die Verwendung eines Sprayeinlasses an der Spraydüse in der Prüfkammer geschehen, durch den Bakterien mit einem Lüfter zerstäubt werden, um eine gleichmäßige Verteilung der Bakterien in der Prüfkammer zu gewährleisten;
- eine Klimaanlage innerhalb der Prüfkammer, die die Temperatur und relative Luftfeuchte konstant und genau überprüft. Die Klimaanlage muss während der Prüfung abgeschaltet sein;
- eine Einrichtung zur Spülung der Prüfkammer nach der Prüfung mit Unterdruck-Luftstrom;
- eine Anzeige zur Darstellung wichtiger Faktoren aus der Umgebung in Bezug auf die Prüfung, wie Volumenstrom, Temperatur und relative Luftfeuchte;
- ein Filter zum Vermeiden von Verunreinigungen während der Belüftung von außen.

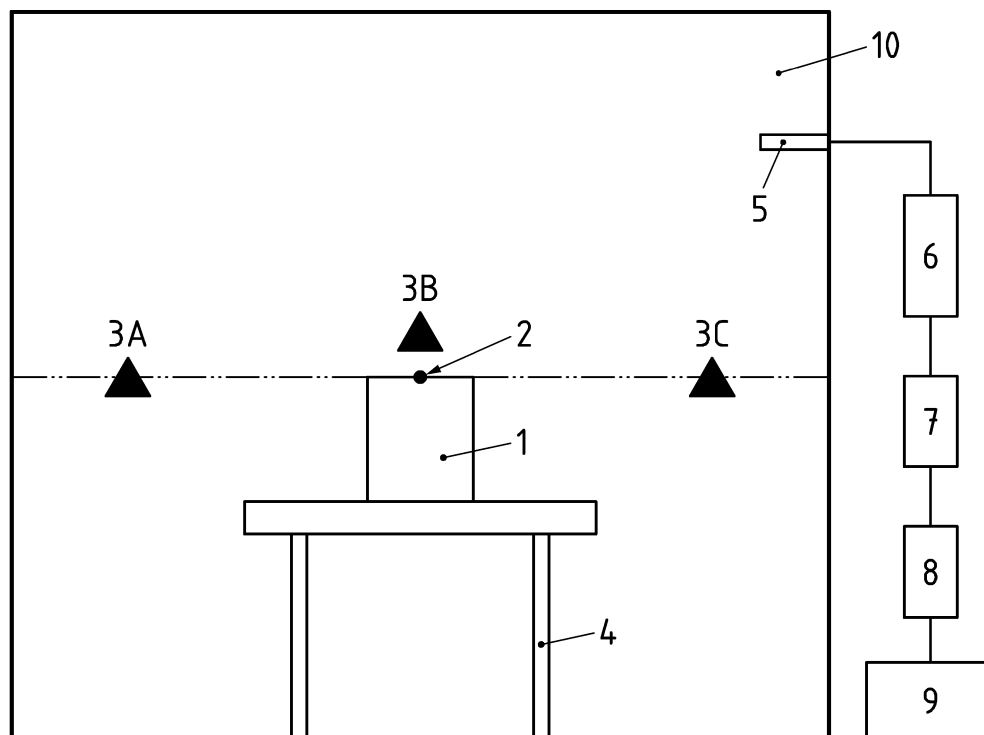


Bild 1 — Schematische Darstellung des Prüfsystems mit der Emissionsprüfkammer

Legende

- | | |
|---------------------------------------|---|
| 1. Luftreiniger | 6. Luftentfeuchter |
| 2. Luftansaugung des Luftreinigers | 7. Vernebler |
| 3. 3A, 3B, 3C; Position des Impaktors | 8. Filter (für die Versorgung mit gereinigter Luft) |
| 4. Halterung für den Luftreiniger | 9. Druckpumpe |
| 5. Einlass des Sprays | 10. Prüfkammer |

In Übereinstimmung mit ISO 16000-9 (2006), Abschnitt 8.1:

Prüftemperatur und zulässige Abweichung (23 ± 2) °C

Prüfluftfeuchte und zulässige Abweichung (50 ± 5) %.

Darüberhinaus darf die Prüfung auch unter abweichenden Bedingungen durchgeführt werden. Diese Bedingungen müssen dokumentiert werden.

Nach jeder Prüfung ist der Innenraum der Emissionsprüfkammer mithilfe einer UV-Lampe und Ethanol (70 %) zu reinigen, oder es ist eine andere Sterilisierungsmethode anzuwenden, um eine Verunreinigung nach der Prüfung zu vermeiden.

5.1.2 Vernebler

Der Vernebler muss einen Nährboden in Partikel ($0,05 \mu\text{m}$ bis $5 \mu\text{m}$) zerstäuben, um weitestgehend individuelle Bakterienpartikel zu bilden. Üblicherweise sind dazu eine Pumpe, die einen zur Zerstäubung festgelegten Luftdruck erzeugt, eine Einheit für gereinigte Versorgungsluft und ein Luftentfeuchter zur Entfernung überschüssigen Wassers aus dem erzeugten Nährboden erforderlich.

5.1.3 Impaktor für die Probenahme von Bakterien

Das in dieser Norm beschriebene Impaktionsverfahren gilt nur für relativ niedrige Konzentrationen kultivierbarer Bakterien und Kleinprüfkammern.

Die Anfangskonzentration muss unter der oberen Nachweisgrenze des Probenahmeverfahrens liegen. Für eine Impaktion mit einem 300-Loch-Probennehmer und einem Probevolumen von 100 l oder 50 l beträgt die obere Nachweisgrenze jeweils ca. $1,6 \times 10^4$ KBE/ m^3 oder ca. $3,2 \times 10^4$ KBE/ m^3 (299 von 300 möglichen Kolonien).

5.1.4 Halterung

zur Einstellung des Impaktors auf die zur Probenahme erforderliche Höhe.

5.1.5 Autoklav

thermostatisch reguliert bei (121 ± 3) °C und einem Druck von (103 ± 5) kPa.

5.1.6 Inkubator

thermostatisch reguliert bei (36 ± 2) °C.

5.1.7 Tiefkühlschrank

ein Tiefkühlsystem, thermostatisch reguliert bei (-70 ± 10) °C.

5.1.8 Mikrobiologische Sicherheitswerkbank der Klasse II

5.1.9 Waage

wägt mit einer Messunsicherheit von $\pm 0,01$ g.

5.1.10 Impföse

4 mm Durchmesser, steril.

5.1.11 Petrischalen

belüftet, steril, 90 mm bis 100 mm Durchmesser.

5.1.12 Desinfektionsmittel

Isopropanol oder Ethanol (70 % Volumenanteil).

5.1.13 pH-Meter

misst mit einer Messunsicherheit von $\pm 0,2$ pH-Einheiten.

5.1.14 Zeitmesser

5.2 Werkstoffe

5.2.1 Prüfbakterien

5.2.1.1 Staphylococcus aureus ATCC 6538

5.2.1.2 Micrococcus luteus ATCC 10240

Für spezielle Fragestellungen können andere Bakterien verwendet werden. Alle verwendeten Prüfstämme müssen im Prüfbericht angegeben werden.

5.2.2 Nährmedien und Reagenzien

5.2.2.1 Allgemeines

Zur Vorbereitung des Nährbodens und der Reagenzien sind Bestandteile von gleicher Qualität und analysenreine Chemikalien zu verwenden. Der Nährboden ist mit destilliertem oder deionisiertem Wasser der Qualitätsstufe 3 nach ISO 3696 vorzubereiten, das frei von Substanzen ist, die das Bakterienwachstum hemmen. Alternativ ist ein vollständiger Nährboden zu verwenden und die Herstellerangaben sind streng zu befolgen.

5.2.2.2 Nährlösung

Rindfleischextrakt	3,0 g;
Pepton	10,0 g
Natriumchlorid	5,0 g
Wasser	1 000 ml

Bestandteile in 1 000 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser auflösen. Den pH-Wert mit Natriumhydroxid oder Salzsäure einstellen. Der pH-Wert sollte 7,0 bis 7,2 bei 25 °C entsprechen. Im Autoklav bei (121 ± 3) °C 15 min sterilisieren. Nicht länger als einen Monat bei (5 ± 3) °C lagern.

5.2.2.3 Nähragar

Rindfleischextrakt	3,0 g;
Pepton	10,0 g
Natriumchlorid	5,0 g
Wasser	1 000 ml
Agar	15,0 g

Bestandteile in 1 000 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser durch Erhitzen auflösen. Den pH-Wert mit Natriumhydroxid oder Salzsäure einstellen. Der pH-Wert sollte 7,0 bis 7,2 bei 25 °C entsprechen. Im Autoklav bei (121 ± 3) °C 15 min sterilisieren. Nicht länger als einen Monat bei (5 ± 3) °C lagern.

5.2.2.4 Physiologische Kochsalzlösung

Natriumchlorid	8,5 g
Wasser	1 000 ml

Die physiologische Kochsalzlösung durch das Auflösen von 8,5 g Natriumhydroxid in 1 000 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser vorbereiten. Im Autoklav bei (121 ± 3) °C 20 min sterilisieren. Nicht länger als zwölf Monate lagern.

6 Vorbereitung der Stamm- und Arbeitskulturen der Prüfbakterien

6.1 Vorbereitung und Wartung

Die gefriergetrocknete Referenzkultur der Prüfbakterien nach den Herstellerangaben rehydrieren. Die rehydrierte Referenzkultur in einen Erlenmeyerkolben geben, der ein bestimmtes Volumen an Nährlösung enthält (5.2.2.2). (18 ± 2) Stunden bei (36 ± 2) °C in einem Inkubator unter vorsichtigem Schütteln inkubieren (5.1.6). Der bakteriellen Lösung das gleiche Volumen von 20 % (Volumenanteil) sterilem Glycerin oder 10 % DMSO (Dimethylsulfoxid) hinzufügen und gut vermischen, um eine Lösung von 10 % (v/v) Glycerin oder 5 % (v/v) DMSO zu erhalten. Die Aliquoten in Plastikröhrchen zu ca. 0,5 ml geben und bei (-70 ± 10) °C in einem Tiefkühlsystem (5.1.7) maximal zwei Jahre lagern.

6.2 Vorbereitung und Wartung der Arbeitskulturen der Prüfbakterien auf Agarplättchen

Eine Arbeitskultur der Prüfbakterien aus der Stammkultur (7.1) vorbereiten. Die gefrorene Stammkultur an die Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) anpassen und die bakterielle Lösung so auf ein Nährmedium (5.2.2.3) impfen, dass einzelne Kolonien gewonnen werden. Die Plättchen nach der Kultivierung nicht länger als einen Monat bei (5 ± 3) °C lagern.

6.3 Vorbereitung von Kulturlösungen

(50 ± 5) ml Nährlösung (5.2.2.2) in einem Erlenmeyerkolben (300 ml) mit ein bis fünf Kolonien von den Agarplättchen der Arbeitskultur (6.2) impfen und (18 ± 2) Stunden bei (36 ± 2) °C unter vorsichtigem Schütteln inkubieren.

Für eine Konzentration von etwa $1,0$ bis $3,2 \times 10^3$ (äquivalent zu 300 „vollen Löchern“ in einer 300-Impaktor-Abdeckung wenn 100 l eindringen) KBE/ml kann die Lösung aus Prüfbakterien zu Prüfzwecken verwendet werden. Wenn die Konzentration der Lösung aus Prüfbakterien über $1,0$ bis $3,2 \times 10^3$ KBE/ml liegt, diese Lösung mit einer physiologischen Kochsalzlösung (5.2.2.4) mit 10-fachem Verdünnungsfaktor verdünnen. Die Kulturlösung bei (5 ± 3) °C lagern und innerhalb 4 Stunden verwenden.

Anmerkung: Prüfung der Konzentration der Prüfbakterienlösung: Die erstellte Bakterienlösung auf Nähragar mit 10-fachem Verdünnungsfaktor impfen und nach der Inkubation bei (36 ± 2) °C für (18 bis 24) Stunden die Kolonien auf dem Medium zählen.

7 Verfahren

7.1 Allgemeines

Jegliche Verunreinigung der Prüfbakterien während der Vorbereitung und Handhabung sind zu vermeiden und es ist eine mikrobiologische Sicherheitswerkbank (5.1.8) zu verwenden. Die Prüfung wird in zwei

Schritten durchgeführt. In Schritt 1 (siehe 7.2) wird die Konzentration der Prüfbakterien ohne laufenden Luftreiniger gemessen und anschließend in Schritt 2 (siehe 7.3) mit laufendem Luftreiniger.

Schritt 2 wird nur dann ausgeführt, wenn in Schritt 1 gültige Ergebnisse (siehe 8.3) erzielt werden. Wenn diese Bedingungen nicht eingehalten werden, ist Schritt 1 zu wiederholen. Die in Schritt 2 verwendete Lösung der Prüfbakterien ist dieselbe wie die in Schritt 1 verwendete Lösung.

7.2 Schritt 1: Messung der Prüfbakterienlösung c_i ohne laufenden Luftreiniger

In Schritt 1 wird die Konzentration der Prüfbakterien ohne laufenden Luftreiniger gemessen.

7.2.1 Vorbereitung des Luftreinigers

Den Luftreiniger in die Mitte der Prüfkammer stellen

7.2.2 Sterilisierung des Luftreinigers

Die Oberfläche des Luftreinigers 2- bis 3-mal vorsichtig mit einem in 70 %-igem Ethanol getränkten Stück Gaze oder Wattebausch reinigen und vollständig trocknen. Wenn sich Ethanol nicht für die Anwendung auf dem Oberflächenmaterial des Luftreinigers eignet oder andere Beeinträchtigungen verursacht, die sich auf das Prüfergebnis auswirken können, ist eine andere Methode zum Sterilisieren zu verwenden.

7.2.3 Erhaltung der Temperatur und relativen Luftfeuchtigkeit in der Emissionsprüfkammer

Die Temperatur und relative Luftfeuchte in der Emissionsprüfkammer müssen bei folgenden Werten aufrechterhalten werden:

Temperatur: $(23 \pm 2) ^\circ\text{C}$

Luftfeuchte: $(50 \pm 5) \% \text{ R.H.}$

7.2.4 Sterilisierung der Emissionsprüfkammer

Vor der Prüfung den Innenraum der Emissionsprüfkammer z. B. mithilfe einer UV-Lampe sterilisieren.

7.2.5 Einbringen des Impaktors

Einbringen von drei oder mehr Impaktoren mit den Agarplättchen mit Nähragar in die Emissionsprüfkammer. Die Impaktoren mit 70 %-igem Ethanol oder auf andere geeignete Art und Weise sterilisieren.

ANMERKUNG Zur Demonstration einer homogenen Verteilung der Bakterien in Emissionsprüfkammern mit höherem Volumen können mehr als drei Probenahmepunkte sinnvoll sein.

7.2.6 Messung der bakteriellen Hintergrundkonzentration in der Emissionsprüfkammer

Die Hintergrundkonzentration muss gemessen werden, nachdem der Luftreiniger aufgestellt wurde und bevor die Prüfbakterien in die Prüfkammer zerstäubt werden. Der gesamte Lufteinlass ist in der Mitte der Prüfkammer unter Verwendung des Impaktors, in dem sich das präparierte Medium befindet, zu messen, nachdem ein konstanter Lufteinlass in die Prüfkammer besteht. (Die gesamte Belüftungsmenge ist hier auf 1 000 l beschränkt.) Das Medium muss vom Impaktor getrennt werden und Kolonien müssen nach der Inkubation des Mediums bei $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$ für 18 bis 24 Stunden ausgezählt werden. Die bakterielle Hintergrundkonzentration muss bei 0 KBE/ m^3 gehalten werden. Wenn sie über diesem Wert liegt, ist nach dem Belüften und Sterilisieren in der Prüfkammer mit beispielsweise einer UV-Lampe erneut zu messen.