

DIN ISO 16000-43



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

ICS 13.040.20

Einsprüche bis 2023-12-27

Entwurf

**Innenraumluftverunreinigungen –
Teil 43: Standardverfahren zur Bewertung der Reduktionsrate von
kultivierbaren luftgängigen Pilzen durch Luftreiniger unter
Verwendung einer Prüfkammer (ISO/DIS 16000-43:2023);
Text Deutsch und Englisch**

Indoor air –

Part 43: Standard method for assessing the reduction rate of culturable airborne fungi by air purifiers using a test chamber (ISO/DIS 16000-43:2023);

Text in German and English

Air intérieur –

Partie 43: Méthode normalisée d'évaluation du taux de réduction des champignons aériens cultivables par des épurateurs d'air utilisant une chambre d'essai (ISO/DIS 16000-43:2023);

Texte en allemand et anglais

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2023-10-27 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 oder VDI-Platz 1, 40468 Düsseldorf.

Es wird gebeten, mit den Kommentaren zu diesem Entwurf jegliche relevanten Patentrechte, die bekannt sind, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 45 Seiten

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

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort.....	4
Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich.....	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Prinzip	8
5 Prüfgeräte und Materialien	9
5.1 Prüfgerät.....	9
5.1.1 Prüfkammer	9
5.1.2 Vernebler.....	11
5.1.3 Impinger für die Probenahme von Pilzen	11
5.2 Materialien.....	11
5.2.1 Prüfpilze.....	11
5.2.2 <i>Penicillium roqueforti</i> KACC 47196	11
5.2.3 Kulturmedien und Reagenzien.....	12
6 Vorbereitung der Stamm- und Arbeitskulturen der Prüfpilze	13
6.1 Vorbereitung und Aufbewahrung der Stammkultur	13
6.2 Vorbereitung und Aufbewahrung der Arbeitskulturen der Prüfpilze auf Agarplättchen.....	13
6.3 Vorbereitung von Arbeitskulturösungen.....	13
7 Prüfverfahren	13
7.1 Allgemeines	13
7.2 Schritt 1 - Messung der Konzentration anzüchtbarer Prüfpilze, Ci ohne Betrieb des Luftreinigers.....	14
7.2.1 Allgemeines	14
7.2.2 Vorbereitung des Luftreinigers und der Prüfkammer	14
7.2.3 Messung der Pilz-Hintergrundkonzentration in der Prüfkammer	14
7.2.4 Zerstäuben der Prüfpilzsuspension	14
7.2.5 Messung der Anfangskonzentration der anzüchtbarer Pilze innerhalb der Prüfkammer nach dem Zerstäuben.....	15
7.2.6 Messung der Konzentration anzüchtbarer Pilze in der Prüfkammer nach einer festgelegten Zeit.....	15
7.2.7 Maßnahmen nach der Prüfung	15
7.3 Schritt 2 — Messung der Konzentration anzüchtbarer Prüfpilze Ct nach Betrieb des Luftreinigers.....	15
8 Berechnung und Angabe der Ergebnisse	16
8.1 Berechnung der Konzentration luftgetragener anzüchtbarer Pilze.....	16
8.2 Bedingungen für eine gültige Prüfung.....	16
8.3 Reduzierung der Pilzrate.....	16
9 Prüfbericht.....	17
10 Qualitätssicherung.....	17

Anhang A (informativ) Prüfkammer	18
Anhang B (informativ) Natürliche Verfallrate.....	20
B.1 Natürliche Verfallrate je nach Betriebsart des Luftreinigers	20
Anhang C (informativ) Homogenität.....	21
C.1 Homogenität luftgetragener Pilze in der Prüfkammer	21
Anhang D (informativ) Prüfverfahrensdiagramm	22
Literaturhinweise.....	23

Nationales Vorwort

Dieses Dokument wurde vom Unterkomitee SC 6 „Indoor air“ des Technischen Komitees ISO/TC 146 „Air quality“ erarbeitet. Obmannschaft und Sekretariat des SC 6 liegen bei Deutschland. An der Erstellung dieser Norm war der Fachbereich 4 „Umweltmesstechnik“ der Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) im VDI und DIN-Normenausschuss maßgeblich beteiligt.

Die einzelnen Teile der Reihe DIN ISO 16000 mit dem allgemeinen Titel *Innenraumluftverunreinigungen*, können auf der Homepage des DIN eingesehen werden.

Für die in diesem Dokument zitierten internationalen Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 3696	siehe	DIN ISO 3696
ISO 16000-9	siehe	DIN EN ISO 16000-9
ISO 16000-18	siehe	DIN ISO 16000-18
ISO 16000-36	siehe	DIN ISO 16000-36

Anhänge A bis D sind lediglich informativer Bestandteil dieses Teils der ISO 16000.

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

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

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 16000-9, *Innenraumluftverunreinigungen — Teil 9: Bestimmung der Emission von flüchtigen organischen Verbindungen aus Bauprodukten und Einrichtungsgegenständen — Emissionsprüfkammer-Verfahren*

DIN ISO 16000-18, *Innenraumluftverunreinigungen — Teil 18: Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen — Probenahme durch Impaktion*

DIN ISO 16000-36, *Innenraumluftverunreinigungen — Teil 36: Prüfkammer-Verfahren zur Bestimmung der Minderungsrate luftgetragener, kultivierbarer Bakterien durch Luftreiniger mit einer Prüfkammer*

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke; Anforderungen und Prüfungen*

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO 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 staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen 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 Directives, Teil 1, beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC Directives, Teil 2, erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

ISO weist auf die Möglichkeit hin, dass die Anwendung dieses Dokuments mit der Verwendung eines oder mehrerer Patente verbunden sein kann. ISO bezieht jedoch in dieser Hinsicht keinerlei Stellung bezüglich Nachweis, Gültigkeit oder Anwendbarkeit jeglicher beanspruchten Patentrechte. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments lag ISO [eine/keine] Mitteilung über ein Patent bzw. mehrere Patente vor, welche/s zur Umsetzung dieses Dokuments erforderlich sein könnte/n. Anwender werden jedoch darauf hingewiesen, dass dies möglicherweise nicht der aktuelle Informationsstand ist. Dieser kann jedoch der Patentdatenbank unter www.iso.org/patents entnommen werden. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 146, *Air quality*, Unterkomitee SC 6, *Indoor air*, erarbeitet.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 16000 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

Einleitung

Das mikrobielle Umfeld in Innenräumen ist wichtig für die Gesundheit von Bewohnern, 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 Prüfkammern bei konstanter Temperatur und relativer Luftfeuchte untersucht werden.

WARNUNG — Die in diesem Dokument angegebenen Prüfungen müssen von Fachleuten durchgeführt werden, die mit dem Umgang mit Techniken in Verbindung mit Mikroorganismen vertraut und dafür qualifiziert sind. Der Prüfpilz *Penicillium roqueforti* ist ein in der Natur weithin verbreiteter allgemeiner Schimmelpilz. Er wird seit langem in der Käseindustrie verwendet. Er produziert jedoch große Mengen Sporen, die bei für Pilzsporen empfindlichen Personen allergische Reaktionen auslösen können. Aus diesem Grund sollten nationale und internationale Sicherheitsverfahren für die Arbeit mit allergenen Schimmelpilzsporen befolgt werden, um jegliche Expositionen in der Prüfumgebung zu verhindern. Die Untersuchung und Vorbereitung der Kulturen sollte in einem biologischen Sicherheitsschrank der Klasse II ausgeführt werden.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Standardverfahren zur Bewertung der Kapazität von Luftreinigern zur Reduzierung der Konzentration von luftgetragenen Pilzen und zur Luftreinigung in Innenraumumgebungen fest.

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

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).

ISO 16000-9, *Indoor air — Part 9: Determination of the emission of volatile organic compounds from building products and furnishing — Emission test chamber method*

ISO 16000-18, *Indoor air — Part 18: Detection and enumeration of moulds — Sampling by impaction*

ISO 16000-36, *Indoor air — Part 36: Standard method for assessing the reduction rate of culturable airborne bacteria by air purifiers using a test chamber*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

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

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

3.1

Luftreiniger

elektrisch betriebenes Gerät, das 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 anzüchtbaren Pilze (3.3) ausgedrückt wird

[QUELLE: ISO 16000-36 [1], modifiziert]

3.3

Fadenpilz

Pilz, der in Form von als Hyphen bekannten Zellfäden wächst

Anmerkung 1 zum Begriff: In Bündeln zusammengefasste Hyphen werden als Myzelien bezeichnet.

Anmerkung 2 zum Begriff: Der Begriff Fadenpilz unterscheidet Pilze mit Hyphen von Hefe.

3.4

Pilz-Hintergrundkonzentration

Konzentration der anzüchtbaren Pilze in der Prüfkammer vor der Prüfung

3.5

natürliche Verfallrate

Reduzierungsrate luftgetragener anzüchtbarer Pilze (3.3), die durch Vergleich der Konzentration von Pilzen unmittelbar nach der Zerstäubung einer Pilzsuspension in der Kammer mit der nach einer festgelegten Zeit (Prüfzeit) gemessenen Konzentration ohne Betrieb des Luftreinigers gemessen wird (3.1)

Anmerkung 1 zum Begriff: Die natürliche Verfallrate wird in Prozent angegeben.

3.6

Pilzreduzierungsrate

Reduzierungsrate luftgetragener anzüchtbarer Pilze (3.3), die durch Vergleich der Konzentration von Pilzen unmittelbar nach der Zerstäubung einer Pilzsuspension in der Kammer mit der nach einer festgelegten Betriebszeit des Luftreinigers (Prüfzeit) gemessenen Konzentration gemessen wird (3.1)

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Pilzreduzierungsrate wird in Prozent angegeben.

3.7

Aufprallverfahren (Impaktionsverfahren)

Probenahme luftgetragener anzüchtbarer Pilze (3.3) durch Trägheitsabscheidung an einer festen Agar-Oberfläche (Nährmedium oder mit Klebstoff beschichteter Objektträger)

Anmerkung 1 zum Begriff: Siehe ISO 16000-18[2].

Anmerkung 2 zum Begriff: Die Probenahme wird zum Beispiel entweder mit Rundloch- oder Schlitz-Impaktoren durchgeführt. Sobald die Luft durch die Ansaugöffnungen eintritt, wird sie beschleunigt und die Partikel prallen aufgrund ihrer Trägheit auf das Medium direkt hinter den Düsen, während die Luft um das Nährmedium herum strömt und das Probenahmegerät verlässt. Impaktorproben sind nur für die direkte Analyse ohne weitere Resuspension der Probe geeignet.

3.8

Schimmelpilz

<Luftqualität> Fadenpilz aus mehreren taxonomischen Gruppen, namentlich Ascomycota, Basidiomycota, Mucoromycota und ihre anamorphen geschlechtslosen Zustände

Anmerkung 1 zum Begriff: Taxonomisch gesehen bilden Schimmelpilze keine einheitliche Gruppe.

Anmerkung 2 zum Begriff: Schimmelpilze bilden je nach taxonomischer Gruppe, zu der sie gehören, unterschiedliche Arten von Sporen, und zwar Conidiosporen (Conidien), Sporangiosporen, Basidiosporen oder Ascosporen. In der Praxis werden all diese reproduktiven Phasen unter dem Begriff „Sporen“ zusammengefasst.

4 Prinzip

Der Wirkungsgrad von Luftreinigern wird mithilfe zerstäubter Pilzsuspensionen in einer Prüfkammer bei konstanter Temperatur und relativer Feuchte geprüft. Der Wirkungsgrad wird durch die Minderungsrate anzüchtbarer luftgetragener Pilze über eine festgelegte Dauer berechnet und berücksichtigt die Homogenität und die natürliche Verfallrate der Pilze.

BEISPIEL Beispieltext.

5 Prüfgeräte und Materialien

5.1 Prüfgerät

5.1.1 Prüfkammer

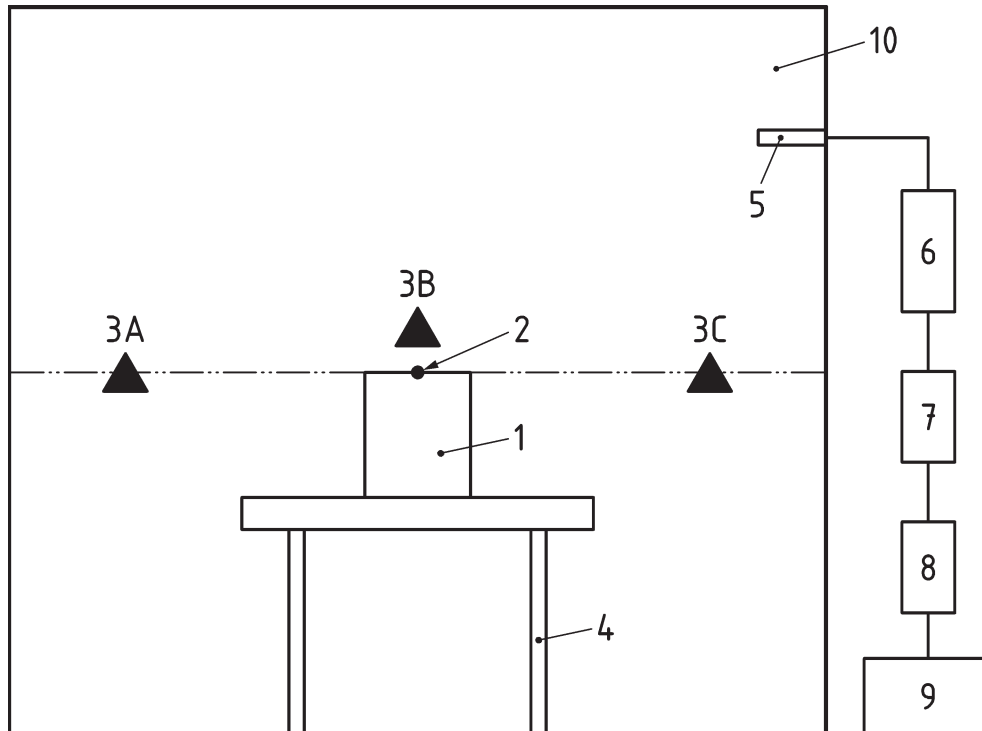
Die Prüfkammer muss aus einem geeigneten Material bestehen, d. h. einem Material, das möglichst wenig Schadstoffe abgibt und korrosionsbeständig ist, wie Edelstahl, und muss über eine ausreichende Luftdichtung verfügen.

Das Volumen der Prüfkammer sollte die spätere Anwendung des Luftreinigers widerspiegeln. Das Mindestvolumen darf 8 m³ nicht unterschreiten und liegt üblicherweise zwischen 15 m³ und 30 m³.

Das Innere der Prüfkammer muss sauber gehalten werden und frei von mikrobiellen Verunreinigungen sein. Sie muss über ein geeignetes Umgebungs-Steuerungssystem verfügen, um Temperatur und Luftfeuchte konstant zu halten. Um dies zu erreichen, sollte die Prüfkammer folgendes beinhalten:

- ein System, das in der Lage ist, Verunreinigungen zu entfernen und innerhalb der Prüfkammer aseptische Bedingungen aufrechtzuerhalten, wie etwa eine UV-Lampe;
- eine Einrichtung zum Überführen von Gegenständen in die Kammer hinein und aus ihr heraus ohne Kreuzkontamination (dies kann ein spezielles System wie etwa eine Handschuhbox sein);
- eine Einrichtung zur Steuerung der Stromversorgung innerhalb der Prüfkammer von außen;
- eine Einrichtung zur Erzeugung eines Prüfpilz-Aerosols in der Kammer und um dessen Homogenität sicherzustellen (dies kann durch Verwendung einer Sprüheinlassöffnung erreicht werden, durch die Pilze zerstäubt werden und die mit einer Sprühdüse in der Kammer verbunden ist, mit einem Gebläse, um eine homogene Verteilung der Pilze in der Kammer sicherzustellen);
- eine Klimaanlage in der Prüfkammer, die in der Lage ist, die Temperatur und relative Feuchte in stabiler und präziser Weise zu steuern; die Klimaanlage muss während der Prüfung abgeschaltet werden;
- eine Einrichtung zur Spülung der Kammer nach der Prüfung mit Unterdruck-Luftstrom;
- eine Anzeige zur Darstellung wichtiger Faktoren aus der Umgebung in Bezug zu der Prüfung, wie Volumenstrom, Temperatur und relative Luftfeuchte;

Ein Prüfsystem unter Verwendung einer Prüfkammer ist in Bild 1 dargestellt.



Legende

- 1 Luftreiniger
- 2 Lufteinlass der Prüfeinheit
- 3 3A-, 3B-, 3C-Position der Impaktoren
- 4 Ständer für den Luftreiniger
- 5 Sprüheinlass
- 6 Entfeuchter
- 7 Zerstäuber
- 8 Filter (für die Zufuhr sauberer Luft)
- 9 Druckpumpe
- 10 Prüfkammer

Bild 1 — Prüfsystem für Luftreiniger unter Verwendung einer Prüfkammer

Anhang A enthält Beispielfotos einer Prüfkammer.

In Übereinstimmung mit ISO 16000-9:2006[3], 8.1:

- müssen die Prüftemperatur und der zulässige Abweichungsbereich (23 ± 2) °C betragen;
- Müssen die Prüffeuchte und der zulässige Abweichungsbereich (50 ± 5) % betragen.

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

Der Innenraum der Prüfkammer wird nach jeder Prüfung mit einer UV-Lampe und 70 % Ethanol (5.1.12) oder Anwendung anderer Dekontaminationsverfahren dekontaminiert, um eine Verunreinigung nach einer Prüfung zu verhindern.

5.1.2 Vernebler

Der Vernebler muss in der Lage sein, ein Nährmedium in Partikel ($0,05\ \mu\text{m}$ bis $5\ \mu\text{m}$) zu zerstäuben, um so weit wie möglich einzelne Pilzpartikel zu erzeugen. Der Vernebler umfasst üblicherweise eine Pumpe zur Erzeugung eines bestimmten Luftdrucks, um das Nährmedium zu zerstäuben, eine Versorgungseinheit für gereinigte Luft (HEPA-Filter) und einen Entfeuchter, um überschüssiges Wasser aus dem generierten Nährmedium zu entfernen.

5.1.3 Impinger für die Probenahme von Pilzen

Das in diesem Dokument beschriebene Impaktionsverfahren ist nur für relativ geringe Konzentrationen anzüchtbarer Pilze und kleine Kammern mit einem Volumen von z. B. $8\ \text{m}^3$ anwendbar.

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

5.1.4 Ständer zum Positionieren des Impaktors in der zur Probenahme erforderlichen Höhe.

5.1.5 Autoklav, thermostatisch eingeregelt bei $(121 \pm 3)\ ^\circ\text{C}$ und einem Druck von $(103 \pm 5)\ \text{kPa}$.

5.1.6 Inkubator, thermostatisch eingeregelt bei $(25 \pm 1)\ ^\circ\text{C}$.

5.1.7 Tiefkühlschrank, thermostatisch eingeregelt bei $(-70 \pm 2)\ ^\circ\text{C}$.

5.1.8 Biologischer Sicherheitsschrank der Klasse II.

5.1.9 Waage mit einer Genauigkeit von $\pm 0,01\ \text{g}$.

5.1.10 Impföse, 4 mm Ringdurchmesser, 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-Messgerät, mit einer Genauigkeit von $\pm 0,2$ Einheiten.

5.1.14 Zeitmesser.

5.1.15 Zählkammer, ein Gerät, das verwendet wird, um rote Blutkörperchen oder Pilzzellen (Sporen) zu zählen.

5.2 Materialien

5.2.1 Prüfpilze

Es werden lebende nicht-pathogene Spezies gewählt, z. B.

5.2.2 *Penicillium roqueforti* KACC 47196

Der Prüfpilz muss aus - Kultursammlungen (z. B. KACC = Korean Agricultural Culture Collection) erhalten werden.

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

5.2.3 Kulturmedien und Reagenzien

5.2.3.1 Allgemeines

Zur Vorbereitung des Nährmediums und des Reagens müssen Bestandteile von gleicher Qualität und analysenreine Chemikalien verwendet werden. Nährmedien werden mit destilliertem oder deionisiertem Wasser der Qualitätsstufe 3 nach ISO 3696 vorbereitet, das frei von Substanzen ist, die das Pilzwachstum hemmen. Alternativ wird ein fertiges Nährmedium verwendet und die Herstellerangaben werden streng befolgt. Wenn andere Nährmedien verwendet werden, muss das Medium in dem Prüfbericht angegeben werden. Wenn andere Pilze verwendet werden, muss ein für jeden Pilz geeignetes Medium verwendet und die relevanten Informationen müssen in dem Prüfbericht angegeben werden.

5.2.3.2 Kartoffeldextrose-Agar (en: potato dextrose agar, PDA)

Tabelle 1 enthält die Komponenten.

Tabelle 1 — Zusammensetzung von Kartoffeldextrose-Agar

Komponente	Größe
Kartoffelstärke	4,0 g
Dextrose	20,0 g
Agar	15,0 g
Wasser	1 000 ml

Die Bestandteile werden in 1 000 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser aufgelöst. Der pH-Wert wird mit Natriumhydroxid oder Salzsäure eingestellt. Der endgültige pH-Wert sollte 7,0 bis 7,2 bei 25 °C entsprechen. Die Sterilisierung erfolgt durch Autoklavieren bei (121 ± 3) °C für 15 min. Die Lagerungsdauer bei (5 ± 3) °C darf einen Monat nicht überschreiten.

5.2.3.3 Phosphat-Pufferlösung

Tabelle 2 enthält die Komponenten.

Tabelle 2 — Zusammensetzung von Kartoffeldextrose-Agar

Komponente	Größe
Kaliumdihydrogenphosphat	34,0 g
Wasser	1 000 ml

Die Bestandteile werden in 1 000 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser aufgelöst. Der pH-Wert wird mit Natriumhydroxid oder Salzsäure eingestellt. Der endgültige pH-Wert sollte 7,0 bis 7,2 bei 25 °C entsprechen. Die Sterilisierung erfolgt durch Autoklavieren bei (121 ± 3) °C für 15 min. Die Lagerungsdauer bei (5 ± 3) °C darf einen Monat nicht überschreiten.

6 Vorbereitung der Stamm- und Arbeitskulturen der Prüfpilze

6.1 Vorbereitung und Aufbewahrung der Stammkultur

Die Pilzstammkultur wird auf dem Kartoffeldextrose-Agar-Medium (5.2.2.2) mit einer sterilen Öse inokuliert und bei $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ bei mindestens 50 % relativer Luftfeuchte für 5 Tage inkubiert. Nach der Inkubation wird eine sterile physiologische Kochsalzlösung auf die angezüchtete Nährmedienplatte gegeben, die Pilz-Myzelien werden mithilfe eines sterilen Glasstabs gerührt, um eine Suspension herzustellen, und die Pilzsuspension wird durch mehrere Lagen steriler Gaze gefiltert, um eine Sporensuspension zu erhalten. Das gleiche Volumen von 20 % (Volumenanteil) sterilen Glycerins oder 10 % (Volumenanteil) Dimethylschwefeloxid (DMSO) werden zu der Pilzsuspension hinzugegeben, um eine 10 % (Volumenanteil) Glycerin- oder 5 % (Volumenanteil) DMSO-Suspension zu erhalten und sorgfältig gemischt. Die Aliquoten werden in Kunststoffröhrchen mit Schraubverschluss und einer Kapazität von 1 ml verteilt und bei $(-70 \pm 10)^\circ\text{C}$ in einem kryogenen Tiefkühlschrank (5.1.7) für maximal zwei Jahre aufbewahrt.

6.2 Vorbereitung und Aufbewahrung der Arbeitskulturen der Prüfpilze auf Agarplättchen

Eine Arbeitskultur der Prüfpilze wird aus der Stammkultur (6.1) vorbereitet. Die gefrorene Stammkultur wird auf Raumtemperatur (15 bis 30°C) konditioniert und die Pilzsuspension wird auf die Kartoffeldextrose-Agarplatte (5.2.2.2) inokuliert. Nach dem Anzüchten werden die Platten bei $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ für nicht mehr als einen Monat gelagert.

6.3 Vorbereitung von Arbeitskulturösungen

Von der bebrüteten Pilzkulturplatte (6.2) wird eine sterile Phosphat-Pufferlösung auf die angezüchtete Medienplatte gegeben und die Pilzmyzelien werden mit einem sterilen Glasstab gerührt, um die Suspension herzustellen. Anschließend wird die Pilzsuspension durch mehrere Lagen steriler Gaze gefiltert, um eine Sporensuspension von etwa $1,0$ bis $9,0 \times 10^3$ KBE/ml (entspricht 300 vollen Löchern in einem 300 Impaktordeckel, wenn 50 l beaufschlagt wurden) für die Prüfung zu erhalten. Wenn die Konzentration der Prüfpilzlösung über $1,0$ bis $9,0 \times 10^3$ KBE/ml liegt, wird diese Suspension mit der Phosphat-Pufferlösung (5.2.2.3) 10-fach verdünnt. Die Prüfpilz-Suspension wird in einem Kühllager aufbewahrt, wenn sie nicht sofort verwendet wird, jedoch nicht für länger als 4 h.

ANMERKUNG Konzentrationsprüfung der Prüfpilzsuspension: 50 µl bis 100 µl der mit der physiologischen Kochsalzlösung hergestellten Pilzsuspension werden in eine Zählkammer gegeben, ein Deckglas wird aufgesetzt und die Anzahl der Pilzsporen mit fünf Replikaten wird mithilfe eines Lichtmikroskops gezählt.

7 Prüfverfahren

7.1 Allgemeines

Jegliche Verunreinigung und Exposition der Pilz wird durch die Vorbereitung und Handhabung der Prüfpilze verhindert und ein biologischer Sicherheitsschrank der Klasse II (5.1.8) wird verwendet.

Die Prüfung wird in zwei Schritten durchgeführt. In Schritt 1 (siehe 7.2) wird die Konzentration der Prüfpilze ohne Betrieb des Luftreinigers gemessen, während die Messung in Schritt 2 (siehe 7.3) mit Betrieb des Luftreinigers erfolgt.

Die Prüfung ist nur gültig, wenn die Bedingungen in 8.2 erfüllt werden und die Prüfung (Schritt 2) in dem Zeitraum durchgeführt wurde, in dem die Verfallrate im Schritt 1 unter 50 % (siehe Anhang B) geblieben ist. Wenn diese Bedingungen nicht erfüllt werden, muss die Prüfung (Schritt 1 und Schritt 2) wiederholt werden.

Die Prüfung wird nacheinander mit beiden Prüfpilzen durchgeführt. Die Suspension der jeweiligen in Schritt 2 verwendeten Prüfpilze ist dieselbe wie die in Schritt 1 verwendete Suspension.

7.2 Schritt 1 - Messung der Konzentration anzüchtbarer Prüfpilze, Ci ohne Betrieb des Luftreinigers

7.2.1 Allgemeines

In Schritt 1 wird die Konzentration der Prüfpilze ohne Betrieb des Luftreinigers gemessen.

7.2.2 Vorbereitung des Luftreinigers und der Prüfkammer

Der Luftreiniger wird in der Mitte der Kammer platziert. Die vordere Oberfläche des Luftreinigers wird zwei- oder dreimal vorsichtig mit einem in 70 % Ethanol (5.1.12) getränktem Stück Gaze oder einem Wattebausch abgewischt und vollständig trocknen gelassen. Wenn sich Ethanol nicht für die Anwendung auf dem Oberflächenmaterial des Luftreinigers eignet oder andere Beeinträchtigungen verursacht, die sich auf das Prüfergebnis auswirken können, wird eine andere Methode zur Dekontaminierung verwendet.

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

- Temperatur: $(23 \pm 2) ^\circ\text{C}$;
- Feuchte: $(50 \pm 5) \%$ relative Luftfeuchte.

Vor der Prüfung wird der Innenraum der Kammer z. B. mithilfe einer UV-Lampe dekontaminiert.

Drei oder mehr Impaktoren mit den Agarplatten mit Kartoffeldextrose-Agar werden in die Prüfkammer eingeführt. Die Impaktoren werden mit 70 % Ethanol (5.1.12) oder mithilfe eines anderen geeigneten Verfahrens dekontaminiert.

ANMERKUNG Die Verwendung von mehr als drei Messpunkten kann nützlich sein, um die homogene Verteilung der Pilze in der Prüfkammer mit höheren Volumen nachzuweisen.

7.2.3 Messung der Pilz-Hintergrundkonzentration in der Prüfkammer

Die Hintergrundkonzentration wird nach dem Platzieren des Luftreinigers und vor dem Zerstäuben der Prüfpilze in der Kammer gemessen. Die Konzentration anzüchtbarer Pilze wird in der Mitte der Kammer unter Verwendung des Impaktors, in dem die vorbereitete Agarplatte platziert wurde, gemessen. Ein Probenahmevolumen von 1 000 l wird verwendet. Die Agarplatte wird aus dem Impaktor entfernt und die Kolonien werden nach Bebrütung der Platten bei $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ für 5 Tage gezählt.

Die Pilz-Hintergrundkonzentration muss bei $< 1 \text{ KBE}/\text{m}^3$ gehalten werden. Wenn höhere Konzentrationen detektiert werden, wird die Kammer belüftet und dekontaminiert, z. B. mit einer UV-Lampe, und die Messung wird wiederholt.

7.2.4 Zerstäuben der Prüfpilzsuspension

Eine festgelegte Menge der Pilzsuspension (6.3) wird in den Vernebler gegeben. Die Menge der Pilzsuspension kann je nach verwendetem Vernebler variieren. Die Pilzsuspension wird mit einem Druck von 3 bar (d. h. etwa 50 l/min) gesprüht. Eine Verneblerdüsendgröße von 0,3 mm wird verwendet. Die Zerstäubungsdauer variiert je nach Volumen der Kammer. Ein Rührgebläse wird verwendet, um eine homogene Verteilung der Prüfpilze in der Kammer sicherzustellen.

ANMERKUNG 1 Wenn das Volumen der Pilzsuspension unter 100 ml liegt, erschwert dies das Zerstäuben (abhängig von der Größe des Verneblers).

ANMERKUNG 2 Anhang C enthält weitere Informationen zur Homogenität luftgetragener anzüchtbarer Pilze in der Prüfkammer.

Der Vernebler wird entsprechend den Anweisungen des Herstellers dekontaminiert/sterilisiert.