

Aus dem Department of Population Medicine der Universität Guelph/Canada¹ und der Tierärztlichen Klinik Babenhausen, Bayern²

Untersuchungen zur Sterilität von Zitzenstiften

Th. Geishauser¹ und K. Querengässer²

Praktischer Tierarzt 82: 5, 367-370 (2001)
© Schlütersche GmbH & Co. KG, Verlag und Druckerei
ISSN 0032-681 X

ZUSAMMENFASSUNG: Gegenstand des vorliegenden Beitrages ist, Zitzenstifte, welche im Handel als steril angeboten werden, auf Sterilität zu prüfen und bei Zitzenstiften und Verweilröhrchen, welche keine Angaben hinsichtlich Sterilität tragen, eine Keimzahlbestimmung vorzunehmen. NIT® natürliche Zitzenzapfchen und SIMPL® Silikonimplantate werden als steril angeboten, wohingegen die untersuchten Wollzitzenstifte, Darmsaitenstifte und BYKANULA® Verweilröhrchen keine Angaben zur Sterilität tragen. Bei NIT® Zitzenzapfchen und SIMPL® Silikonimplantaten wurden keine vermehrungsfähigen Mikroorganismen nachgewiesen. In allen untersuchten Wollzitzenstiften und Darmsaitenstiften sowie in einem Verweilröhrchen wurden Keime (Koloniebildende Einheiten und Sporenbildner) nachgewiesen. Die Verfasser schließen daraus, dass bei der Anwendung von Wollzitzenstiften, Darmsaitenstiften und BYKANULA® Verweilröhrchen die Gefahr besteht, dass Keime in die Zitze eingeschleppt werden. Die Sterilität von NIT® Zitzenzapfchen und SIMPL® Silikonimplantaten konnte bestätigt werden.

Stichworte: Zitzenstifte, Verweilröhrchen, Sterilität

Investigations on the sterility of teat dilators

SUMMARY: The objective of this study was to test teat inserts that are sold as sterile for sterility and to count the colony forming units in teat dilators and teat cannulae that are sold without providing any information on their microbial status. NIT® natural teat inserts and SIMPL® silicone implants are claimed to be sterile, whereas pipe cleaner-like teat dilators, gut string teat dilators and BYKANULA® teat cannulae are sold without any information on their microbial status. In none of the tested NIT® teat inserts and SIMPL® silicone implants none of the evidence of microorganisms was detected. Colony forming microorganisms were present in all tested pipe cleaner-like teat dilators, all tested gut string teat dilators and in one tested teat cannula. It is concluded from the findings that with the use of pipe cleaner-like teat dilators, gut string teat dilators and BYKANULA® teat cannulae microorganisms may be inoculated into the teat. In the tested NIT® natural teat inserts and SIMPL® silicone implants sterility was confirmed.

Key words: teat, insert, dilator, cannula, sterility

Einleitung

Zitzenstifte und Verweilröhrchen dienen zum Einsatz in verletzte Zitzen. Um die Wunde nicht zu belasten, sollten diese Hilfsmittel steril sein. Die Einzelverpackung dieser Stifte ist Voraussetzung für den Erhalt der Sterilität

nach Öffnen der Umverpackung. Zu den Zitzenstiften können Zitzenzapfchen, Silikonimplantate, Wollzitzenstifte und Darmsaitenstifte, auch „Dilatationsstifte“ genannt, gezählt werden. Andere Bezeichnungen für Verweilröhrchen sind „Zitzenkanülen“ oder „Bykanula“. Manche dieser Produkte werden als steril angeboten, wohingegen andere ohne Angaben zur Sterilität im Handel sind. Gegenstand dieses Beitrages ist, Zitzenstifte, welche als steril angeboten werden, auf Sterilität zu prüfen und bei Zitzenstiften und Verweilröhrchen, welche keine Angaben hinsichtlich Sterilität tragen, eine Keimzahlbestimmung vorzunehmen.

Tab. 1: Vertreiber, Artikelnummer, Charge und Angaben zur Sterilität der untersuchten Produkte (kA = keine Angaben)

Produkt	Besonderheiten	Vertreiber	Artikel	Charge	Sterilität
NIT® natürliche Zitzenzapfchen		WDT, Garbsen	120	5/02	steril
SIMPL® Silikonimplantate		WDT, Garbsen	121	11/99	steril
Wollzitzenstifte	in Vaseline eingetaucht	Selectavet, Weyarn	9410	kA	kA
Wollzitzenstifte	nicht in Vaseline eingetaucht	Albrecht, Aulendorf	11006	kA	kA
Dilatationsstifte	nicht in Vaseline eingetaucht	WDT, Garbsen	1500	kA	kA
BYKANULA® Verweilröhrchen		Essex, München	4961009	98204	kA

Vorgehen

Zur Untersuchung wurden im Handel befindliche Zitzenstifte und Verweilröhrchen herangezogen (Tab. 1).

Angeblich sterile Stifte (NIT® Zitzenzapfchen, SIMPL® Silikonimplantate)

Bei jenen Stiften, welche nach Angaben des Vertreibers steril waren, wurde zunächst eine Prüfung auf keimhemmende Substanzen und dann eine Sterilitätsprüfung mittels Direktinokulation vorgenommen (ISO/FDIS 11737-2, DAB 1997 V.2.1.1., USP 23 [71]).

Prüfung auf keimhemmende Substanzen: Die Casein-Soja (CASO)- und Sabouraud-Bouillon-Ansätze wurden mit 10–100

NIT® das natürliche Zitzenzapfchen

- die Nr. 1 unter den Zitzenzapfchen
- ohne blauen Farbstoff
- ohne Bakterienleitfaden

Die WDT – stark in Zitzen

Tel. 05131 705 111, Freifax 0800 088 8888

koloniebildenden Einheiten (KBE) *Staphylococcus aureus* (DSM 799) bzw. *Candida albicans* (DSM 1386) inokuliert. Als Negativkontrollen zum Nachweis der Sterilität der eingesetzten Nährmedien wurde nicht inokulierte CASO- und Sabouraud-Bouillon ohne Produkt verwendet. Als Positivkontrollen zum Nachweis ausreichender Wachstumseigenschaften der eingesetzten Nährmedien wurde mit 10–100 KBE von *Staphylococcus aureus* bzw. *Candida albicans* inokulierte CASO- und Sabouraud-Bouillon ebenfalls ohne Produkt eingesetzt. Die Ansätze wurden sieben Tage bei 30–35 °C bzw. 20–25 °C inkubiert und anschließend auf mikrobielles Wachstum untersucht.



Abb. 1: NIT® natürliche Zitzenzapfen (Fa. WDT Garbsen) sind steril und einzeln verpackt.

Sterilitätsprüfung mittels Direktinokulation: Je drei Muster wurden in 3 ml NaCl-Lösung gespült. 1 ml der Spülflüssigkeit wurde mit dem Muster direkt in CASO-Bouillon bzw. je 1 ml in Thioglyolat- und Sabouraud-Bouillon überführt. Die Ansätze wurden 14 Tage lang bei 30–35 °C bzw. 20–25 °C inkubiert und anschließend auf mikrobielles Wachstum untersucht.

Stifte ohne Angaben hinsichtlich Sterilität (Wollzitzenstifte, Darmsaitenstifte, BYKANULA® Verweilröhrchen)

Bei jenen Stiften, welche keine Angaben zur Sterilität trugen, wurde eine Keimzahlbestimmung mittels Membranfiltration nach Ermittlung von materialspezifischer Wiederfindungsrate und Korrekturfaktor vorgenommen (DIN EN 1174, ISO 11737-1, DAB 1997 V.2.1.8, USP 23 [61]).

Tab. 2: Befunde der Prüfung auf keimhemmende Substanzen

Produkt	Test	Testmaterial	Inokulum	Mikrobielles Wachstum
NIT® Zitzenzapfen	Bakteriostase Test	+	10–100 KBE <i>S. aureus</i>	+
	Positivkontrolle	–	10–100 KBE <i>S. aureus</i>	+
	Negativkontrolle	–	–	–
	Fungistase Test	+	10–100 KBE <i>C. albicans</i>	+
	Positivkontrolle	–	10–100 KBE <i>C. albicans</i>	+
	Negativkontrolle	–	–	–
SIMPL® Silikonimplantate	Bakteriostase Test	+	10–100 KBE <i>S. aureus</i>	+
	Positivkontrolle	–	10–100 KBE <i>S. aureus</i>	+
	Negativkontrolle	–	–	–
	Fungistase Test	+	10–100 KBE <i>C. albicans</i>	+
	Positivkontrolle	–	10–100 KBE <i>C. albicans</i>	+
	Negativkontrolle	–	–	–

Ermittlung von materialspezifischer Wiederfindungsrate und Korrekturfaktor: Je zwei Muster wurden mit jeweils etwa 1×10^2 Sporen von *Bacillus subtilis* var. *niger* (ATCC 9372) inokuliert. Nach dem Trocknen wurden die Muster jeweils fünfmal eine Stunde mit Peptonpuffer gespült und die Spülflüssigkeiten membranfiltriert. Die Membranfilter wurden auf CASO-Agar überführt und zwei Tage bei 30–35 °C inkubiert. Anschließend wurde die Zahl der KBE bestimmt. Aus den Keimzahlen der einzelnen Spülvorgänge wurde die Wiederfindungsrate nach der 1. Spülung und der Korrekturfaktor errechnet.

Keimzahlbestimmung mittels Membranfiltration: Je drei Muster wurden jeweils eine Stunde mit Peptonpuffer gespült und die Spülflüssigkeiten membranfiltriert. Die Membranfilter wurden auf CASO-Agar überführt und zwei Tage bei 30–35 °C bzw. drei Tage bei 20–25 °C inkubiert. Anschließend wurde die Zahl der KBE bestimmt.

Ergebnisse

Angewandte Produkte (NIT® Zitenzäpfchen, SIMPL® Silikonimplantate)

Prüfung auf keimhemmende Substanzen: In den inokulierten Ansätzen der untersuchten Spülflüssigkeiten und den Positivkontrollansätzen wurde Wachstum der Testorganismen nachgewiesen, wohingegen in den Negativkontrollansätzen kein mikrobielles Wachstum beobachtet wurde (Tab. 2). Somit wurde weder bakteriostatische noch fungistatische Aktivität der untersuchten Spülflüssigkeiten nachgewiesen.

Tab. 3: Ermittlung von materialspezifischer Wiederfindungsrate und Korrekturfaktor. Anzahl der koloniebildenden Einheiten (KBE) in je zwei Mustern der untersuchten Produkte nach Inokulation mit etwa 1×10^2 Sporen von *Bacillus subtilis* var. *niger* und fünf Spülungen

Produkt	KBE									
	1. Muster					2. Muster				
	1.	2.	3.	4.	5. Spülung	1.	2.	3.	4.	5. Spülung
Vollzitzenstift, in Vaseline	133	22	9	<2	<2	128	17	9	<2	<2
Wollzitzenstift, nicht in Vaseline	95	10	<2	<2	<2	83	8	<2	<2	<2
Dialatationsstift	122	17	1	<2	<2	113	10	1	<2	<2
BYKANULA® Verweilröhrchen	89	8	<2	<2	<2	105	9	<2	<2	<2

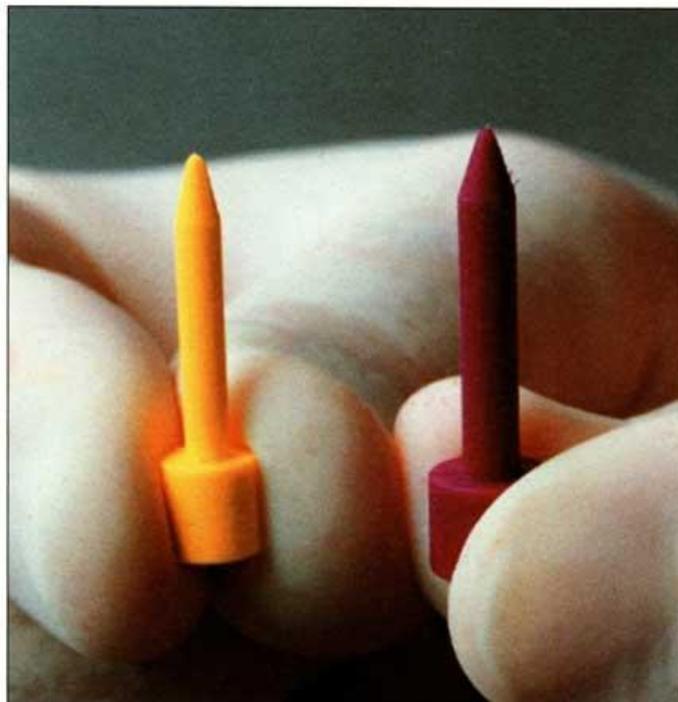


Abb. 2: SIMPL® Silikonimplantate (Fa. WDT Garbsen) sind steril und einzeln verpackt. Gelb – dünn, lila – dick.

Sterilitätsprüfung: Bei der anschließenden Sterilitätsprüfung wurden weder in den untersuchten Spülflüssigkeiten der NIT® Zitenzäpfchen (Abb. 1) noch in den Spülflüssigkeiten der SIMPL® Silikonimplantate (Abb. 2) vermehrungsfähige Mikroorganismen nachgewiesen.

Stifte ohne Angaben hinsichtlich Sterilität (Wollzitzenstifte, Darmsaitenstifte, BYKANULA® Verweilröhrchen)

Ermittlung von materialspezifischer Wiederfindungsrate und Korrekturfaktor: In den ersten und zweiten Spülflüssigkeiten aller untersuchten Wollzitzenstifte, Darmsaitenstifte und Verweilröhrchen wurden im Gegensatz zu den vierten

Tab. 4: Wiederfindungsrate und Korrekturfaktor nach der ersten Spülung bei je zwei Mustern der untersuchten Produkte nach Inokulation mit je etwa 1×10^2 Sporen von *Bacillus subtilis* var.niger

Produkt	1. Muster		2. Muster	
	Wiederfindungsrate (%)	Korrekturfaktor	Wiederfindungsrate (%)	Korrekturfaktor
Wollzitzenstift, in Vaseline	81	1,23	84	1,19
Wollzitzenstift, nicht in Vaseline	90	1,11	91	1,10
Dilatationsstift	87	1,15	91	1,10
BYKANULA® Verweilröhrchen	91	1,09	92	1,09

Tab. 5: Kulturbildenden Einheiten (KBE) und Anteil der Sporenbildner davon bei je drei Mustern der untersuchten Produkte

Produkt	KBE (davon Sporenbildner)		
	1.	2.	3. Muster
Wollzitzenstift, in Vaseline	1 (1)	3 (3)	11 (4)
Wollzitzenstift, nicht in Vaseline	28 (2)	25 (6)	30 (1)
Dilatationsstift	88 (1)	73 (1)	93 (5)
BYKANULA® Verweilröhrchen	1 (1)	< 2	< 2



Abb. 3: Auf Wollzitzenstiften (links), Darmsaitenstiften („Dilatationsstiften“) (Mitte) und BYKANULA® Verweilröhrchen (rechts) wurden Keime (koloniebildende Einheiten und Sporenbildner) nachgewiesen. Dilatationsstifte aus Schafdarf sind seit dem 1. April 2001 verboten, da von ihnen ein BSE-Risiko ausgeht.

**Auf Werbung verzichten,
um Geld zu sparen,
ist das gleiche
wie die Uhr anzuhalten,
um Zeit zu sparen.**

und fünften Spülflüssigkeiten Mikroorganismen nachgewiesen (Tab. 3). Daraus wurden die Wiederfindungsraten für die erste Spülung und die Korrekturfaktoren errechnet (Tab. 4).

Die Korrekturfaktoren wurden bei der nachfolgenden Keimzahlbestimmung berücksichtigt. Keimzahlbestimmung: In allen Mustern der Wollzitzenstifte und Darmsaitenstifte sowie in einem Muster der Verweilröhrchen wurden Keime (KBE und Sporenbildner) nachgewiesen (Tab. 5, Abb. 3).

Besprechung der Ergebnisse

Die Befunde der vorliegenden Untersuchung deuten darauf hin, dass NIT® Zitzenzäpfchen und SIMPL® Silikonimplantate steril sind, wohingegen im Handel befindliche Wollzitzenstifte, Darmsaitenstifte und Verweilröhrchen mit Keimen belastet sind. NIT® Zitzenzäpfchen und SIMPL® Silikonimplantate sind einzeln verpackt, was zum Erhalt der Sterilität Voraussetzung ist. Die untersuchten Wollzitzenstifte, Darmsaitenstifte und Verweilröhrchen sind nicht einzeln verpackt und somit nach Öffnen der Verpackung weiteren Verschmutzungen ausgesetzt.

Bei der Anwendung von Wollzitzenstiften, Darmsaitenstiften und Verweilröhrchen besteht somit die Gefahr, dass Keime in die Zitze eingeschleppt werden. In vorangegangenen Untersuchungen verursachten Wollzitzenstifte, Darmsaitenstifte und Verweilröhrchen stets innere Verletzungen der Zitze und erhöhten die Gefahr von Euterentzündung (Bleul et al. 2000; Querengässer et al. 1998; Seeh et al. 1997). Inwiefern jene Keime, welche durch Wollzitzenstifte, Darmsaitenstifte und Verweilröhrchen eingeschleppt werden zur Euterentzündung beitragen bedarf weiterer Klärung. Aufgrund der nachgewiesenen Gefahren ist die Anwendung von Wollzitzenstiften, Darmsaitenstiften („Dilatationsstiften“) und Verweilröhrchen („BYKANULA“, „Zitzenkanülen“) unser Auffassung nach wenig mit dem geforderten Tierschutz vereinbar. Die Anwendung von Dilatationsstiften aus Schafdarf ist seit dem 1. April 2001 verboten, da von ihnen ein BSE-Risiko ausgeht (Arzneimittel-TSE-Verordnung, BR-Drs 193/01). Mit NIT® natürlichen Zitzenzäpfchen und SIMPL® Silikonimplantaten stehen ausreichend Alternativen zur Verfügung.

Literatur

1. BLEUL, U., C. SEEH, J. P. TEIFKE, R. HOSPES und H. BOSTEDT: Resultate endoskopischer, sonographischer und histologischer Untersuchungen an der Zitzenzisternenschleimhaut des Rindes nach Behandlung mit Wollzitzenstiften. *Prakt. Tierarzt* 81, 590-601 (2000).
2. DAB. Deutsches Arzneibuch, 10. Ausgabe zur Fortsetzung und Europäisches Arzneibuch 1997, mit Nachtrag. Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart (1999).
3. DIN EN und DIN ISO Normen, Beuth Verlag, Berlin (1996).
4. QUERENGÄSSER, K., T. GEISHAUSER, C. HÖPTNER, M. MEDL und F. TRADATI: Wirkung von Wollzitzenstift oder Verweilröhrchen auf die Eutergesundheit. *Prakt. Tierarzt* 79, 861-866 (1998).
5. SEEH, C., R. SCHLENSTEDT, K. H. STENGEL, T. GEISHAUSER, K. FAILING, M. ZSCHÖK und H. BOSTEDT: Prüfung eines neuartigen Strichkanalstabes zur Behandlung von Strichkanalwunden unter besonderer Berücksichtigung der endoskopisch dokumentierten Schleimhautverträglichkeit im Vergleich zu konventionellen Zitzenstiften und Verweilkanülen. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 104, 277-284 (1997).
6. USP. United States Pharmacopoeia. www.usp.org

Anschrift der Verfasser: Thomas Geishauser Dr. med. vet., FTA, Dr. habil., MSc, Department of Population Medicine, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada. E-Mail tgeishau@uoguelph.ca