

Workshop 5: Wirkungskontrolle der Melkzeugzwischeninfektion mit PES

Frau I. Model

Das Ziel einer Melkzeugzwischeninfektion, weitgehende Abtötung mastitisrelevanter Keime, kann nur erreicht werden, wenn alle erforderlichen Bedingungen gegeben sind.

Es ist Aufgabe der Beratung in den Milcherzeugerbetrieben Unzulänglichkeiten, die eine wirksame Desinfektion verhindern, aufzudecken und abzuändern.

Bei allen Möglichkeiten zur Melkzeugzwischeninfektion müssen folgende technischen Gegebenheiten gesichert sein:

- eine sichere Trennung der milchführenden Teile,
- eine dem Desinfektionsmittel angepasste Einwirkzeit,
- eine gute Benetzung der Zitzengummiflächen,
- die verwendeten Materialien und Bauteile müssen so korrosionsfest sein, dass sie durch die eingesetzten Desinfektionsmittel nicht geschädigt werden.

Je nach Melkanlage kommen folgende technische Lösungen in Frage:

- Tauchen in Eimer oder Wannen,
- Einsprühen in Zitzengummis mittels transportablem Sprühgerät oder mit im Melkstand installierter Sprüheinrichtung (Dipp-Sprühanlage),
- Airwash-Anlage,
- Backflush-Anlage,
- Pulsasept-Anlage,
- Lely-Wash
- Labu-Total (mit Desinficin CL zu betreiben, hier nicht beschrieben).

(Die Funktion der Systeme ist in der WGM -Homepage - AG Hygiene - nachzulesen)

Entscheidend für den Desinfektionserfolg ist der Einsatz eines Desinfektionsmittels, das folgende Bedingungen erfüllt:

- Es soll schnell wirken (< 1Minute), weil nur die Zeit des Tierwechsels zur Verfügung steht.
- Seine Wirkung soll das breite Spektrum der euterpathogenen Keime erfassen.
- Es soll für das Lebensmittelbereich zugelassen sein.
- Es soll die Umwelt nicht mit zusätzlichen Schadstoffen belasten.
- Hinsichtlich Kosten soll es vertretbar sein.

Diese Kriterien erfüllt der Wirkstoff Peroxyessigsäure (PES) am besten. In mehr als 40 Jahren Anwendung in der Human- und Veterinärmedizin, sowie in der Getränke- und Milchindustrie hat die Peressigsäure bewiesen, dass sie bei sachgemäßer Anwendung diese Anforderungen erfüllt. Ihre umfassende mikrobizide und extrem schnelle Wirkung ohne Resistenzbildung für alle Mikroben im Temperaturbereich von 4 bis 37 °C ist vielfach nachgewiesen. PES bildet keine toxischen Rückstände, weil bei ihrer Anwendung ein Zerfall in Aktivsauerstoff, Wasser und in schwache Essigsäure zustande kommt. Deshalb ist ihre Anwendung auch im Lebensmittelbereich zugelassen.

Als Nachteile wären zu nennen:

- Eisenhaltiges Wasser beeinflusst die Wirkung negativ.
- Organische Bestandteile (Kot, Milch) beschleunigen den Abbau.
- PES hat eine korrodierende Wirkung auf unedle und Buntmetalle.
- Die Gefahr der Brennbarkeit und Explosion ist je nach Typ der PES bei dem Epoxidierungstyp groß bzw. Desinfektionstyp nicht vorhanden.
- Die Sicherheitsvorschriften für Säuren sind streng einzuhalten.

Mittel, die einen hohen Anteil von PES enthalten, können in vorgeschriebenen Kanistern vorverdünnt werden. Bei Lagertemperaturen unter 10°C ist dieses Gemisch im verschlossenen Anwendungskanister etwa 4Tage brauchbar. Im Handel werden PES-Produkte mit einem Anteil reiner Peressigsäure in der Varianz von 5% bis 40% angeboten. In allen Produkten ist ein Anteil von 5% bis 30% Wasserstoffperoxyd enthalten. Dieser Anteil Wasserstoffperoxyd sichert die Stabilität der Lösung, kommt aber bei kurzer Einwirkungszeit und geringer Konzentration als Desinfektionswirkstoff kaum zur Wirkung.

Anwendungsempfehlungen

Für eine sichere Abtötung von Mastitiserregern bei der Anwendung der Melkzeugzwischen-desinfektion bedarf es

- einer ausreichenden Menge von wirksamer Desinfektionslösung, die den Zitzengummi total benetzt, d.h. bei manueller Durchführung sollte im Schauglas die Flüssigkeit zu sehen sein.
- In Abhängigkeit von der zur Verfügung stehenden Einwirkungszeit und den noch vorhandenen Milchresten sollte folgender Anteil des Wirkstoffes PES in der Gebrauchslösung gesichert sein:

ohne Vorspülen	→	Einwirkungszeit mindestens 60 s	→	1200 ppm
mit Vorspülen	→	Einwirkungszeit mindestens 50s	→	1000 ppm
mit Vorspülen	→	Einwirkungszeit nur 40 s	→	1200 ppm



- beim Tauchen in Eimer oder Wannen ist die Lösung nach 1 bis 2 h (abhängig vom Verschmutzungsgrad) zu wechseln. Es sollten nur kaltes Wasser und Plastikeimer verwendet werden.

Abhängig vom Handelsprodukt können folgende Anwendungslösungen empfohlen werden:

Produktbeispiel	Gehalt an PES im Produkt	Empf. Anwendungslösung in % ≈1000 -1200 ppm	Auf 10 Liter Wasser Zugabe von
A	< 40%	0,25 – 0,30 %	25 – 30 ml
B	< 15%	0,65 - 0,80 %	65 – 80 ml
C	< 10 %	1,00 - 1,20 %	100 – 120 ml
D	< 5 %	2,00 – 2,40 %	200 – 240 ml

Eine gefahrlose und sichere Herstellung der Gebrauchslösung erreicht man durch den Einsatz von automatischen Dosierstationen. Sie sollten in großen Betrieben zum Standard gehören.

Um die Aggressivität der Peressigsäure gegenüber unedlen Metallen abzubauen, entwickelte die Firma Kesla Pharma die Pufferlösung alcapur E zum Wofasteril E 400 –als Wofasteril kombi im Handel. Die Gebrauchslösung in diesem Wofasteril - Kombiverfahren wird geruchlos und verliert ihre Aggressivität gegenüber unedlen und Buntmetallen. Alle guten Desinfektionseigenschaften der PES bleiben erhalten. Zu beachten ist, dass die Lösung nach 2-3 Stunden verbraucht sein muss. Für das Gemisch werden 10 Liter Wasser mit 90 ml alcapur E und 30 ml Wofasteril E 400 gemischt.

Kontrolle der Wirksamkeit

Aufgabe der Beratung ist es, die oben angegebenen Grundlagen in 3 Schritten zu prüfen:

- die technische Funktionssicherheit,
- die chemische Wirksamkeit,
- Nachweis der Desinfektionswirkung mit Hilfe von Tupferproben.

1. Technische Funktionssicherheit

1.1 Manuell durchgeführte Melkzeugzwischeninfektion

Bei manuell ausgeführter Zwischeninfektion (Sprühen, Tauchen) ist wie oben angegeben die ausreichende Benetzung der Sitzgummis, die Einwirkzeit der Desinfektionslösung und die chemische Wirksamkeit in einem Protokoll festzuhalten. Der Unsicherheitsfaktor ist in diesem Fall der Bediener.



1.2 Technische Anlagen zur Melkzeugzwischendesinfektion

Abhängig vom System der jeweiligen Firma sollte geprüft werden:

Backflush-System

- die Einzelmengen der Spülflüssigkeit pro Melkzeug auf jedem Melkplatz;

Vorgabe für Vorspülen	Vorgabe für Desinfektion	Vorgabe für Nachspülen
400 ml mindestens, ohne Nachspülung 500 - 600 ml	400 ml mindestens, ohne Nachspülung 500 ml	200 ml oder bei Zeitmangel nur Ausblasen

- Die Konzentration der Desinfektionslösung: 1000 -1200 ppm PES. Zur Kontrolle der Funktion sind auch stichprobenweise die Vor- und Nachspülflüssigkeiten auf PES - Gehalt zu testen.
- Die Einwirkzeit der PES - Lösung vor dem Nachspülen soll möglichst 60 Sek. betragen.
- Durch Erhöhung der Konzentration kann das Defizit an Zeit nicht vollständig ausgeglichen werden.
- Durch Weglassen des Nachspülens und anschließendes Ausblasen kann insbesondere im Karussell ein Zeitgewinn erreicht werden.
- Die Höhe der Druckluft ohne Abnehmer sollte bei 3 - 6 bar liegen; während der Desinfektion ist darauf zu achten, dass der Überdruck nicht unter 2,5 bar absinkt. Es ist ebenso auf einen ausreichenden Wasserdruck zu achten.

Airwash-System:

Es arbeitet ohne Vor -und Nachspülung. Aus einem zentralen Behälter wird die angesetzte Desinfektionslösung in 3 bis 11 Stößen (wählbar) mit Druckluft durch dünne Spülschläuche mit kleinen Injektoren in die Zitzengummis gedrückt.

Geprüft werden sollte:

- die Menge der Spülflüssigkeit auf jedem Melkplatz. Sie sollte 800 ml im Gesamtelkzeug betragen und in 10-11 Schüben durchgedrückt werden.
- Wasserhärte sollte nicht > 20° dH liegen (Injektorenfunktion ist gefährdet).
- Die Einwirkzeit ist in der Regel mit > 60 s gegeben, da hier kein Nachspülen erfolgt.
- Da die Steuerventile nicht säurefest sind, sollte das Airwash nur mit Wofasteril –Kombi- lösung oder Desinficin Cl betrieben werden. Die Desinficin Cl -Lösung sollte 0,5 % ig verwendet werden. Bei Anwendung der Wofasteril kombi Lösung ist die Konzentration mit 1200 ppm PES ausreichend. Dazu ist die automatische Zweikomponenten-Dosierstation zu empfehlen.

Pulsasept-Anlage

Das System ist ausschließlich für FGM – und Side by Side –Melkstände konzipiert. Es ist modular aufgebaut und für drei Verfahren einsetzbar. In der Maximalvariante wird es mit Wasser, Peressigsäure-kombi-Lösung und Druckluft betrieben. Zeiten und Flüssigkeitsmengen können wie beim Backflush nach Wunsch programmiert werden. Zum Backflush unterscheidet es sich nur dadurch, dass die Flüssigkeit nicht über den langen Milchschauch sondern am Milchsammelstück über die kurzen Milchschräuche die Zitzengummis desinfiziert.

Kontrolliert werden sollte:

- Flüssigkeitsmenge: Vorspülen + Desinfektion sollte mindestens 800 ml pro Melkzeug betragen;
- PES-Anteil in der Desinfektionslösung Wofasteril kombi: 1200 ppm
- Wasserdruck: stabil 3-6 bar ist Voraussetzung für eine gleichbleibende Dosierung des Desinfektionsmittels (Proportionaldosierer) , pH-Wert 7 – 9,.
- Druckluft: 6 bar in Ruhestellung, während des Betriebes sollte sie nicht < 3 bar absinken.
- Einwirkzeit der Wofasteril kombi-Lösung: 50 s;
- Anzahl der Spülstöße : 6

2. Prüfung der chemischen Wirksamkeit der PES - Lösung

2.1 Schnellbestimmung mittels Merck – PES –Teststäbchen

Analysestäbchen sind im geschlossenen Röhrchen bei +2 bis +8°C aufzubewahren.

Der pH-Wert der zu messenden Lösung sollte zwischen 2 – 10 liegen.

- Merckoquant Peressigsäure-Test 1.179 22.0001 – (500 – 2000 mg/l = ppm) 2 Sekunden in die zu prüfende Gebrauchslösung tauchen, leicht abschütteln, 30 Sekunden warten, Färbung der Reaktionszone einem Farbfeld auf der Farbskala der Packung zuordnen und den dazugehörigen Messwert auf der Farbskala der Verpackung ablesen.

Oder bei niedrigeren Konzentrationen:

- Merckoquant Peressigsäure-Test 1.10001.0001- Analysestäbchen (100-500 ppm)
Anwendung: Reaktionszone des Stäbchens ca 1 Sekunde in die Messprobe tauchen, überschüssige Flüssigkeit über die Längskante des Stäbchens ablaufen lassen und nach 10 Sekunden Farbvergleich auf der Packung (100 -500 ppm) durchführen,

Entspricht die Reaktionszone einem Farbfeld auf der Packung, dann liegt die Konzentration der Lösung unter 500 ppm = zu niedrig für Melkzeugzwischen-desinfektion. Ist die Färbung des Teststreifens dunkler als die Vergleichsfelder auf der Packung, wird die Gebrauchslösung im Verhältnis 1:1 mit Wasser verdünnt (z. B.100 ml Lösung mit 100 ml kaltem Wasser) und erneut mit der Farbskala verglichen. Der auf der Packung abgelesene Wert ist mit 2



zu multiplizieren. Ist diese Farbe noch zu dunkel 200 ml Wasser mit 100 ml Lösung verdünnen, den abgelesenen Wert mit 3 multiplizieren. ...usw.

2.2 Titration der PES - Konzentration in Gebrauchslösung

Benötigtes Material:

1 Stck. 100 ml Messzylinder :
1 Stck. 50 ml Messzylinder
1 Stck. 250 ml Erlenmeyer-Kolben
2 Stck. 10 ml Messpipetten
1 Stck. 10 Liter Eimer

Reagenzien:

Schwefelsäure 0,25%ig
0,1 N Kaliumpermanganat
10%ige Kaliumjodidlösung
0,1 N Natriumthiosulfat

Durchführung:

Aus der Gebrauchslösung werden 10 ml mit 90 ml Leitungswasser verdünnt und in den Erlenmeyerkolben gegeben. Dazu gibt man mit der Messpipette 10 ml 25%ige Schwefelsäure. Anschließend wird tropfenweise Kaliumpermanganatlösung unter Umschütteln zugegeben bis eine helle rosa Färbung stabil verbleibt. Danach werden der Lösung 10 ml Kaliumjodidlösung zugegeben. Es tritt eine gelb-braune Färbung ein. 0,1 N Natriumthiosulfatlösung wird nun aus der Messpipette langsam eingetropft bis die gelb-braune Färbung verschwunden ist. Dabei ist der Erlenmeyerkolben ständig zu bewegen.

Berechnung:

Verbrauch 0,1 N Natriumthiosulfat in ml x Faktor 38 x 10 = ppm PES in der Lösung.

Beispiel: Verbrauch 2,7 ml Natriumthiosulfat x 38 x 10 = 1026 ppm PES in der Lösung

3. Mikrobiologischer Nachweis der Wirksamkeit der Melkzeugzwischen-Desinfektion

Ziel:

Es soll festgestellt werden, ob die angewandte Desinfektionsmaßnahme Keime weitgehend abtötet.

Material:

Pro Melkzeug werden zwei sterile mit Amies-Transportmedium versehene Tupfer und dazu gehörende Transportröhrchen entsprechend beschriftet: Tupfer 1 = vor der Desinfektion; Tupfer 2 nach der Desinfektion.

Methode:

Unmittelbar nachdem das Melkzeug vom Euter abgenommen wurde, nimmt man mit dem Tupfer 1 mit leichtem Druck aus jeden der 4 Zitzengummis je eine Runde im Schaft ab und steckt den Tupfer wieder in das Transportröhrchen. Der Tupfer 2 wird, nachdem die



Zwischendesinfektion erfolgt ist, kurz vor dem Ansetzen an das nächste Euter, (Mindesteinwirkzeit berücksichtigen) am selben Melkzeug in der gleichen Weise eingesetzt. Dabei sollte beachtet werden, dass bei Tupfer 1 die Verschlusskappe des Tupfers auf der Zitzengummikopfföffnung lang geführt wird. Bei Tupfer 2 sollte der Plastikstab 1cm über dem Zitzengummirand herausragen, damit ein Doppelabstrich auf gleicher Fläche vermieden wird. Die Proben sollten gekühlt transportiert und gelagert werden. Zwischen Probenahme und Untersuchung dürfen nicht mehr als 24 Stunden liegen.

Laboruntersuchung:

Als Nährboden wird 1 Platte Blutagar mit Äskuli- Zusatz verwendet. Tupfer 1 zuerst auf eine halbe Platte mäanderförmig in etwa 12 Impfstrichen aufbringen. Tupfer 2 auf gleiche Weise auf die andere Hälfte der Platte ausstreichen. Bebrütung 24 Stunden bei 37 °C.

Die **Auswertung** erfolgt nach Gesamtkeimzahl und gegebenenfalls differenziert nach Keimgruppen. Es wird gegenübergestellt:

- Wachstum der Keime aus Tupfer 1 (unmittelbar nach dem Melken) zu
- Wachstum der Keime aus Tupfer 2 (nach der Zwischendesinfektion).

Tupfer 1, die kein Wachstum ausweisen, werden von der Auswertung ausgeschlossen.

Beurteilung des Wachstums: = Beurteilung des Desinfektionserfolges

Keine Kolonien	=	sehr gut	(-)
Bis 30 Kolonien	=	gut	(+)
30 bis 100 Kolonien	=	mäßig	(++)
mehr als 100 Kolonien	=	ungenügend	(+++)

Die Desinfektion gilt als ausreichend, wenn 90% der Proben aus den Tupfern 2 (nach der Desinfektion) sehr gute und gute (- oder +) Ergebnisse aufweisen.