

# Tierärztliche Umschau

Zeitschrift für alle Gebiete der Veterinärmedizin

Terra-Verlag · Postfach 12 22 · 7750 Konstanz

---

Von der Forschungsgruppe Fertilität an der Besamungsstation Herberlingen  
und Besamungsstation Herberlingen e.V.

## Progesteronbestimmung als Hilfsmittel der Brunstkontrolle

von K.-I. Arnstadt und Anne-Rose Fischer-Arnstadt

(4 Abbildungen, 4 Tabellen, 37 Literaturangaben)

### Einleitung

Fruchtbarkeitsstörungen beim Rind stehen heutzutage nach Frey und Berchtold (1983) bei den Ausmerzgründen an erster Stelle und nehmen nach Lotthammer (1984) den gleichen Rang bei den wirtschaftlichen Verlusten von Milchproduktionsbetrieben ein. Seit den ersten Faktorenanalysen von Bozworth u. Mitarb. (1972), Williamson u. Mitarb. (1972) und Esslemont (1973) ist bekannt, daß Fruchtbarkeitsprobleme scheinbar sein können und zum Teil lediglich bei der Brunsterkennung zu suchen sind. Die Bedeutung der Brunsterkennung für die künstliche Besamung ist unbestritten – zahlreiche vorhandene und in der Entwicklung begriffene Hilfsmittel zur Brunsterkennung belegen das. Das am häufigsten eingesetzte und beste »Hilfsmittel« bei uns ist jedoch nach wie vor »das Auge eines geübten Beobachters« (Grunert, 1982). Dieses kann sich bekanntlich aus verschiedenen Gründen täuschen oder gar blind sein. Es sei an die Beispiele der Stillbrünstigkeit und an die mitunter für den Tierhalter schwierige Unterscheidung der Scheinbrunst von einer Brunst mit schwach ausgeprägten Brunstsymptomen erinnert. Aus diesen Gründen ist eine objektive Möglichkeit gefragt, die Brunstbeobach-

tung zu kontrollieren. Eine solche Möglichkeit bietet sich mit Methoden der Progesteronbestimmung an, die auch wegen der Einfachheit der Probenahme im Fall von Milchproben zunehmendes Interesse finden.

### *Material und Methoden*

Das für eigene Auswertungen und Beispiele herangezogene Probenmaterial stammt von Milchproben, die aus Praxisbetrieben Baden-Württembergs im Rahmen eines Fertilitätsdienstes in das Progesteronlabor der Besamungsstation Herbertingen eingesandt wurden (Fischer & Arnstadt, 1982 und 1983; Arnstadt & Fischer-Arnstadt, 1984 a und b). Die Progesteronbestimmungen erfolgten mit Hilfe eines direkten Enzym-Immuntests (EIA) ohne Probenextraktion (Arnstadt & Schmidt-Adamopoulou, 1982; Arnstadt, 1983). Die hierfür benutzten Reagenzien (Hormonost®) wurden von Fa. Biolab, München bezogen. Die photometrische Messung bei  $\lambda = 492$  nm erfolgte m.H. des Photometers PCP 6121 mit On-line-Auswertung der Fa. Eppendorf, Hamburg und Techn. Büro München.

Der Methodenvergleich zweier verschiedener Progesteronbestimmungsverfahren im Praxiseinsatz von Routinelabors der Tabelle 4 erfolgte über den Zeitraum von insgesamt ca. 4 Monaten im »Doppelblindversuch«, d. h. keinem der beiden Untersuchungslabors war das Ergebnis des anderen Labors bekannt, noch waren sie vorher von dem Versuch unterrichtet worden. So wurde eine Untersuchung der Proben im normalen Routinebetrieb gewährleistet. Von Nachgemelksproben wurden nach gründlichem Mischen ca. 0,5–1 ml für den EIA-Direkttest (Progesteronlabor der Besamungsstation Herbertingen) und ca. 5–8 ml für den RIA-Milchfett (Tiergesundheitsdienst Bayern in Grub; Methode Claus & Rattenberger, 1979) entnommen und zur Untersuchung gegeben bzw. eingeschickt.

### *Ergebnisse und Diskussion*

#### *I. Anteil falscher Brunstbeobachtungen*

Die Aussage von Meßergebnissen einer Progesteronbestimmung ist denkbar einfach: Stammt die Milchprobe von einer brünstigen Kuh, muß der Progesterongehalt äußerst niedrig, weniger als 3 ng/ml Milch, sein. Andernfalls, bei einem hohen Progesterongehalt, kann es sich nicht um eine echte Brunst gehandelt haben. Mit Hilfe solcher Progesteronmessungen kann man also den Anteil unrichtiger Brunstbeobachtungen ermitteln. Wie groß ist dieser?

In der Praxis des Progesteronservice der Besamungsstation Herberlingen wurden hierfür 20% ermittelt (Fischer-Arnstadt & Arnstadt, 1984 b). Allerdings wäre es sicher falsch anzunehmen, 20% der KB in der Besamungspraxis – nach anderen Autoren 25–30% (Rattenberger & Richter, 1983) – würden während der Lutealphase vorgenommen werden. Ein solcher Prozentsatz Lutealphasenbesamungen hätte die Besamungspraxis vermutlich längst ruiniert. Dieser relativ hohe Anteil ist Ausdruck einer sinnvollen Selektion der eingesandten Proben hinsichtlich Problemtiere und Problemfälle, wo die Brunstsymptome nicht eindeutig waren. Hierauf hatte Günzler bereits 1976 hingewiesen.

Der tatsächliche Durchschnittswert falscher Brunstbeobachtungen (und Besamungen) liegt wesentlich niedriger. Hierfür wurde in einer wissenschaftlichen Untersuchung über die Besamungspraxis in süddeutschen kleinbäuerlichen Betrieben ein Anteil von 5,5% ermittelt (n = 290; 105 Betriebe) (Fischer & Arnstadt, 1982). Ein ähnliches Ergebnis um 6% wurde unter norddeutschen Praxisbedingungen gefunden (Rinderbesamung Holstein, 1976). Die Zusammenstellung einiger Ergebnisse sowohl von Versuchen als auch aus der Praxis von Progesteronservice-Labors in Tabelle 1 zeigt, daß bei statistisch gesicherten Erhebungen in Praxisbetrieben mit verschiedenen Rassen und in verschiedenen Zuchtgebieten stets ein Anteil um 5–6% Lutealphasenbesamungen berichtet wird (Tab. 1, Ergebnisse 1, 2, u. 4).

Dieser Anteil wurde auch bei Herden von Versuchsgütern gefunden (Tab. 1, Ergeb. 3 u. 5). Da dort in der Regel eine personell günstigere Ausstattung als bei Praxisbetrieben und damit die Möglichkeit intensiverer Brunstbeobachtung vorhanden ist, hätte eine noch niedrigere Fehlbesamungsquote vermutet werden können. Fünf bis sechs Prozent dürften also optimal sein und nur von sehr geübten Besamungsbeauftragten und bei sorgfältiger Ausführung der Besamung erreicht werden.

Für durchschnittliche Bedingungen der Besamungspraxis liegt der Anteil der Fehlbesamungen aufgrund falscher Brunstbeobachtungen sicherlich höher. Er wird sich zwischen 5% und 20% bewegen. Angaben um 10–12% (Kräusslich, 1980), d. h. doppelt so viele Fehlbesamungen als unter günstigen Bedingungen, werden als sehr realistisch angesehen. Wenn auch noch nicht im einzelnen untersucht, wird es hier eine Abhängigkeit von der Jahreszeit, Haltungform und Organisation des Besamungsdienstes

Tabelle 1: Brunstkontrolle: Zusammenstellung einiger Versuchs- und Praxisergebnisse

| Quelle (Institution bzw. Autoren)  | Zeitraum der Erhebung<br>bzw. Publikationsjahr | Anteil falscher<br>Brunstbeobachtungen              |
|--|--|---|
| <i>Versuchsergebnisse</i>  |  |   |
| 1. Rinderbesamung Holstein, Schönböken   | Winter 1975/76                                 | 6,2% (n = 355; 23 Betriebe)                         |
| 2. Royal Vet. u. Agric. University Copenhagen; Henriksen, Andersen, Nielsen, Pedersen und Koefoed-Johnsen, 1981  | 1979 – 1981                                    | 4,5% (n = 1090; 47 Herden)                          |
| 3. TU München-Weihenstephan;<br>Claus, Karg, Rattenberger und Pirchner, 1982   | 1982   | 5,2% (n = 297; 2 Herden)                            |
| 4. Besamungsstation Herbertingen; Fischer und Arnstadt, 1982   | Sommer 1982                                    | 5,5% (n = 290; 105 Betriebe)                        |
| 5. Institut für Tierzucht und Tierhygiene der Universität München;<br>Frahm und Osterkorn  | 1983   | 7,0% (n = 100; 1 Herde)                             |
| <i>Praxisergebnisse</i>  |  |   |
| 6. Besamungsverein Neustadt a.d. Aisch und Tiergesundheitsdienst Bayern in Grub; Günzler, 1976   | Nov. 1975/Sept. 1976                           | 26% (n = 317)                                       |
| 7. Besamungsstation Bütschwil, Schweiz. Verband f. künstl. Besamung u. Inst. f. Zuchthygiene d. Universität Zürich; Thun, Eggenberger, Zerobin, Summermatter, Flückiger und Gaillard | Jan. – Juli 1978                               | 15% (n = 753)<br>(zusätzl. 6% fraglich)             |
| 8. Tiergesundheitsdienst Bayern in Grub; Rattenberger und Richter, 1983  | 1979 – 1982                                    | 25 – 30%<br>(Doppelproben test Tag 0/6<br>11 – 15%) |
| 9. Besamungsstation Herbertingen; Fischer und Arnstadt, 1984, b  | 1983/84  | 20% (n = 1122)                                      |

geben, welche die tatsächlich m.H. von Progesteronbestimmungen ermittelte Fehlbesamungsquote nach oben oder unten verschieben kann. So wurden z. B. vom Rheinischen Verband für Schwarzbuntzucht nur 7,8% Lutealphasenbesamungen aus der Praxis eines Progesteronlabors berichtet trotz der sicherlich auch hier größeren und für den Gesamtdurchschnitt nicht repräsentativen Erfassung von Problemfällen (Monate Mai bis September; Lehen, 1984).

## II. Brunstbeobachtung richtig – aber nicht optimaler Besamungszeitpunkt

Eindeutig ist die Aussage der Brunstkontrolle bei hohen Progesteronwerten, bei niedriger Progesteronkonzentration dagegen nicht. Sehr niedrige Progesteronkonzentrationen in der Milch (oder im Blutserum) können außer »Brunst« auch noch »kein Zyklus« oder »Follikel-Thekazyte(n)« oder auch »Follikelatresie« bedeuten. Selbst auf den Brunstzeitraum beschränkt, ist die Aussage »Brunst« nur mit einer Trefferquote von etwa 1:5 richtig, da die Brunst bekanntlich ca. 1,5 Tage, das Progesterontal aber 4–7 Tage dauert (Abb. 1). Während dieser Zeit zwischen den Zyklen verläuft der Progesteronspiegel unterhalb der im Routinetest gebräuchlichen Meßgrenze, gleich welche Bestimmungsmethode benutzt wird, wie z. B. Milchfett-RIA, Milchfett-EIA oder Milch-Direkttest (EIA). Eine exakte Brunstkontrolle durch eine Progesteronbestimmung ist daher für diesen Zeitraum von einigen Tagen

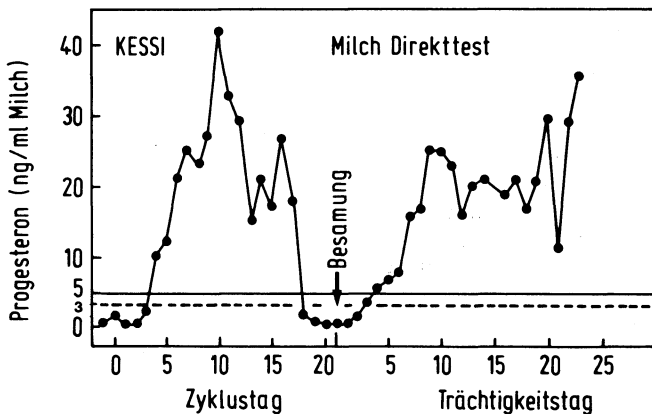
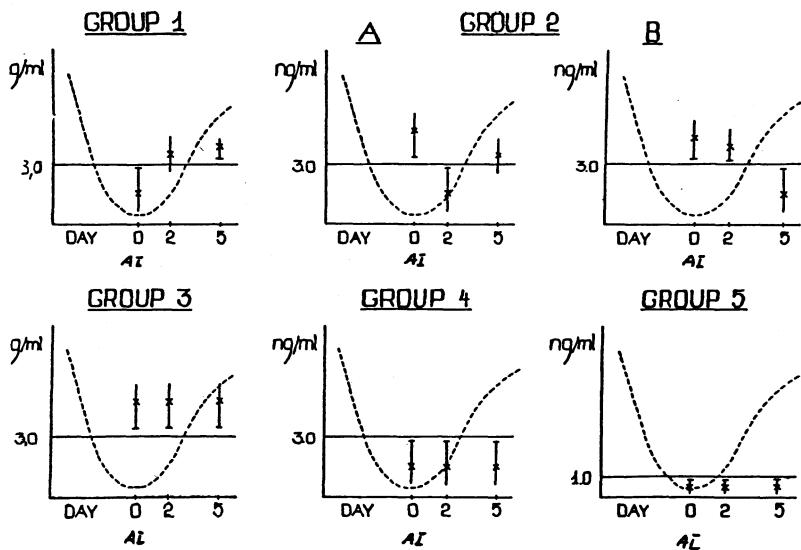


Abb. 1

»Progesterontal« mit Besamungszeitpunkt bei Zyklus mit anschließender Trächtigkeit (Beispiel der Kuh »Kessi«).

nicht möglich – es sei denn, man erreicht mit der Messung entweder zufällig das Ende des Abfalls oder den Beginn des Anstiegs eines Progesterongipfels. Die Chance dieses zufälligen Findens kann durch 3-malige Probennahmen in Abständen von 2–3 Tagen erhöht werden. Bei derartigem Vorgehen haben *Koefoed-Johnsen u. Mitarb.* um 1980 von ca. 1100 Besamungen in Dänemark 3,9% gefunden, wo die Beobachtung einer Brunst im Prinzip richtig, der Besamungszeitpunkt aber nicht optimal, nämlich zu früh war (Abb. 2; *Henriksen u. Mitarb.*, 1981) Bei einer Erhebung über die Besamungspraxis in Süddeutschland wurden mittels Progesterontest 4,5% verfrühte Besamungen einschließlich verzögerte Ovulationen gefunden ( $n = 290$ ; *Fischer & Arnstadt*, 1982). *Haug & Claus* (1983) ermittelten 24,4% ( $n = 311$ ) Frühbesamungen.

Wie stellt sich dieses Problem der verfrühten Besamung in der Praxis des Herbertinger Progesteronservice dar, wo zur Kontrolle des Besamungserfolges die Tage 0, 7 und 19 für die Probennahme empfohlen werden (Abb. 3). Bei der verfrühten Besamung verschiebt sich wegen der unrichtigen Tagesbezifferung der Progesteronzyklus um die betreffende Zeit, d. h. 1–2 Tage (Abb. 4). Am Tag 7 wird daher in diesem Fall ein Progesteronwert unter dem des Normalbereichs gemessen, und am Tag 19 ist er auch bei erfolgloser Besamung hoch. Die nächste Brunst wird – zu frühe Besamungen sind häufig erfolglos – erst am Tag 22–23 beobachtet. Hierzu einige Beispiele von eingesandten Proben (Tab. 2). In manchen Fällen war die verfrühte Besamung an erhöhten Progesteronwerten des Besamungstages 0 erkennbar (Tab. 2, I und II). In Fällen des Abschnittes I, Kühe Asta und Fella, konnten die Tierhalter aufgrund des Progesteronergebnisses bereits am nächsten Tage gezielt nach Brunstsymptomen suchen und eine Nachbesamung vornehmen. Verfrühte Besamungen treten bei uns in den letzten Jahren weitaus häufiger als verspätete Besamungen auf. Bei Rückmeldung von Progesteronergebnissen an den Tierhalter sollte man jedoch auch an die Möglichkeit der verspäteten Besamung denken (Tab. 2, I; *Gitte, Olga*). Eine Auswertung von Fällen zu früh erfolgter Besamungen wurde von uns vorgenommen, wenn mindestens 3 Proben zu dieser Besamung eingeschickt wurden: Von 34 Kühen wurden 4  $\hat{=}$  12% trächtig; 30  $\hat{=}$  88% kamen wieder in Brunst (Tab. 2, II). Der Tag 7 eignet sich oft zum Nachweis von verfrühten Besamungen, auch wenn der Progesteronwert des Tages »0« bereits im Progesterontal liegt und keinen Hinweis darauf gibt (Tafel 2, III). Eine klare Abgrenzung der verfrühten Besamung aufgrund



| GROUP | INSEMINATIONS |       | PREGNANCIES |      |
|-------|---------------|-------|-------------|------|
|       | NUMBER        | %     | NUMBER      | %    |
| 1     | 723           | 66.3  | 335         | 46.3 |
| 2     | 43            | 3.9   | 8           | 18.6 |
| 3     | 49            | 4.5   | 3           | 6.1  |
| 4     | 220           | 20.2  | 56          | 25.5 |
| 5     | 55            | 5.1   | 1           | 1.8  |
| ALL   | 1,090         | 100.0 | 403         | 37.0 |

- Group 1 : Cows in oestrus at AI
- Group 2A,B : Cows in prooestrus ( or too early in oestrus) at AI
- Group 3 : Cows in luteal phase or pregnant at AI
- Group 4 : Cows with prolonged oestrus, delayed ovulation or corpus luteum formation, cysts, or in anoestrus at AI
- Group 5 : Cows acyclical at AI

Abb. 2

Genauigkeit der Brunsterkennung bei Milchkuhherden mit Hilfe der Progesteronmessung von Milchproben (Koefoed-Johnsen et al. 1981).

Table Distribution of inseminations and pregnancies in the five groups

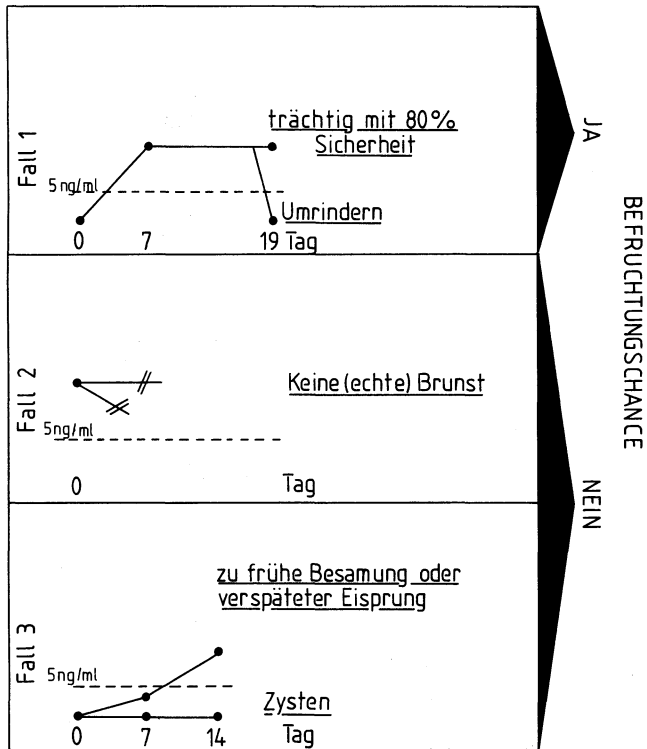


Abb. 3  
Herbertinger Modell eines Fertilitätsdienstes auf der Basis  
eines Milchprogesterontests.

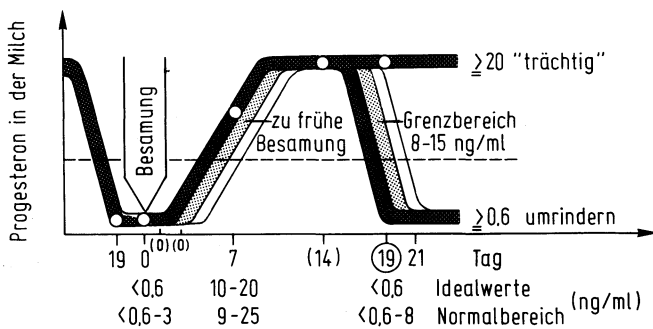


Abb. 4  
Progesteronverlaufskurve bei termingerechter und  
verfrühter Besamung (Konzentrationsangaben in ng/ml).



Tabelle 2: Nachweis von verfrühten Besamungen anhand verschiedener Kriterien  
(Beispiele von Proben eines Progesteronservice für die landwirtschaftlich-tiermedizinische Praxis)

I. Beurteilung anhand des Besamungszeitpunktes

|         |     |           |     |                           |
|---------|-----|-----------|-----|---------------------------|
| Fränzel | T 0 | 5,7 ng/ml | T 7 | < 0,6 ng/ml               |
| Else    | T 0 | 1,6 ng/ml | T 3 | < 0,6 ng/ml; Nachbesamung |
| Asta    | T 0 | 5,2 ng/ml | T 1 | Nachbesamung              |
| Fella   | T 0 | 4,2 ng/ml | T 1 | 0,8 ng/ml                 |

aber zu späte Besamung

|       |     |           |     |            |
|-------|-----|-----------|-----|------------|
| Gitte | T 0 | 5,2 ng/ml | T 2 | 10,3 ng/ml |
| Olga  | T 0 | 4,9 ng/ml | T 1 | 13,7 ng/ml |

II. Beurteilung anhand von Progesteronmessungen an 3 Tagen (Tag 0, 7 u. 19–23)

| Kuhname | Tag 0: 1,5–5 ng/ml<br>T 0 | 7: < 10 ng/ml<br>T 7 | Tag 19: > 5 ng/ml<br>weitere Tage | Umrindern nach T 21       |
|---------|---------------------------|----------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| Gretel  | 1,6 ng/ml                 | 4,6 ng/ml            | T 14 30,9 ng/ml                   | T 23 = T 0 < 0,6 (Brunst) |
| Froni   | 4,1 ng/ml                 | 6,6 ng/ml            | T 21 19,0 ng/ml                   | umgerindert               |
| Gundel  | 2,6 ng/ml                 | 7,2 ng/ml            | T 19 11,4 ng/ml                   | umgerindert               |
| Alster  | 1,4 ng/ml                 | 6,3 ng/ml            | T 19 9,5 ng/ml                    | umgerindert               |

ausgewertet: n = 34; erneut in Brunst n = 30 (88%); trächtig n = 4 (12%)

III. Beurteilung anhand der Progesteronwerte von Tag 7

|        | Tag 0: < 0,6 ng/ml | Tag 7: < 10 ng/ml | Umrindern nach T 21     |
|--------|--------------------|-------------------|-------------------------|
| Forche | T 0 < 0,6          | T 8 7,7           | umgerindert             |
| Elvira | T 0 < 0,6          | T 7 8,8           | T 23 umgerindert        |
| Bea    | T 0 < 0,6          | T 7 7,0           | T 22 < 0,6 (Brunst)     |
| Elvira | T 0 < 0,6          | T 7 6,1           | T 19 22 ng; umgerindert |
| Fella  | T 3 < 0,6          | T 7 6,5 ng        | T 3 nachbesamt          |

nicht optimaler Brunsterkennung bzw. -terminierung von Fällen verzögerter Ovulation mit Hilfe von Progesteronbestimmungen ist allerdings nur bei erhöhten Werten des Tages »0« möglich.

### III. Brunsterkennung: Hilfestellung durch Brunstvoraus- sage im Fall erfolgloser Besamung

Bei verfrühter Besamung können also Progesteronwerte des Tages 0 – besonders in Kombination mit denen des Tages 7 – bereits die Information geben, das Tier wird mit (90%iger) Wahrscheinlichkeit umrindern, und zwar erst nach dem 21. Tag, da der Zyklus scheinbar verlängert ist. Der größte Teil der Proben – es sind über 50% – wird allerdings vom Tag 19 in unser Servicelabor eingesandt mit der Fragestellung »Brunstvorausgabe für den Fall erfolgloser Besamung«. Liegt der Progesteron Gehalt der Milchprobe von Tag 19 unterhalb eines bestimmten Grenzwertes (8 ng/ml), kann der Tierhalter am Tag 20 (oder 21) mit Hilfe der Information aus dem Service-Labor eine gezieltere und erfolgreichere Brunstbeobachtung vornehmen und somit auch stillbrünstige Tiere erfassen, die – je nach Autor – 20 bis über 40% Brunsten ausmachen (Kidder u. Mitarb., 1952; Dobson, 1978/81; Pirchner u. Mitarb., 1983; Foulkes u. Mitarb., 1982; Frahm & Osterkorn, 1983). Falls der Tierhalter trotz Brunstmeldung keinerlei äußere Brunstsymptome findet, kann er den Tierarzt zur Untersuchung und Nachbesamung rufen, der dann spätestens anhand einer gründlichen rektalen und vaginalen Untersuchung die Brunst bestätigen kann.

Die Brunstvorausgabe anhand von Proben des Tages 19 ist natürlich nur bei richtiger Wahl des vorherigen Besamungszeitpunktes zuverlässig. Hundertprozentig sicher ist sie am Tag 19 bei Progesteronwerten unterhalb 5 ng/ml. Infolge verfrühter Besamung bzw. verzögerter Ovulation, von Embryonal Tod oder andererseits von noch nicht voll eingespielter Luteotropie können sich die Progesteronwerte am Tag 19 in einem Grenzbereich befinden. Ein solcher Grenzbereich wurde in ähnlicher Weise für die Tage 20–24 mehrfach in Zusammenhang mit verschiedenen RIA-Techniken beschrieben (Heap u. Mitarb., 1973; Pennington u. Mitarb., 1976; Hofmann u. Mitarb., 1977; Thun u. Mitarb., 1980). Der Grenzbereich unseres Progesterontests für den Tag 19 wurde anhand von ca. 100 Proben untersucht. An der unteren Grenze des Bereiches von 8–16 ng/ml kamen ca. 80%, an der oberen dagegen weniger als 50% der Kühe erneut in Brunst (Tab. 3). (Es sei darauf hingewiesen, daß es sich bei

diesen Ergebnissen nicht um die eines wissenschaftlichen Versuchs mit tierärztlicher Kontrolle, sondern um eine Datenauswertung von Karteikarten handelt).

Tabelle 3  
Auswertung von Meßergebnissen bei Proben des Tages 19:  
Grenzbereich

| Bereich der Progesteronkonzentration (ng/ml Milch) | Anzahl gesamt (n) | Anteil erneut in Brunst (n) | (%) |
|--|-------------------|-----------------------------|-----|
| 15 – 16  | 24                | 11                          | 46  |
| 13 – 14  | 23                | 12                          | 52  |
| 11 – 12  | 17                | 12                          | 71  |
| 8 – 10   | 29                | 23                          | 79  |
| 8 – 16   | 93                | 58                          | 62  |

#### IV. Methodische Aspekte

Die Zusammenstellung der Beispiele von Tab. 2 u. 3 zeigt, daß es sinnvoll ist, nicht nur jeweils qualitativ die An- oder Abwesenheit von Progesteron zu messen und eine Ja/Nein-Aussage zu machen, sondern daß gerade die quantitative Analyse mit der Erfassung von Zwischenwerten differenzierte und weitergehende Aussagen ermöglicht. Die Unterscheidung von sehr niedrigem und niedrigem Progesteron-gehalt zur Erkennung von verfrühter Besamung (z. B. 0,6 ng/ml  $\triangleq$  Brunst und 3 ng/ml  $\triangleq$  verfrühte Besamung) oder die von wenig, etwas und viel Progesteron an Tag 7 liefert eine vielseitige Information, im letzteren Fall z. B. 3 ng/ml: Zystenverdacht; 5–7 ng/ml Corpus luteum vorhanden aber verfrühte Besamung; 15 ng/ml normale C.l.-Aktivität, keine verzögerte Ovulation, Trächtigkeitschance vorhanden.

Der Wert differenzierter Aussagen steht und fällt mit der Qualität des benutzten Testsystems. Die Präzision, Reproduzierbarkeit und vor allem Richtigkeit der Ergebnisse ist bei Verwendung verschiedener Testsysteme sicher unterschiedlich. Selbst bei gleichen Testsystem-Namen, z. B. RIA oder EIA, gibt es je nach Quelle und Hersteller bekanntlich Unterschiede. Der von uns benutzte EIA, ist – verglichen mit seinem RIA-Vorgänger auf dem Gebiet des Praxis-einsatzes in Deutschland – ein etwas schnellerer Test, da Ergebnisse innerhalb weniger Stunden vorliegen (Yasuhara & Kleeberg-Ruppert, 1984). Er wird gelegentlich mit dem zeit- und arbeitsaufwendigeren Milchfett-RIA verglichen

(Hoedemaker u. Mitarb., 1984; Yasuhara & Kleeberg-Ruppert, 1984; Claus & Haug, 1984; Küster & Holtz, 1984). Ein weiterer Vergleich von Progesteronergebnissen, diesmal ausschließlich aus der Praxis von Routinelabors, ist in Tab. 4 zusammengestellt.

Die Ergebnisse wurden in einem Doppelblindversuch ermittelt. Beim Milchfett-RIA gab es neben Meßergebnissen guter Reproduzierbarkeit (Tab. 4, I, Nr. 5–7 und II, Nr. 1) auch andere Resultate. Aus den Wertepaaren für »Lotte« und »Conni« (Tab. 4, II, Nr. 2 und 3) könnten z. B. verfrühte Besamungen herausgelesen werden. Für die Messungen wurden aber jeweils Proben des gleichen Gemelkes eingeschickt. Besonders interessant sind Proben der Kuh Bea (Tab. 4, I, Nr. 1–3). Die Hauptbrunst war am Tag 1. Wo nach Haug & Claus (1983 u. 1984) eventuell ein Progesteronabfall von Tag »0« auf Tag 1 zu erwarten wäre, wurden gut reproduzierbare Werte oberhalb des Brunst-Grenzwertes gefunden. Von 8 Milchproben um den Tag der Brunst (Tag  $0 \pm 1$ ) lieferte der Milchfett-RIA 2 nur Brunstwerte. Der EIA lieferte von denselben Proben sechsmal niedrige Werte, wie sie für den Brunstzeitraum typisch sind. Die Brunst war tierärztlich überprüft worden; die Kuh rinderte nach 21 Tagen bezogen auf den Tag 1 um.

Die Meßwerte des EIA-Direkttests schwanken im allgemeinen ebenfalls, bleiben aber im jeweils richtigen Bereich, z. B. Tag -1 bis +2 im Brunstbereich (Tab. 4, I) oder Tag 4–5 im Bereich beginnender C.l.-Aktivität (Tab. 4, II). Die Meßschwankungen des EIA würden daher nicht zu einer falschen Aussage führen. Die Praxisergebnisse bestätigen somit, daß der EIA-Direkttest (Hormonost) eine für den praktischen Einsatz hinreichende Genauigkeit besitzt (Yasuhara & Kleeberg-Ruppert, 1984; Küster & Holtz, 1984). Die mitunter aufgetretenen Schwankungen des Milchfett-RIA im Routinebetrieb, auch über die festgelegten Grenzen von 30 und 90 ng/ml hinweg, könnten jedoch zu Fehldiagnosen führen und eine Erklärung bieten für manche vermeintlich falsche Brunstbeobachtung bzw. nicht termingerechte Besamung.

Der EIA für Progesteron als Milchdirekttest mit 120 min Inkubationszeiten wurde zwar bereits unter Benutzern als Schnelltest bezeichnet. Inzwischen gibt es jedoch einen EIA auf Mikrotiterplatten (Sauer u. Mitarb., 1981; Foulkes u. Mitarb., 1982; Van de Wiel & Koops, 1982), der an Inkubationszeiten nur 90 min benötigt. Die Entwicklung geht weiter. Wir haben einen Progesterontest in Erprobung, der 30–40 min an Inkubationszeiten benötigt. Inkubationszei-

Tabelle 4: Vergleich von Meßergebnissen zweier Progesteronbestimmungsmethoden im Routinebetrieb:  
Milchfett (RIA) und Milch-Direkttest (EIA Hormonost®)

I. Unterer Meßbereich

| Nr. | Kuhname | Zyklustag | Progesteronkonzentration (ng/ml; Nachgemelk) |   |
|-----|---------|-----------|--|---|
|     |         |           | Milchfett (RIA)<br>Grenzwert 30 ng/ml        | Milch (EIA Hormonost®)<br>Grenzwert 5 ng/ml |
| 1   | Bea     | "0"       | 38   | < 0,6; < 0,6                                |
| 2   | "       | "1"       | 36; 36; 38                                   | < 0,6; < 0,6                                |
| 3   | "       | "2"       | 63; 37; 26; 20                               | < 0,6; < 0,6                                |
| 4   | Cony    | 2         | 17; 10; 10; 10                               | < 0,6; 1,2; 1,9                             |
| 5   | Lora    | 2         | 14; 10                                       | < 0,6                                       |
| 6   | Billy   | 2         | 10; 10                                       | < 0,6; 0,7; 1,9                             |
| 7   | Marita  | 3         | 14; 10                                       | 0,7; 1,2                                    |

II. Grenzbereich ansteigender Corpus luteum-Aktivität

| Nr. | Kuhname | Zyklustag | Progesteronkonzentration (ng/ml; Nachgemelk) |                        |
|-----|---------|-----------|--|------------------------|
|     |         |           | Milchfett (RIA)                              | Milch (EIA Hormonost®) |
| 1   | Gerda   | 4         | 40; 35                                       | 3,3; 3,8               |
| 2   | Lotte   | 4         | 45; 26                                       | 4,3; 5,1               |
| 3   | Conni   | 4         | 37; 20                                       | 2,6; 2,8               |
| 4   | Lora    | 5         | 149; 93; 78                                  | 4,7; 5,3; 5,4          |

ten von 40 min werden auch von einer Weiterentwicklung des Mikrotiterplatten-EIA berichtet. Diese Tests werden – Bewährung im jeweiligen Fall vorausgesetzt – sicher bald zurecht »Schnelltest« genannt werden.

### Schlußfolgerungen

1. Mittels Progesteronbestimmungen können die Anteile falscher Brunstbeobachtungen erfaßt werden.
2. Auch unter günstigen Bedingungen beträgt die Fehlbesamungsquote infolge Lutealphasenbesamung ca. 5%. Die Differenz zu Fehlbesamungsquoten durchschnittlicher Bedingungen der Besamungspraxis in Höhe von ca. 10–12% stellt ein Potential zur Verbesserung von Besamungsergebnissen dar.
3. An Beispielen wird erläutert, daß die schnelle und quantitative Progesteronbestimmung des EIA (Hormonost®) wertvolle, differenzierte Aussagen liefert. Dies wird als Voraussetzung für den wirksamen Einsatz eines Progesterontests in der praktischen Anwendung angesehen. Die relative Schnelligkeit und leichte Handhabung des EIA (Hormonost®) geht im Vergleich zu einem anderen bewährten aber aufwendigeren Milchfett-RIA in der Routinepraxis nicht auf Kosten der Richtigkeit der Aussage.
4. Der EIA für Progesteron im Anwendungsschema des »Herbertinger Modell« liefert erstmals eine für die Besamungspraxis *rechtzeitige* Information der ablaufenden (Probenmessung Tag 0) oder unmittelbar bevorstehenden Brunst (Probenmessung Tag 19). Der Progesteron-service in dieser Anwendungsform kann eine wertvolle Hilfe in Fällen verfrühter Besamung und stiller bzw. undeutlicher Brunst sein.

### Schrifttum

1. Arnstadt, K.-I. & B. Schmidt-Adamopoulou (1982): Direct enzymeimmunoassay for determination of progesterone in milk from cows. *Br. vet. J.* 138, 436–438.
2. Arnstadt, K.-I. (1983): Steroid determination in milk by enzyme immunoassay (EIA). *J. Steroid Biochem.* 19, 423–424.
3. Arnstadt, K.-I. (1983): Möglichkeiten der Progesteronbestimmung mit Hilfe eines Enzymimmuntests (EIA). *Wien. tierärztl. Mschr.* 70, 248.
4. Arnstadt, K.-I. & A.-R. Fischer-Arnstadt (1984 a): Neuer Hormontest deckt Fruchtbarkeitsstörungen auf. *Top Agrar* 2/1984, R8–R12.
5. Bozworth, R. W., G. Ward, E. P. Call & E. R. Bonewitz (1972): Analysis of factors affecting calving intervals of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 55, 334–338.
6. Claus, R. & E. Rattenberger (1979): Improved method for progesterone determination in milkfat. *Br. vet. J.* 135, 464–469.

7. Claus, R., H. Karg, E. Rattenberger & F. Pirchner (1982): Analyse von Fortpflanzungsproblemen bei Kühen mit Hilfe der Progesteronbestimmung in Milchfett. *Zuchthyg.* 17, 203–213.
8. Claus, R. & S. Haug (1984): Theorie und Praxis des Milchprogesterontests. *Tierzüchter* 36, 244–246.
9. Dobson, H. (1979): Applications of hormone measurements in milk to pregnancy detection and subfertility diagnosis. Proc. Conference »Application of radioimmunoassay and related methods in animal science«, Warschau, 2./4. 10. 1979, Hrsg. R. Stupnicki.
10. Esslemont, R. I. (1973): *Vet. Rec.* 95, 200.
11. Fischer, A. & K.-I. Arnstadt (1982): Direktbestimmung von Progesteron in der Milch (EIA) zur Fertilitätskontrolle und Brunstvor aussage bei Kühen. *Zuchthyg.* 17, 225.
12. Fischer, A.-R. & K.-I. Arnstadt (1983): Fertilitätsservice einer Besamungsstation auf der Basis von Progesteronbestimmungen in der Milch mit Hilfe eines Enzymimmuntests (EIA). *Zuchthyg.* 18, 123.
13. Fischer-Arnstadt, A.-R. & K.-I. Arnstadt (1984 b): Erfahrungen mit dem Progesteronservice an der Besamungsstation Herberdingen. *Tierzüchter* 36, 247–248 und 36, 318.
14. Foulkes, J. A. & A. D. Cookson & M. J. Sauer (1982): A. I. in cattle based on daily microtitre plate enzymeimmunoassay of progesterone in whole milk. *Br. vet. J.* 138, 515–521.
15. Frahm, K. & K. Osterkorn (1983): Postpartale Zyklusstudien mit Hilfe des Milch-Progesterontests in einer Holstein-Friesianherde. Vortragstagung Dt. Ges. f. Züchtungskunde und Ges. f. Tierzucht-wissenschaft, 22./23. 9. 1983, Freising-Weihestephan.
16. Frey, R. & M. Berchtold (1983): Analyse vorzeitiger Ausmerzungen. *Zuchthyg.* 18, 203–209.
17. Grunert, E. (1982): in »Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind«, E. Grunert und M. Berchtold, Berlin und Hamburg, S. 123.
18. Günzler, O. (1976): Bisherige Erfahrungen mit dem Milchprogesterontest (zur Brunstkontrolle im Bereich des Besamungsvereins Neustadt/Aisch). *Zuchtwahl u. Besamung 1976* (81) 1–2.
19. Haug, S. & Claus (1983): Erste Erfahrungen zum Nachweis von Fehlbesamungen durch Progesteronbestimmungen am Tag 0 und Tag 1 (0/1-Test). *Zuchthyg.* 18, 210–215.
20. Heap, R. B., M. Gwynn, J. A. Laing & D. E. Walters (1973): Pregnancy diagnosis in cows: changes in milk progesterone concentration during the oestrus cycle and pregnancy measured by a rapid radioimmunoassay. *J. agric. Sci., Camb.* 81, 151–157.
21. Henriksen, J., O. Andersen, F. Nielsen, K. M. Pedersen & H. H. Koefoed-Johnsen (1981): Use of progesterone analysis in milk samples as a method to monitor the heat-detection accuracy in dairy herds. CEC-Seminar 30. 9./2. 10. 1981, Freising. In »Factors Influencing Fertility in the Postpartum Cow«, Hrsg. H. Karg & E. Schallenberg, S. 277–281, Den Haag, Boston, London, 1982.
22. Hoedemaker, M., K.-I. Arnstadt & E. Grunert (1984): Bestimmung von Progesteron in bovinen Blut- und Milchproben mit Hilfe verschiedener Methoden des Radio- und Enzymimmuntests. *Zbl. Vet. Med. A* 31, 105–118.
23. Hoffmann, B., R. Hamburger & W. Hollwich (1977): Bestimmung von Progesteron direkt in Milchfett als verbessertes Verfahren zur Fertilitätskontrolle bei der Kuh. *Zuchthyg.* 12, 1–7.
24. Kidder, H. E., G. R. Barrett & L. E. Casida (1982): A study of ovulations in six families of Holstein-Friesians. *J. Dairy Sci.* 35, 436–444.

25. Kräusslich, H. (1980): Züchterische Aspekte der Fruchtbarkeit beim Rind. Vortrag Fachtagung zum 30. Jahrestag der Arbeitsgemeinschaft der Besamungsstationen in Bayern, Bad Windsheim, 12./13. 5. 1980.
26. Küster, J. & W. Holtz (1983): Progesteronbestimmung in Kuhmilch: Vergleich der Ergebnisse des RIA-Milchfett- und EIA-Direkttests sowie eine Qualitätskontrolle des EIA-Direkttests. Zucht-hyg., im Druck.
27. Lehnen, B. (1984): Zucht- und Besamungsgenossenschaft Rheinland, Station Kleve, pers. Mitteilung.
28. Lotthammer, K.-H. (1984): DLG-Mitteilungen, Heft 2/1984. Zitiert in »Züchterische Möglichkeiten zur Verbesserung der Fruchtbarkeit beim Rind«, Vortrag E. Kalm, Tagung ADR, Abtlg. C, 14. 3. 1984, Flensburg; DLG-Mitteilg. 2/1985 (Tier-Produktion), S. 91–94.
29. Pennington, J. A., S. L. Spahr & J. R. Lodge (1976): Factors affecting progesterone in milk for pregnancy diagnosis in dairy cows. Br. vet. J. 132, 486–496.
30. Pirchner, F., D. Zwiauer, I. v. Butler, R. Claus & H. Karg (1983): Environmental and genetic influences on milk progesterone profiles of postpartum cows. Zeitschr. f. Tierzüchtg. und Züchtungsbiologie 100, 304–315.
31. Rattenberger, E. & O. Richter (1983): Lösung von Fruchtbarkeitsproblemen bei Rindern durch den Milchprogesterontest. Tierzüchter 35 (6).
32. Rinderbesamung Holstein e.V. (1976): Fruchtbarkeitskontrolle durch Hormonbestimmung in der Milch. Mitteilungen Zentralbesamung Holstein e.G. Schönböken, 40.
33. Sauer, M. J., J. A. Foulkes & A. D. Cookson (1981): Direct enzymeimmunoassay of progesterone in milk. Steroids 38, 45–53.
34. Thun, R., E. Eggenberger, K. Zerobin, P. Summermatter, A. Flükiger & C. Gaillard (1980): Praktische Erfahrungen mit dem Milch-Progesteron-Test (MPT) zur Brunst- und Non-return-Diagnose beim Rind. Zuchthyg. 15, 7–14.
35. Williamson, N. B., R. S. Morris, D. C. Blood & C. M. Cannon (1972): Vet. Rec. 91, 50.
36. Van de Wiel, D. F. M. & W. Kooops (1982): Direct measurement of progesterone in milk and plasma by a sensitive and simple enzymeimmunoassay. Br. vet. J. 138, 454.
37. Yasuhara, T. & S. Kleeberg-Ruppert (1984): Erfahrungen mit dem Enzymimmunassay zur Progesteronbestimmung, insbesondere in Gesamtmilch ohne Extrakt. Tierärztl. Umschau 39, 687–692.

Anschrift der Verfasser: Dr. K.-I. Arnstadt und Dr. Anne-Rose Fischer-Arnstadt, 7944 Herberdingen.