

Data Service Paretz GmbH

## Eignung des Progesterontests in der Milch für die Fruchtbarkeitsüberwachung in Milchkuhbeständen

Von Prof. Dr. N. Rossow

Seit einigen Jahren sind in Deutschland Progesterontests für die Anwendung vor Ort verfügbar, mit deren Hilfe die Beantwortung folgender Fragestellungen erleichtert werden soll:

- Befindet sich die Kuh in der Nähe der Brunst?
- Ist die Kuh 21 Tage nach der Besamung trächtig oder nicht trächtig?
- Ist die Kuh zyklisch oder sind die Eierstöcke inaktiv?
- Hat die Kuh Eierstockzysten?
- Liegt ein embryonaler Fruchttod vor?
- Ist die Ovulation verzögert?

Leider wird dieser Test zur Zeit nur in wenigen Betrieben genutzt, was offenbar daran liegt, dass dessen Bedeutung für ein gezieltes Fruchtbarkeitsmanagement noch nicht genügend bekannt ist, die Eignung als Frühträchtigkeitstest überschätzt und zum anderen erhöhter Kosten- und Zeitaufwand gemieden wird.

**Progesteron** ist ein weibliches Sexualhormon, das auch als „Trächtigkeitsschutzhormon“ bezeichnet wird. Während der Vorbrunst entwickelt sich einer der Follikel eines Ovars zum dominierenden Follikel. Unter dem Einfluss von Gonadotropinen sezerniert dieser Follikel Oestrogen. Im Blutplasma sind Oestrogen und LH-Konzentration erhöht, die Progesteronkonzentration dagegen stark erniedrigt bzw. gleich Null. Nach der Ovulation wächst vom 3. bis 12. Zyklustag ein Gelbkörper heran, der Progesteron sezerniert (Tab. 01).

**Tab. 01: Grenzwerte der Progesteronkonzentration in der Milch (Nachgemelk) im Zyklusverlauf (nach OBRITZHAUSER und BEHM, 2004)**

Zeitpunkt bzw. Zeitraum	Progesteronkonzentration ng/ml
Brunstbeginn (Prooestrus)	0 bis < 2
4. und 5. Zyklustag	< 5
5. und 6. Zyklustag	> 5
7. Zyklustag	9 bis 10
11. bis 17. Zyklustag	11 bis 40
18. und 19. Zyklustag	< 5 (3)

Die Sekretion ist vom 1. bis 3. Zyklustag sehr gering, steigt aber vom 4. bis 9. Tag rasch an, bleibt bis zum 16. bis 18. Tag konstant und fällt, falls keine Befruchtung erfolgt ist, 2 bis 4 Tage vor dem erneuten Brunstbeginn wieder rapide ab (Abb. 01).

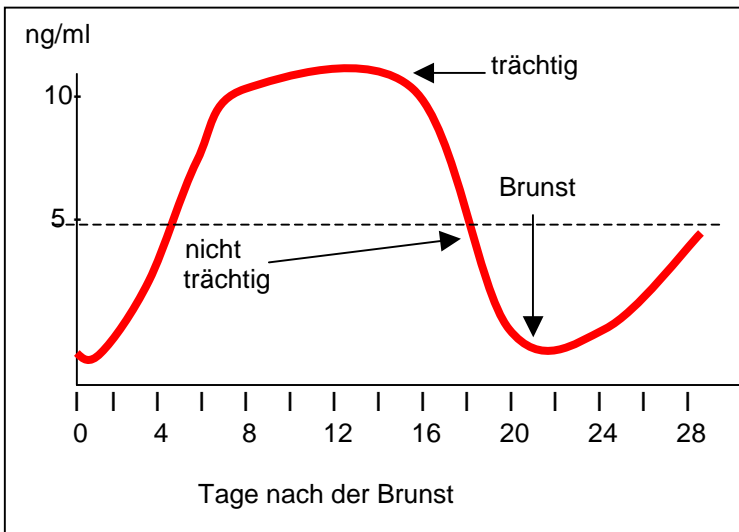


Abb. 01: Verlauf der Progesteronkonzentration in der Milch während des Brunstzyklus (RIOUX und RAJOTTE, 2004).

Eine hohe Konzentration bedeutet, die Kuh ist trächtig, eine mittlere Konzentration spricht gegen eine Trächtigkeit und eine stark erniedrigte Konzentration bedeutet, die Kuh ist brünstig.

Hohe Progesteronkonzentrationen deuten auf einen funktionierenden Gelbkörper hin. Wenn es zu keiner Trächtigkeit gekommen ist, bildet sich der Gelbkörper 2 bis 3 Tage vor Brunstbeginn zurück und auch die Progesteronsekretion vermindert sich. Wurde die Kuh trächtig, sezerniert der Gelbkörper das Hormon kontinuierlich weiter. Dieses Wechselspiel aus erhöhter und erniedrigter Progesteronsekretion lässt sich mit Hilfe von Labormethoden, die vor Ort (also im Stall) anwendbar sind, nutzen, um Zyklusabläufe zu diagnostizieren.

Der Nachweis einer **niedrigen Progesteronsekretion** zum Zeitpunkt der Brunst erlaubt folgende Interpretationsmöglichkeiten:

- Die Kuh ist brünstig oder in Brunstnähe.
- Die Kuh ist nicht zyklisch (Ovarien inaktiv).
- Die Kuh hat Eierstockzysten.

Der Nachweis einer **hohen Progesteronkonzentration** erlaubt die Aussage:

Die Kuh ist nicht brünstig und wird, falls besamt, auch nicht trächtig werden.

**Der Test lässt daher eher eine Aussage darüber zu, wann die Kuh nicht zu besamen ist, als dass er den optimalen Besamungszeitpunkt verrät.**

Eine **niedrige Progesteronkonzentration einer Milchprobe 21 bis 24 Tage nach der Besamung** lässt eindeutig die Aussage zu: die Kuh ist **nicht** trächtig.

**Eine hohe Progesteronsekretion lässt mehrere Interpretationsmöglichkeiten zu:**

- Die Kuh ist trächtig.
- Die Kuh ist in der Mitte ihres Zyklus, aber nicht trächtig.
- Die Kuh war zwar trächtig, aber der Embryo ist abgestorben (Frühembryonale Mortalität).
- Ansammlung von Eiter im Uterus (Pyometra) oder eine mumifizierte Frucht täuschen Trächtigkeit vor.

**Danach ergibt sich, dass der Test eindeutig eine Nichtträchtigkeit diagnostiziert, während die Diagnose „trächtig“ nicht so eindeutig gestellt werden kann.**

## Prinzip der Testmethode

Der Test beruht auf dem **Enzym-Immuno-Assay-Verfahren (EIA)**. Dieses ähnelt dem Radio-Immuno-Assay (RIA), benutzt aber keine radioaktiven Isotope.

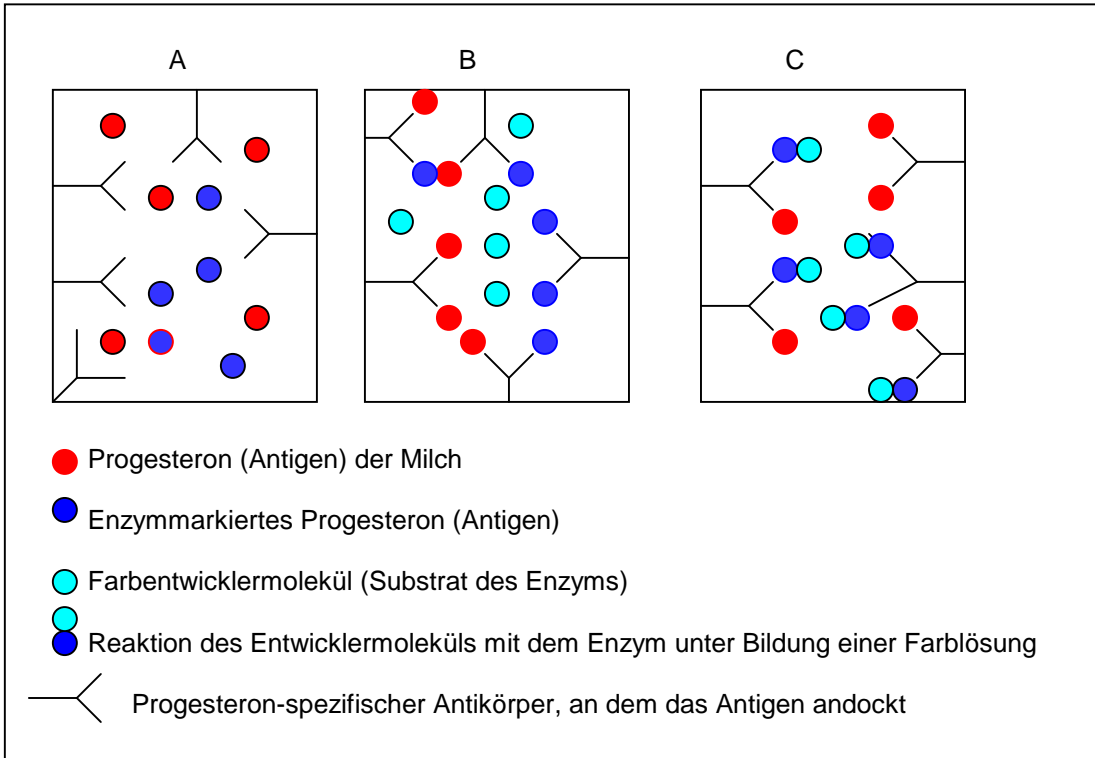


Abb. 02: Prinzip des EIA-Tests.

A: Einem Gefäß mit Progesteron-spezifischen Antikörpern wird eine Milchprobe (Nachgemelk) und ein Konjugat zugefügt, das eine bestimmte Menge mit einem Enzym markierter Progesteronmoleküle enthält.

B: Die Antigene gehen mit den Antikörpern eine Bindung ein. Ferner werden Farbwirkstoffmoleküle (Chromogen) zugegeben.

C: Letztere reagieren mit dem Enzym, das mit dem Antikörper verbunden ist, unter Bildung eines Farbstoffes. Je mehr Antigen (Progesteron) in der Milchprobe, desto mehr Antikörperbindungen werden eingegangen. Die Farbreaktion ist nur schwach ausgeprägt. Ist dagegen nur wenig Antigen in der Milchprobe, werden die Rezeptoren der Antikörper vorwiegend von enzymmarkiertem Antigen besetzt. Die Farbreaktion ist demzufolge stärker. Die bei der Testdurchführung entstehende Farbreaktion ist umgekehrt proportional der Progesteronkonzentration in der Milch.

Die Intensität der Farbreaktion ist somit Ausdruck der Progesteronkonzentration in der Milchprobe (Abb. 03). Dabei bedeuten:

ohne Farbe	= sehr hohe Progesteronkonzentration > 15 ng/ml Trächtigkeit oder Zustand zwischen zwei Brunsten
Hellblau	= hohe Progesteronkonzentration 5 bis 15 ng/ml s. ohne Farbe
mittelblau	= niedrige Progesteronkonzentration 2 bis 5 ng/ml An- und Rückbildung des Gelbkörpers
dunkelblau	= sehr niedrige Progesteronkonzentration 0 bis 2 ng/ml Brunst oder Ovarruhe

Für Vollmilch gelten Grenzwerte von 5,0 ng/ml. Werte darunter sprechen für einen inaktiven Gelbkörper; Werte darüber für einen aktiven. Für Milchfett gelten höhere, für Magermilch niedrigere Grenzwerte. Benutzt wird für den Test stets Nachgemelk.

### Anwendungsmöglichkeiten des Milchprogesterontests

- **Ausschluss einer Trächtigkeit**
- **Kontrolle des Progesteronstatus bei der künstlichen Besamung**
- **Kontrolle der bei der rektalen Untersuchung festgestellten Ovarbefunde und Reduzierung klinischer Fehldiagnosen**
- **Differenzierung von Ovarialzysten**
- **Erfolgskontrolle eingeleiteter Therapiemaßnahmen**
- **Verlaufsuntersuchungen im Abstand von 7 Tagen zur Objektivierung von fehlender Brunstsymptomatik, zyklischer Ovaraktivität und Ovardystrophie (Abb. 03).**

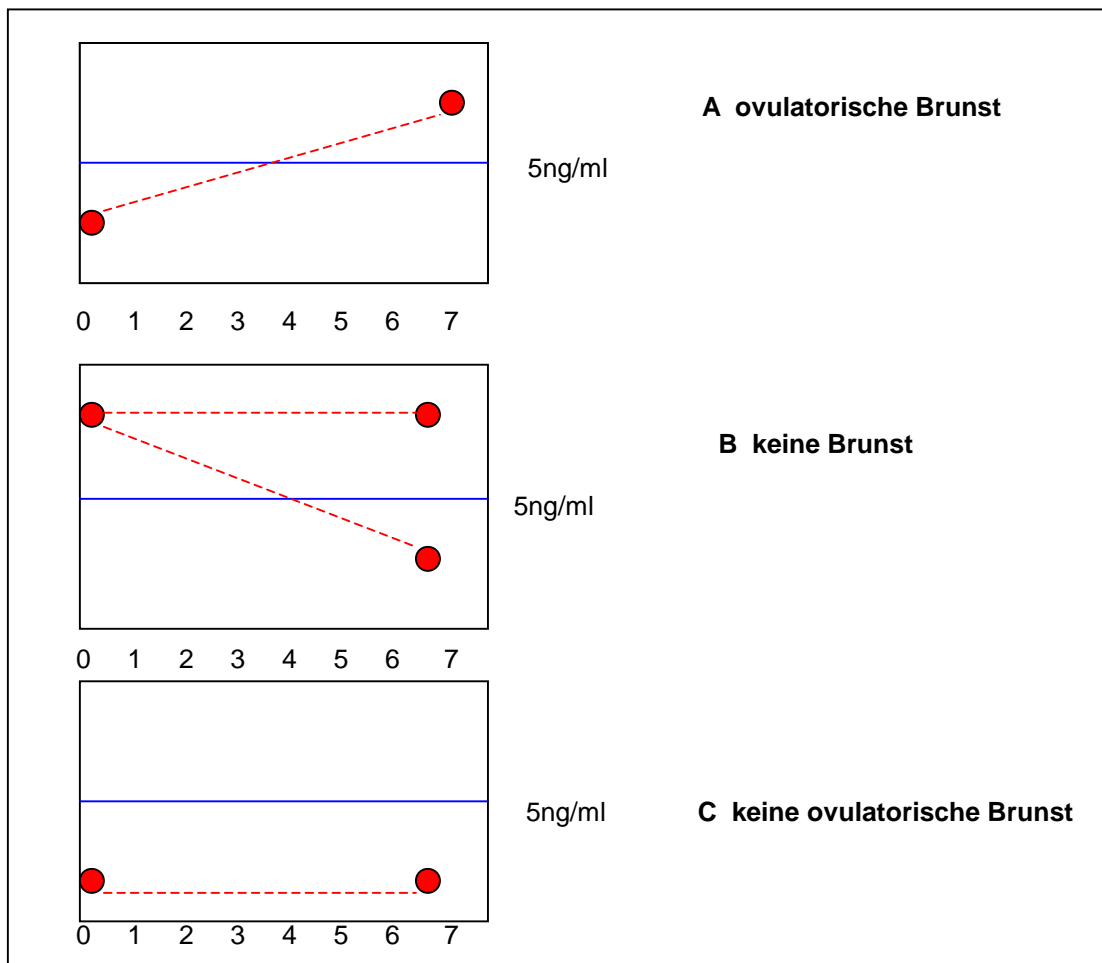


Abb. 03: 0/7- oder Doppeltest. Es lassen sich drei unterschiedliche Konstellationen unterscheiden: (BOLLWEIN, 2005).

Ein Anstieg in diesem Zeitraum über den Grenzwert hinaus bedeutet ovulatorische Brunst (A).  
 Eine gleichbleibende Progesteronkonzentration oberhalb des Grenzwertes oder ein Absinken unterhalb des Grenzwertes bedeutet keine Brunst (B).  
 Eine gleichbleibende Progesteronkonzentration unterhalb des Grenzwertes bedeutet keine ovulatorische Brunst (C).

### Kontrolle des Progesteronstatus bei der KB

Zum Zeitpunkt der Besamung soll die Progesteronkonzentration  $< 2$  ng/ml sein. Höhere Werte  $> 2$  aber  $< 5$  ng/ml haben keine Aussicht auf eine Konzeption. Erhöhte Werte, die auch zwischen dem 8. bis 12. Zyklustag auftreten können, sprechen für eine sogenannte **Scheinbrunst**, die durch eine Follikelanbildung infolge erhöhter FSH- und LH-Sekretion bedingt ist, aber nicht zur Ovulation führt. Besamungen in der frühen Lutealphase sollen normalerweise unter 5 % liegen, können in Problemherden jedoch wesentlich häufiger beobachtet werden.

**Tab. 02: Anwendungsbeispiel Schnelltest Hormonost® Biolab München**

Problem	Testfarbe	Interpretation
<b>Keine Brunst nach dem Kalben</b>	<b>dunkelblau hellblau</b>	<b>Ovarien funktionstüchtig Ovarien funktionslos</b>
<b>Schwache Brunst</b>	<b>dunkelblau hellblau</b>	<b>normale Situation Zwischen- oder Scheinbrunst</b>
<b>Verlängerte Brunst</b>	<b>hellblau dunkelblau</b>	<b>Zyklus normal Follikelzyste?</b>
<b>Schwache Brunst 3 Wochen nach Bes.</b>	<b>dunkelblau hellblau</b>	<b>Nachbesamung notwendig trächtig?</b>
<b>Ohne Brunst am 21. Tag nach Bes.</b>	<b>hellblau dunkelblau</b>	<b>trächtig stille Brunst, umgehend nachbesamen</b>

### Frühträchtigkeitsausschluss

Die Frühträchtigkeitsuntersuchung 21 Tage nach der Besamung besitzt leider nur eine diagnostische Zuverlässigkeit von 75 % bis 80 %, aber eine 100 %ige Sicherheit bei der Diagnose „nicht trächtig“ (Abb. 03, 04).

Ursachen für eine **falsch positive** Testaussage:

- Falscher Zeitpunkt der Probenentnahme
- Embryonale Mortalität
- Verzögerte Ovulation
- Persistierender Gelbkörper (Gelbkörperzysten) (Abb. 04)

Ursachen für eine **falsch negative** Testaussage:

- Probenverwechslung
- Fehlerhafte Testdurchführung

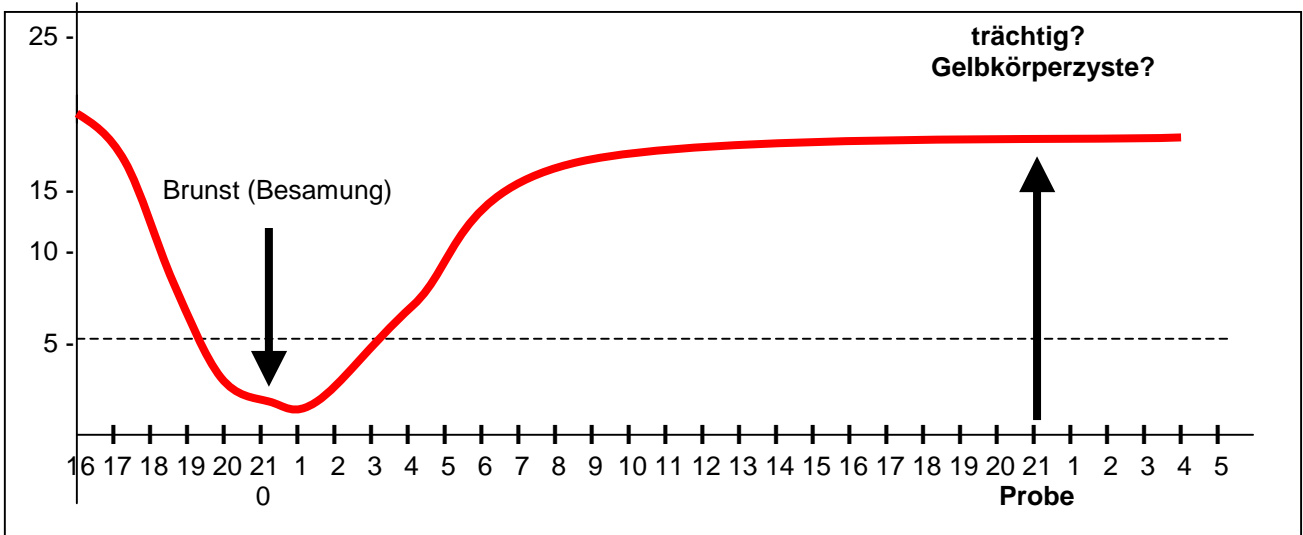


Abb. 04: Progesteronverlauf bei erfolgter Befruchtung oder Gelbkrperzyste (Corpus luteum bildet sich nicht zurück) (nach Berg Bauern Beratung).

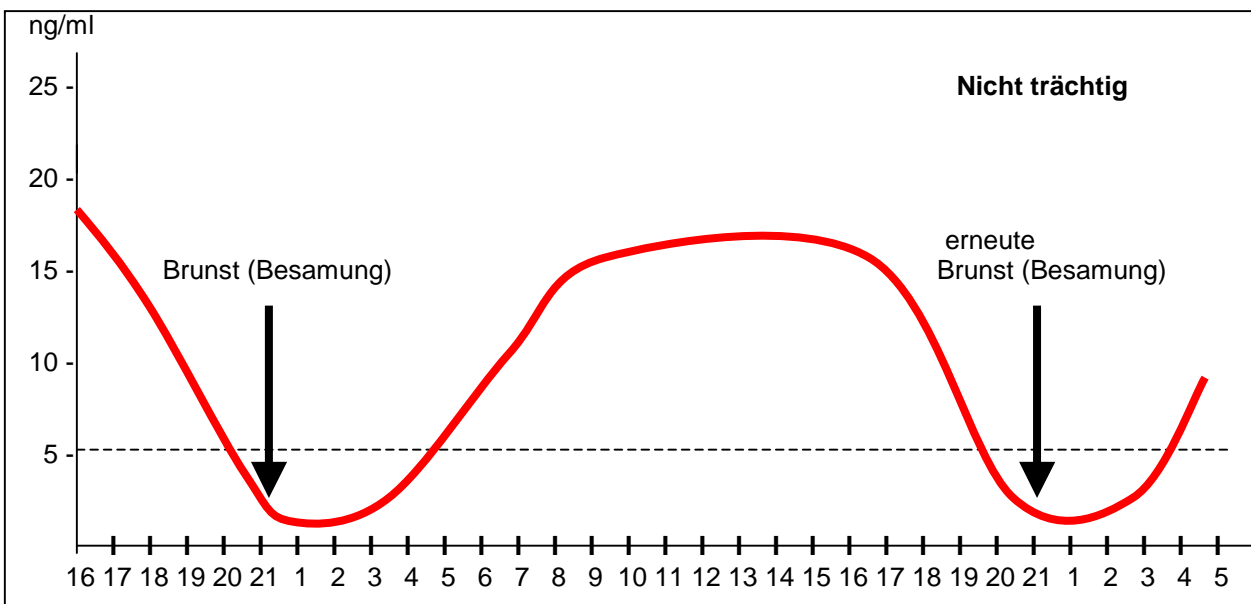


Abb. 05: Progesteronverlauf bei nicht erfolgter Befruchtung. Probenentnahme am 19. bis 20. Tag nach der Besamung (nach Berg Bauern Beratung).

### Kontrolle der bei der rektalen Untersuchung festgestellten Ovarbefunde und Reduzierung klinischer Fehldiagnosen

Bei der rektalen Untersuchung der Eierstöcke sind selbst bei geübten Untersuchern Fehldiagnosen nicht ausgeschlossen. So gibt es u.a. Verwechslungen zwischen Graafschem Follikel und Follikelzysten, von Gelbkrpern, die sich in An- oder Rückbildung befinden mit einem persistierenden Gelbkörper. Derartige Fehldiagnosen können mit einer Häufigkeit von 20 bis 30 % auftreten. Sie lassen sich mit Hilfe der Progesteronuntersuchung wesentlich reduzieren.

#### Verlaufsuntersuchungen

#### (Follikelzyste, Gelbkrperzyste, verzögerte Ovulation, stillbrunstig?)

Ovarialzysten sind beim Milchrind uberhaus häufig. Ursache ist eine ungenügende Sekretion von LH, durch die es bei hochgradigem Mangel zur Bildung einer Follikel-Theka-Zyste aus dem Graafschem Follikel kommt. Dabei ist die Progesteronsekretion am 6. bis 7.Tag nach der Besamung stark erniedrigt und der Zyklus blockiert. Eine weitere Probenentnahme am 14. Tag schafft Klarheit. Im Falle einer Zyste ist der Progesterongehalt auch zu diesem Zeitpunkt stark erniedrigt (Abb. 06).

Bei leichtem Mangel entwickelt sich eine Follikel-Lutein-Zyste, bei der eine erhöhte Progesteronsekretion besteht und Verwechslungen mit dem Befund „trächtig“ nicht ausgeschlossen sind (Abb. 04). Um festzustellen, ob die Ovulation verzögert aufgetreten ist oder nicht, kann der Doppeltest am Tag 0 (Besamung) und 7 Tage danach durchgeführt werden. Hat die Ovulation normal stattgefunden, liegt die Progesteronkonzentration deutlich über dem Grenzwert. Bei verzögerter Ovulation liegt die Progesteronkonzentration am 7. Tag nach der Besamung unterhalb des Grenzwertes. Der Eintritt der nächsten Brunst verzögert sich ebenfalls (Abb. 07).

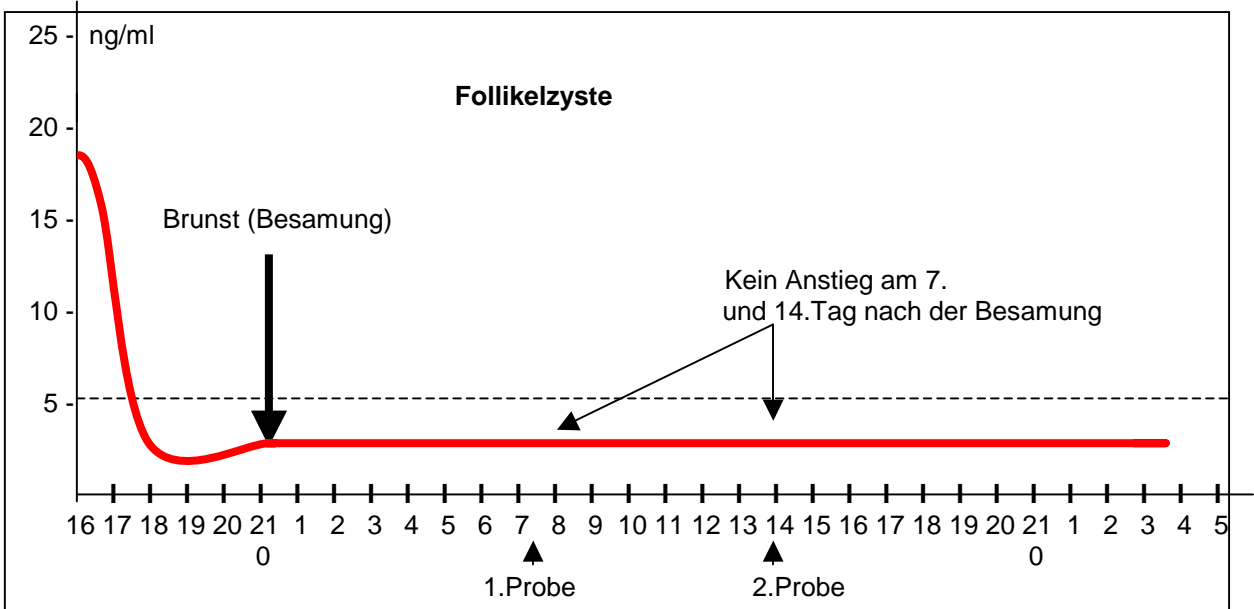


Abb. 06: Verlauf der Progesteronkonzentration bei Follikelzysten. Probenentnahme am 7. und 14. Tag post inseminationem (nach Berg Bauern Beratung).

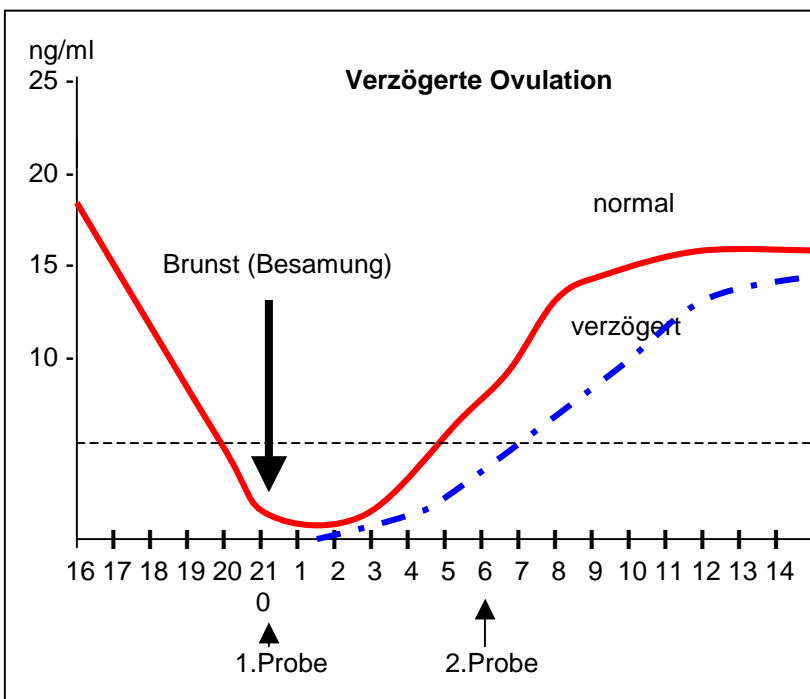


Abb. 07: Verlauf der Progesteronkonzentration bei verzögerter Ovulation (blau). Probenentnahme am Tag der Besamung und 7 Tage danach (nach Berg Bauern Beratung).

Äußert die Kuh 6 Wochen nach dem Kalben keine Brunstsymptome, kann man mit Hilfe des Tests feststellen, ob sie anoestrisch ist oder nicht. Dazu werden im Abstand von 7 Tagen 2 bis 3 Tests durchgeführt. Sie geben Aufschluss darüber,

- ob die Kuh stillbrünstig ist.
- ob sich Zysten gebildet haben (bei Follikelzysten ständig erniedrigter Progesterongehalt (Abb. 06), bei Gelbkörperzysten ständig erhöhter Progesterongehalt (Abb. 04)).

### Therapiekontrolle

Bekanntlich werden Zystenkühe mit GnRH behandelt. Der Behandlungserfolg lässt sich 6 Tage nach der Injektion durch eine Progesteronbestimmung beurteilen. Es kommt nämlich nach der induzierten Ovulation zur Anbildung eines Gelbkörpers und damit zum Anstieg der Progesteronkonzentration in der Milch. Ein Therapieversagen hätte ein Fortbestehen der niedrigen Progesteronkonzentration zur Folge.

### Progesteron und frühembryonaler Fruchttod

85 % der Kühe besitzen bis zum 16. Tag nach der Besamung, also unmittelbar vor Beginn der Luteolyse, einen lebensfähigen Embryo (MANN, 2002). Am Ende der 3. Trächtigkeitswoche zeigen jedoch etwa 50 % der Kühe einen erneuten Zyklus. Man rechnet im Allgemeinen mit embryonalen Frühverlusten von 25 bis 55 % (Abb. 08, Tab. 03).

Als Embryonalphase der Trächtigkeit bezeichnet man die ersten 40 Tage nach der erfolgreichen Besamung. Es ist also die Phase, bevor der Embryo zum Fetus wird. Der Embryo signalisiert dem Muttertier seine Anwesenheit, indem er zwischen dem 15. und 23. Tag ein bovines trophoblastisches Protein (bTP-1) produziert, welches die Expression von PGF2 $\alpha$ -Hemmern induziert. Diese hemmen die uterine PGF2 $\alpha$ -Sekretion und unterstützen die Produktion des Schwangerschaftsschutzhormons Progesteron durch den Gelbkörper. Eine niedrige Produktion von bTP-1 durch den Embryo oder das fehlerhafte Erkennen des Signals durch den maternalen Uterus sind der Grund dafür, dass es zu einem Absterben des Embryos kommt. Die Synthese von bTP-1 beginnt um den 15. Tag nach der Besamung, aber nur bei Embryonen, die mindestens 15 mm lang sind. Embryonen mit verzögertem Wachstum sind nicht in der Lage, die Rückbildung des Gelbkörpers durch Prostaglandin F2 $\alpha$  zu blockieren. Die Folge ist ein Absinken der Progesteronsekretion und damit der Verlust des Schutzes des Embryos. Es gibt Gründe für die Annahme, dass die Progesteronsekretion des Gelbkörpers sowohl durch die Fütterung als auch durch das Auftreten von peripartalen Erkrankungen beeinflusst wird. Die Supplementation von **Omega-3-Fettsäuren** erhöht die Größe und verlängert die Lebensdauer des Gelbkörpers, der mehr Progesteron sezerniert und dadurch Implantation und Ernährung des Embryos unterstützt. Bestimmte Fettsäuren in Fischmehl und Hanf (Omega-3-Fettsäuren) werden durch die gleichen Enzyme, die PGF2 $\alpha$  synthetisieren, zu Eicosa-Penta-Enolsäure umgewandelt, dem Vorläufer von PGF3 $\alpha$ , welches eine geringere biologische Aktivität besitzt. Durch Erhöhung des Angebotes von Omega-3-Fettsäuren kann man somit die uterine PGF2 $\alpha$ -Sekretion reduzieren und die embryonale Mortalität senken. Omega-3-Fettsäuren sind vor allem in Hanf und Fischmehl vorhanden. Tatsächlich gelang es, eine höhere Progesteronkonzentration zu erzielen, wenn formalinbehandelter Hanfsamen verabreicht wurde. Ähnliche Effekte wurden auch bei Verfütterung von **Fischmehl** beobachtet. Dabei hat Fischmehl den Vorteil, dass es der Hydrogenierung durch die Pansenbakterien entgeht.



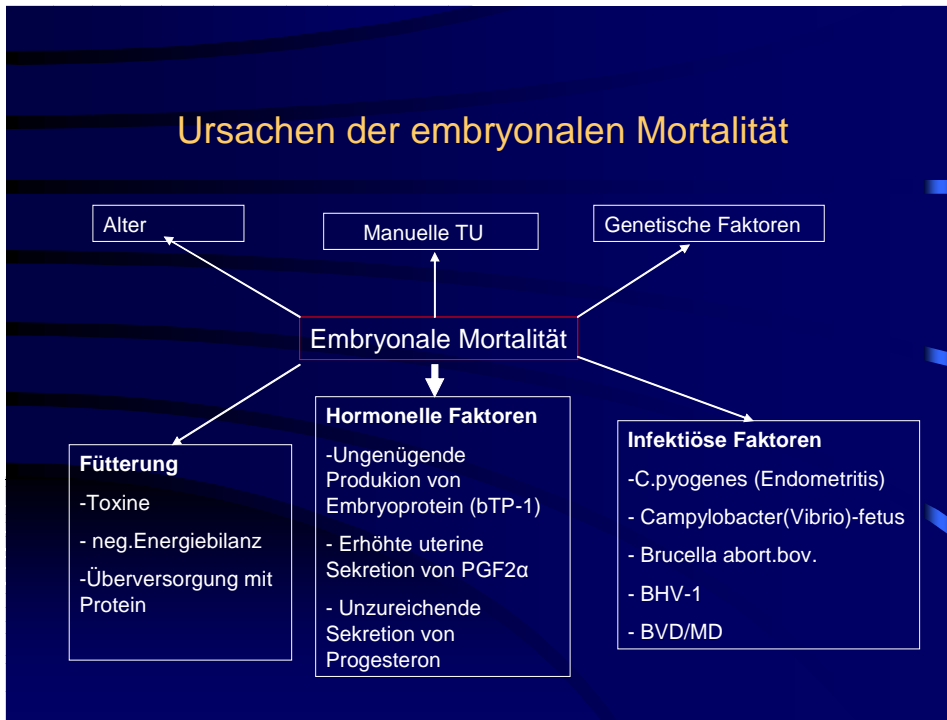


Abb. 08: Ursachen der embryonalen Mortalität

Tab. 03: Die nicht blockierte Luteolyse ist an den Embryonalverlusten zu 40 % beteiligt (Fricke, 2004)

### Embryonalverluste (FRICKE)

Ursache	Tage nach KB	Verluste in%	Rückkehr zur Brunst (Tage)
Nidationsstörung	0-8	12	19-23
Nicht blockierte Luteolyse	8-17	40	19-23
Verzögerte Luteolyse	17-24	24	25-30
Schädigung des Embryos	25-42	14	30-50
Abort des Fetus	> 42	10	nach dem Abort

## Zusammenfassung

Der Progesterontest in der Milch ist ein wertvolles Instrument zur Verbesserung der Fertilität in Milchkuhherden. Seine Anwendungsmöglichkeiten umfassen weniger die Frühträchtigkeitsdiagnose als vielmehr:

- Ausschluss einer Trächtigkeit
- Kontrolle des Progesteronstatus bei der künstlichen Besamung
- Kontrolle der bei der rektalen Untersuchung festgestellten Ovarbefunde und Reduzierung klinischer Fehldiagnosen
- Differenzierung von Ovarialzysten
- Erfolgskontrolle eingeleiteter Therapiemaßnahmen
- Verlaufsuntersuchungen im Abstand von 7 Tagen zur Objektivierung von fehlender Brunstsymptomatik, zyklischer Ovaraktivität und Ovardystrophie

## Literatur:

Anonym: Progesteron-Test

Berg Bauern Beratung

<http://www.provinz.bz.it/land-hauswbildung/01/Viehwirtschaft/download/Progesteron-Test.pdf>

Biolab GmbH München (1998)

Fünf Minuten für die Fruchtbarkeit. Mit Milch-Progesteron-Test der Kuh auf die Eierstöcke blicken. Bayerisches Landwirtschaftl. Wochenblatt 188, Heft 36 S. 47 - 48

Biolab GmbH München (1999):

Hormonost® Schnelltest Stute/Rind zur Fruchtbarkeitsüberwachung

BOLLWEIN, H. (2005):

Gynäkologie und Andrologie beim Rind. Power-Point-Präsentation

Sommersemester 2005-10-21

Klinik für Rinder, TiHo Hannover

FRICKE, P. M. (2004):

14,000 kg and beyond- Current benchmarks and future challenges for dairy cattle reproduction

<http://www.wcds.afns.ualberta.ca/Proceedings/2004/Manuscripts/9Fricke.pdf>

OBRITZHAUSER, W. und BEHM, Doris (2004):

Arbeitsgruppe Wiederkäuer. Programm zur Bekämpfung von Fruchtbarkeitsstörungen in der österreichischen Rinderhaltung...

Amtliche Veterinärnachrichten Nr.10a/2004

RIOUX, P. und RAJOTTE, D. (2004):

Progesterone in milk: a simple experiment illustrating the estrous cycle and enzyme immunoassay.

Advan. Physiol. Edu. **28**, 64 - 67