

1. Einleitung

Die Ziegen- und Schafhaltung in der Welt gewinnt durch die Extensivierung in der Landwirtschaft an Bedeutung, weil mit kleinen Wiederkäuern, insbesondere Ziegen, auf marginalen Böden und unter extremen Klimabedingungen noch Erträge erwirtschaftet werden können. In vielen, besonders den ärmeren Ländern der Erde, spielt der kleine Wiederkäuer als landwirtschaftliches Nutztier eine bedeutende Rolle bei der Erzeugung von Fleisch, Milch, Häuten und Fasern.

Für eine rentable Produktion von Ziegen- und Schaffleisch ist im Rahmen einer guten zuchthygienischen Betreuung einer Herde die frühe und sichere Trächtigkeitsdiagnose besonders wichtig. Es gibt verschiedene Methoden eine Trächtigkeitsdiagnose bei kleinen Wiederkäuern durchzuführen. Besonders praktikabel sind viele davon nicht, weil sie entweder sehr spät durchzuführen, invasiv oder teuer sind. Nach Möglichkeit soll nicht nur eine Trächtigkeit diagnostiziert, sondern auch Informationen über Vitalität und eventuell Anzahl der Feten erlangt werden, bei geringstmöglicher Beeinträchtigung der Tiere. Deshalb beschäftigt sich Teil 1 dieser Arbeit mit der Untersuchung der Plasmakonzentration des „pregnancy-associated“ Glycoproteins (PAG) im Verlauf der Trächtigkeit beim Schaf mit dem Ziel a) die Plasmakonzentration des PAGs bei verschiedenen Schafrassen während der Trächtigkeit und nach der Geburt darzustellen und b) diese zur Trächtigkeitsdiagnose zu nutzen. Teil 2 dieser Arbeit beinhaltet die Bestimmung von Gesamtöstrogenen in Blut, Harn und Kot von tragenden Ziegen. Besondere Berücksichtigung findet die Eignung der Kot-Östrogenkonzentration als Möglichkeit einer Trächtigkeitsdiagnose bei Ziegen und, in diesem Zusammenhang, die Möglichkeit der Lagerung der Kotproben bis zur Analyse.

2. Literaturübersicht

2.1. Trächtigkeitsdiagnose bei kleinen Wiederkäuern

Die frühe und sichere Diagnose einer Trächtigkeit spielt in der Tierzucht eine bedeutende Rolle, da nur so sowohl eine bedarfsgerechte Haltung und Fütterung der trächtigen Tiere gewährleistet werden kann als auch ein wirtschaftliches Arbeiten möglich ist. Dies beinhaltet ein schnelles Wiederbelegen nicht trächtiger Tiere, das frühzeitige Erkennen von Fruchtbarkeitsstörungen von Einzeltieren oder einer eventuellen Herdenproblematik und gegebenenfalls das Merzen der Tiere.

Während der Trächtigkeit weist das Muttertier typische Veränderungen auf, die durch eine klinische Untersuchung, mit technischen Hilfsmitteln, wie z.B. Ultraschallverfahren, oder über verschiedene Labormethoden nachgewiesen werden können. Generell wird zwischen indirekten Trächtigkeitsschleissweisen, wie z.B. Ausbleiben der Brunst, Echolot oder hohem Progesterongehalt im Blut oder in der Milch, und direkten Nachweisen des Fetus oder der Fruchthüllen unterschieden. In der Plazenta werden während der Trächtigkeit bestimmte Proteine und Hormone speziell oder in besonderen Mengen exprimiert und synthetisiert, die in den Blutkreislauf des Muttertieres gelangen und teils über Milch, Harn oder Kot ausgeschieden werden. Hierzu zählen unter anderem Östrogene und sog. „pregnancy-associated“ Glycoproteine (PAGs), die sich besonders für eine Trächtigkeitsschleissdiagnose eignen, da sie über eine funktionelle Plazenta zusätzlich einen direkten Hinweis auf das Leben der Feten geben. In Kapitel 2.2 werden verschiedene Diagnoseverfahren in Abhängigkeit vom Untersuchungszeitpunkt während der 151 ± 5 Tage (Bostedt und Dedié, 1996) dauernden Trächtigkeit (späte, mittlere und frühe Trächtigkeitsschleissdiagnosen) aufgezeigt, im Kapitel 2.3 verschiedene Hormone und Proteine der Plazenta, die sich zur Trächtigkeitsschleissdiagnose eignen, beschrieben.

2.2. Trächtigkeitsdiagnoseverfahren

2.2.1. Späte Trächtigkeitsdiagnose

Als späte Diagnoseverfahren werden solche bezeichnet, die ab dem 60. Tag nach der Bedeckung bei Schaf und Ziege zum Einsatz kommen. Die abdominale Palpation kann etwa ab dem 100. Trächtigkeitstag Aufschluss geben (Küst und Schaetz, 1983). Die bi-manuelle (rektal und abdominal) Palpationstechnik bei kleinen Wiederkäuern wurde von Kutty (1999) entwickelt. Die Diagnosegenauigkeit dieser Technik beträgt ab dem 28. Tag der Trächtigkeit 56%, ab dem 90. Tag 100%. Aborte traten dabei nicht auf. Bei der Rektal-Abdominalen Palpation wird ab dem 60. Trächtigkeitstag eine 90%ige (Memon und Ott, 1980) und vom 65. bis 70. Tag der Trächtigkeit eine 92 bis 100%ige Diagnosegenauigkeit erreicht (Hulet, 1972; Turner und Hindson, 1975; Tyrrell und Plant, 1979; Plant, 1980; Ott et al., 1981). Nachteilig hierbei sind jedoch mögliche Verletzungen des Darms, Absterben von Feten und/oder Aborte ausgelöst durch die Untersuchung (Turner und Hindson, 1975; Ott et al., 1981; Trapp und Slyter, 1983). Hingegen wurde bei Plant (1980) kein Beweis für eine erhöhte fetale Sterblichkeit oder Aborte bedingt durch die Anwendung dieses Verfahrens festgestellt.

Die Euterentwicklung bei der Ziege kann ab dem zweiten Trächtigkeitsmonat auf eine bestehende Trächtigkeit hindeuten, jedoch kommt es häufig vor, dass die Entwicklung des Euters erst im letzten Monat stattfindet (Watt et al., 1984). Bei der Röntgenuntersuchung kann eine Trächtigkeit mit einer Genauigkeit von 100% ab dem 70. Tag nach der Bedeckung festgestellt werden (Memon und Ott, 1980; Wilson, 1981; Saleh et al., 1988) und ab Tag 90 kann mit Sicherheit die Fetenzahl vorausgesagt werden (Memon und Ott, 1980). Die Verwendung von Echolot-Geräten trifft eine zuverlässige Diagnose beim Schaf ab dem 60. und bei der Ziege ab dem 110. Tag (Holtz, 1982). Durch den Nachweis von speziellen Proteinen, wie z.B. „placental lactogen“ (PL), wird ab der zweiten Hälfte der Trächtigkeit eine Diagnosegenauigkeit von 100% erreicht (Robertson et al., 1980).

2.2.2. Diagnose in der Trächtigkeitsmitte

Zu den Trächtigkeitsdiagnoseverfahren, die zwischen dem 35. und dem 60. Tag der Trächtigkeit angewendet werden können, zählt die Entnahme einer Zervikalschleimprobe. Damit wurde ab dem 42. Trächtigkeitstag ein 99%iger Trächtigkeitssachweis erbracht

(Bostedt et al., 1972). Vierzig Tage nach der Bedeckung lässt sich ein 97%iger Nachweis durch Untersuchung der Veränderungen am Vaginalepithel (Vaginalbiopsie) erzielen (Ghannam et al., 1972; Memon und Ott, 1980). Mittels Messung des Östronsulfats im Blut ab dem 49. Tag nach der Bedeckung, in der Milch ab Tag 35 der Trächtigkeit und Gesamtöstrogenkonzentration im Kot ab dem 56. Tag der Trächtigkeit ließ sich eine Trächtigkeit mit einer Genauigkeit von 100%, 88% bzw. 96.0% nachweisen (Tamanini et al., 1986; Murray und Newstead, 1988; Sindermann et al., 1992; Janowski et al., 1999).

2.2.3. Frühe Trächtigkeitsdiagnose

Hier finden sich alle Trächtigkeitsdiagnoseverfahren, die kurz nach der Bedeckung (weniger als 35 Tage) bei Schaf und Ziege anwendbar sind. Die Laparotomie zur digitalen Palpation der Gebärmutter wurde bei Memon und Ott (1980) ab dem 28. Trächtigkeitstag mit 97%iger Sicherheit durchgeführt. Die Ultrasonographie (Echtzeit-Ultraschallgerät, B-Mode), als nicht-invasive Trächtigkeitsdiagnosemethode (transrektal und transabdominal), kann zwischen lebenden und toten Feten und zwischen Einlingen und Mehrlingen unterscheiden. Sie wurde beim Schaf nach dem 21. Tag der Trächtigkeit (Kahn et al., 1990; Kahn et al., 1993; Kaulfuss et al., 1996a; Kaulfuss et al., 1996b; Zipper et al., 1997) und bei der Ziege, mittels der transrektalen Methode, am Tag 20 zur Erkennung von Fruchtwasser und am Tag 23 für den Nachweis des fetalen Herzschlages eingesetzt (Martinez et al., 1998). Die fetale Geschlechtsbestimmung war bei Schafen ab dem 60. Tag mit einer Sicherheit von 89% möglich (Coubrough und Castell, 1998). Transabdominal ließ sich Fruchtwasser am Tag 25 und fetaler Herzschlag am Tag 29 feststellen. Eine sichere Trächtigkeitsdiagnose ist mit Hilfe einer transrektalen Sonde ab Anfang der 4. Trächtigungswoche, bei transabdominaler Messung eine Woche später möglich (Kahn et al., 1990; Padilla und Holtz, 1999). Die Bestimmung der Progesteronkonzentration im Blut wurde mit 90%iger Sicherheit nach dem 20. Trächtigkeitstag (Memon und Ott, 1980; Agwu und Holtz, 1986) und in der Milch mit 88%iger Erfolgsrate (Pennington et al., 1982; Dionysius, 1991; Engeland et al., 1997) benutzt. Dies wurde durch Untersuchungen an Schafen durch ähnliche Ergebnisse bestätigt (Shemesh et al., 1979; Dickie und Holzmann, 1992). In der Gegenwart gibt es verschiedene Trächtigkeitsdiagnoseverfahren, die unterschiedliche Hormone oder Proteine verwenden. Einige Proteine, wie das Pregnancy-Specific Protein B (PSPB) wurden beim Schaf und bei der Ziege im Blutplasma ab dem 24. Tag der Trächtigkeit nachgewiesen (Willard et al., 1987; Humblot et al., 1990). Die PSPB-Konzentration konnte beim Schaf bis 30 Tage und bei der

Ziege bis 50 Tage nach der Geburt noch gemessen werden (Humblot et al., 1990). Ebenfalls wurde gezeigt, dass die „pregnancy-associated“ Glycoproteine (PAGs) als nützlicher Trächtigkeitsindikator eingesetzt werden können. Durch Untersuchung von PAG in der Ziegenmilch konnten Trächtigkeiten ab dem 32. Tag nach der Bedeckung festgestellt werden (González et al., 2001). Im Blut erzielten Sousa et al. (1999) schon ab Tag 24, González et al. (1999) ab dem 21. und Benítez-Ortiz (1992) beim Schaf ab dem 25. Tag Erfolge. Karen et al. (2002) stellten beim Schaf (Awassi x Merino) am Tag 22 mit einer Genauigkeit von 100 % die Trächtigkeit fest.

2.3. Hormone und Proteine der Plazenta zur Trächtigkeitsfeststellung bei Wiederkäuern

2.3.1. Gestagene

Gestagene sind Steroidhormone mit 21 Kohlenstoffatomen, die in ihrer Chemie dem Cholesterin nahestehen und im Eierstock (Gelbkörper und Follikel) und in der Plazenta gebildet werden (Band et al., 1987). Das Progesteron wird als hauptsächliches Hormon bei Wiederkäuern während der Gelbkörperphase der Brunst gebildet (Sangha et al., 2002). Dieses Hormon wird bei der Ziege hauptsächlich im Gelbkörper gebildet (Challis und Linzell, 1971). Die Gestagene leiten ihre Bezeichnung von ihrer Bedeutung für die Erhaltung der Trächtigkeit ab. Sie werden als Progesteron im Blutplasma, in der Milch und im Harn und als Progesteronmetaboliten (Pregnandion und hydroxyliertes Pregnan) im Kot bestimmt (Schwarzenberger et al., 1993; Schwarzenberger et al., 1996b; Palme et al., 1997). Bei Wiederkäuern werden die Progesteronmetaboliten über den Kot, als wichtigsten Ausscheidungsweg, und über den Harn ausgeschieden (Velle, 1963; Adams et al., 1994; Palme et al., 1996).

Progesteron wird im Blutplasma und in der Milch bestimmt und als Trächtigkeitsdiagnose bei der Ziege (Memon und Ott, 1980), beim Schaf (Robertson und Sarda, 1971; Shemesh et al., 1979; Memon und Ott, 1980), beim Rind (Robertson und Sarda, 1971; Humblot et al., 1988a; Humblot, 2002), beim Hirsch (Willard et al., 1996, 1998) und anderen Zootieren (White et al., 1995) benutzt. Im Harn und im Kot wurden die Progesteronmetaboliten (Schwarzenberger et al., 1996b) zur Überwachung der Funktion des Gelbkörpers während des Zyklus, bei Abortrisiko, Eintritt der Pubertät, Saisonalität und zur Trächtigkeitsdiagnose bei Ziege, Schaf, Rind und wiederkäuenden Zootieren verwendet (Borjesson et al., 1996; Desaulniers et al.,

1989; Bamberg und Schwarzenberger, 1990; Kirkpatrick et al., 1993; Larter et al., 1993; Larter et al., 1994; Matsuda-Motomura et al., 1995; Schwarzenberger et al., 1996a; Möstl et al., 1993; Shideler et al., 1993a; Brown et al., 1995; Schwarzenberger et al., 1996a, 1996b; Heistermann et al., 1998; Morrow und Monfort, 1998; Patzl et al., 1998; Schwarzenberger et al., 1998). Jedoch zeigen die Gestagene lediglich das Vorhandensein funktioneller Gelbkörper an. Das Vorhandensein von Progesteron wird bei Gelbkörpern während des Zyklus, während der Trächtigkeit, aber auch bei persistierenden Gelbkörpern oder bei Gelbkörperzysten nachgewiesen.

2.3.2. Östrogene

Die Östrogene besitzen 18 Kohlenstoffatome und sind wie die Gestagene (C-21) und Androgene (C-19) Steroidhormone, die in ihrer Struktur dem Cholesterin nahestehen und im Eierstock (Follikel), den Hoden in geringen Mengen, der Nebennierenrinde und in der Plazenta gebildet werden (s. 2.6). Es kommen im wesentlichen drei Östrogene mit unterschiedlicher biologischer Aktivität vor: Östron, Östradiol und Östriol (Velle, 1963).

Generell wurden Östrogene als unkonjugiertes freies Östron und/oder Östradiol-17 α oder Östradiol-17 β mit spezifischen Antikörpern oder mit gegen unkonjugierte Gesamtöstrogene gerichtete Antikörper in Blut, in der Milch, Harn und Kot bestimmt. Der Nachweis von Östrogenen wird zur Trächtigkeitsdiagnose bei Ziege (Tamanini et al., 1986; Safar-Hermann et al., 1987; Murray und Newstead, 1988; Sindermann, 1991; Holtz, 1992; Janowski et al., 1999), Rind (Holdsworth et al., 1982; Bamberg et al., 1985) und wiederkäuenden Zootieren (Safar-Hermann et al., 1987; Chapeau et al., 1993; White et al., 1995) benutzt.

Im Vergleich zu den Gestagenen bietet eine hohe Östrogenkonzentration einen direkten Hinweis auf das Funktionieren der Feto-Plazentalen-Einheit und damit das Vorhandensein lebender Feten (Wooding und Flint, 1994). Ab dem 56. Trächtigkeitstag kann bei der Ziege im Kot eine Trächtigkeit mit einer Genauigkeit von 96% festgestellt werden (Sindermann et al., 1992). Eine subnormale Östrogenkonzentration hingegen zeigt eine Störung der endokrinologischen Funktion der Feto-Plazentalen-Einheit an (Engeland et al., 1999). Das Hormon Östradiol-17 α wird in der Feto-Plazentalen-Einheit synthetisiert (Currie et al., 1973 in Holtz, 1992; Dhinsda et al., 1981) und hauptsächlich in der Leber zu Östronsulfat umgewandelt (Thorburn et al., 1972).