

**Die Bedeutung verschiedener extrinsischer Faktoren für die
Embryonengewinnung beim Rind**

Johannes Hofmann

München 2005

Aus der
Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Kommissarische Leitung: Prof. Dr. U. Matis

Angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. J. Braun und Prof. Dr. R. Mansfeld

**Die Bedeutung verschiedener extrinsischer Faktoren für die
Embryonengewinnung beim Rind**

INAUGURAL-DISSERTATION
Zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Johannes Alfred Hofmann
aus Neustadt / Aisch

München 2005

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle

Referent: Univ.-Prof. Dr. J. Braun

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. A. Höflich

Tag der Promotion: 11. Februar 2005

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	1
2. LITERATUR	2
2.1 Entwicklung des kommerziellen Embryotransfers beim Rind	2
2.1.1 Geschichtlicher Hintergrund	2
2.1.2 Aktueller Stand und Probleme	2
2.2 Einfluss verschiedener Faktoren auf die Anzahl und Qualität gewonnener Embryonen	6
2.2.1 Betrieblicher Einfluss auf das Spülergebnis	8
2.2.2 Fruchtbarkeitsmanagement und Spenderauswahl	9
2.2.3 Fütterung	10
2.2.4 Haltungsform und Herdengröße	13
2.2.5 Stress	15
2.2.6 Betriebsstandort	16
2.2.7 Subklinische Infektionen	17
2.3 Chlamydien	17
2.3.1 Morphologie und Lebenszyklus der Erreger	17
2.3.2 Taxonomie	20
2.3.3 Chlamydieninfektionen bei Rindern	22
2.3.4 Diagnostik	24
2.3.5 Therapie und Prophylaxe	27
3. MATERIAL UND METHODEN	28
3.1 Tiere	28
3.2 Klinische Untersuchung	28
3.3 Durchführung des Embryotransfers	29
3.3.1 Superovulation und künstliche Besamung	29
3.3.2 Spül- und Kulturmedium	30

3.3.3 Gewinnung der Embryonen und Eizellen	31
3.3.4 Suche und Beurteilung der Embryonen und Eizellen	32
3.4 Probenentnahme und –analyse	35
3.4.1 Nachweis von Antikörpern gegen Chlamydien	35
3.4.2 Nachweis von <i>Chlamydophila abortus-DNA</i> in der Spülflüssigkeit	35
3.5 Ultrasonographische Untersuchung	36
3.6 Datenaufnahme zu den Spendertieren	36
3.7 Datenaufnahme zu Herdenmanagement und Fruchtbarkeitslage in den ET-Betrieben	36
3.8 Körperkonditionsbeurteilung	39
3.9 Statistische Methoden	40
4. ERGEBNISSE	42
4.1 Embryonen- und Eizellenausbeute	42
4.2 Sonographische Befunde am Spültag	43
4.2.1 Gesamtzahl der Corpora lutea	43
4.2.2 Sonographisch dargestellte Follikel	44
4.3 Individuelle Einflüsse der Spender	45
4.3.1 Alter der Spender	45
4.3.2 Voruntersuchung der Spender	46
4.3.3 Abstand zwischen letzter Kalbung und Spülung	47
4.4 Betriebs- und Herdenstruktur	48
4.4.1 Größe der ET-Betriebe	48
4.4.2 Haltungsbedingungen	49
4.4.3 Körperkondition	50
4.4.4 Herdengesundheit	50
4.4.5 ET-Erfahrung der Betriebe	51
4.5 Fruchtbarkeitsmanagement	52

4.5.1 Brunstbeobachtung	52
4.5.2 Besamungsmanagement	52
4.6 Fruchtbarkeitskennzahlen	53
4.6.1 Zwischenkalbezeit	53
4.6.2 Erwartete Zwischenkalbezeit	54
4.6.3 Rastzeit	54
4.6.4 Verzögerungszeit	55
4.6.5 Erstbesamungserfolg	56
4.6.6 Trächtigkeitsindex	57
4.6.7 Trächtigkeitsrate	57
4.6.8 Abgänge wegen Unfruchtbarkeit	58
4.6.9 Anteil abortierender Kühe	58
4.7 Chlamydien- Nachweis bei den Spendertieren	60
4.7.1 Nachweis von Antikörpern gegen Chlamydien	60
4.7.2 Nachweis von spezifischer <i>Chlamydophila abortus</i> -DNA	60
4.7.3 Zusammenhänge zwischen dem direkten und indirekten Nachweis von Chlamydien	60
5.DISKUSSION	61
5.1 Ergebnisse der Embryonengewinnung	61
5.2 Ergebnisse der sonographischen Untersuchung nach der Embryonengewinnung	62
5.3 Einfluss der Spenderkuh auf die Embryonengewinnung	63
5.4 Einfluss des Betriebes	65
5.5 Herdenfruchtbarkeit in ET-Betrieben	69
5.6 Einfluss von Chlamydien auf die Embryonenausbeute	74
5.7 Abschlussbetrachtung	77
6. ZUSAMMENFASSUNG	79

7. SUMMARY	81
8. LITERATURVERZEICHNIS	83

1. Einleitung

Der Embryotransfer beim Rind wird seit vielen Jahren in zahlreichen Zuchtprogrammen wie z.B. MOET (Multiple Ovulation and Embryo Transfer) oder IZP (Innovatives Zuchtprogramm) angewendet, um insbesondere die Anzahl der männlichen Nachkommen ausgewählter Bullenmütter zu vergrößern. Als Serviceleistung wird Embryotransfer vor allem von Milcherzeugerbetrieben genutzt, die sich von ihren Spitzenkühen möglichst viel weibliche Nachzucht erhoffen. Wenn Tiere aus der unteren Leistungsgruppe der Herde als Empfänger genutzt werden, ergeben sich zusätzliche Vorteile für das genetische Potential einer Herde. Entscheidend für die Anwendung des Embryotransfers im milchproduzierenden Betrieb sind stabile Spülergebnisse auf möglichst hohem Niveau, um die Mehrkosten pro Kalb gering zu halten. Hier wurde in den letzten 20 Jahren nur wenig Fortschritt erzielt. Durchschnittliche Spülergebnisse liegen derzeit bei 5 bis 6 transfertauglichen Embryonen, bei etwa einem Drittel aller Spülungen wird kein tauglicher Embryo gewonnen. Dabei zeigen sich zwischen den Betrieben, die Embryotransfer nutzen, erhebliche Unterschiede im Spülerfolg.

Ziel dieser Arbeit war es, ET-Betriebe mit sehr guten bzw. schlechten Spülergebnissen hinsichtlich Betriebsstruktur, -management und der aktuellen Fruchtbarkeitslage im Betrieb zu vergleichen. Zudem sollte der Einfluss subklinischer Infektionen mit Chlamydien auf die Embryonenausbeute ermittelt werden.

2. Literatur

2.1 Entwicklung des kommerziellen Embryotransfers beim Rind

2.1.1 Geschichtlicher Hintergrund

Die grundsätzliche Möglichkeit der Superovulation beim Rind beschrieben erstmals CASIDA et al. (1943), die Kühe mit Hypophysenextrakten von Rind und Schaf behandelten. Schon zu dieser Zeit erkannte man eine erhebliche Variabilität der Ovarreaktion. Die ersten Trächtigkeiten durch Embryotransfer beim Rind wurden von UMBAUGH (1949) erzielt. Alle 4 Empfänger abortierten jedoch vor dem 8. Trächtigkeitsmonat. Das erste aus Embryotransfer stammende Kalb wurde 1951 geboren (WILLET et al. 1951). Der Tag-5 Embryo wurde durch Schlachtung des Spendertieres gewonnen und mittels chirurgischen Transfers auf das Empfängertier übertragen. Die kommerzielle Nutzung des Embryotransfers begann in den frühen 70er Jahren in Nordamerika. Ursache war die große Nachfrage nach europäischen Zweinutzungsrasen, unter anderem auch Fleckvieh, die wegen hoher Transportkosten und langen Quarantänefristen in nur sehr begrenztem Umfang importiert werden konnten (SEIDEL u. SEIDEL 1991). Als Voraussetzungen für den enormen Aufschwung des kommerziellen Embryotransfers bis Anfang der 80er Jahre sieht HASLER (2003) die Entwicklung unblutiger Spül- und Transfermethoden (HAHN 1978; HAHN u. HAHN 1976; SREENAN 1975), den Einsatz von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ zur Synchronisation von Spendern und Empfängern (ROWSON et al. 1972) und die Möglichkeit, Embryonen mit Hilfe von Kryoprotectiva wie Dimethylsulfoxid oder Glycerin einzufrieren (WILMUT u. ROWSON 1973). Eine deutliche Erleichterung des praktischen Embryotransfers brachte die Verwendung von Äthylenglycol als Kryoprotectivum (VOEKLEL u. HU 1992). Durch den Direkttransfer ist der zeitliche und technische Aufwand einer Embryonen-Übertragung nicht größer als bei einer künstlichen Besamung mit Tiefgefrier-Sperma (GÖRLACH 1997).

2.1.2 Aktueller Stand und Probleme

Im Jahr 2002 wurden weltweit 101.665 Spülungen beim Rind durchgeführt und dabei 629.687 transfertaugliche Embryonen gewonnen (Tab. 1). Nordamerika ist mit 41,5 % der Spülungen und 42,1 % der transfertauglichen Embryonen der führende Kontinent, gefolgt von Europa (18,0 % der Spülungen), Asien (17,3 % der Spülungen) und Südamerika (14,4 % der Spülungen). Neben nordamerikanischen

und europäischen Ländern wird vor allem in Brasilien, Japan, China und Australien zunehmend ET, überwiegend bei Fleischrassen, betrieben. Innerhalb Europas wurden in Frankreich, den Niederlanden und in Deutschland die meisten Spülungen durchgeführt (THIBIER 2003).

Tabelle 1: Weltweite Embryotransferaktivität 2002 (THIBIER 2003)

Kontinent	Spülungen	Transfertaugliche Embryonen	Übertragene Embryonen	Transfertaugliche Embryonen je Spülung
Afrika	1.968	12.641	14.342	6,4
Nordamerika	42.238	265.175	189.124	6,3
Südamerika	14.189	90.572	119.118	6,4
Asien	17.557	120.951	92.412	6,9
Europa	18.294	102.996	90.371	5,6
Oceania	7.419	37.352	32.945	5,0
Gesamt	101.665	629.687	538.312	6,2

Trotz aller technischen Fortschritte konnten die Spülergebnisse in den letzten Jahren weltweit nur wenig verbessert werden (GALLI et al. 2003; HASLER 2003) (Tab. 2). Bei einem Vergleich der Spülergebnisse eines nordamerikanischen Embryotransferteams im Abstand von 20 Jahren lag die durchschnittliche Anzahl tauglicher Embryonen pro Spülung im Jahr 1979 bei 4,6 , im Jahr 1999 bei 4,8 (HASLER 2003). Weltweit lag der Durchschnitt im Jahr 2002 bei 6,1, auf europäischer Ebene lag der Wert nach Angaben der A.E.T.E. (Association Europeenne de Transfert Embryonnaire) bei 5,6 transfertauglichen Embryonen pro Spülung (Tab. 1). In Deutschland waren es laut ADR (Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter) im Jahr 2002 durchschnittlich 5,5, in Bayern nach Angaben der ABB (Arbeitsgemeinschaft der Besamungsstationen in Bayern) 7,1 Embryonen pro Spülung.

Tabelle 2: Weltweite Entwicklung der durchschnittlichen Anzahl transfertauglicher Embryonen pro Spülung von 1996 bis 2002 (Newsletter der International Embryo Transfer Society 1997 bis 2003)

Jahr	Spülungen	Transfertaugliche Embryonen	Transfertaugliche Embryonen je Spülung
1996	88.310	477.875	5,4
1997	82.307	456.258	5,5
1998	96.177	528.688	5,5
1999	119.164	714.356	6,0
2000	113.058	664.320	5,9
2001	101.291	580.077	5,7
2002	101.665	629.687	6,2

Die Wirtschaftlichkeit des Embryotransfers wird neben der begrenzten Anzahl tauglicher Embryonen auch durch die große Variabilität der Spülergebnisse und den Anteil an Spülungen ohne transferfähige Embryonen (sog. Nullrunden) in Frage gestellt (HAHN 1992; HAHN et al. 1996; HASLER 2003; KAFI u. MCGOWAN 1997; NIEMANN 1986). Die Spannweite der Spülergebnisse reicht von null bis ca. 60 transfertauglichen Embryonen. Der Anteil an Spülungen ohne taugliche Embryonen liegt zwischen 20 % und 40 % (CHRISTIE et al. 1992; HAHN 1992; HASLER et al. 1983; HASLER 2003; REINDERS et al. 1994).

Bei Betrachtung der deutschen Embryotransferstatistik ist, entgegen dem Trend der Vorjahre, ab dem Jahr 2001 eine Verschlechterung der Spülergebnisse zu erkennen (Tab. 3). Gleichzeitig ist zwischen 2000 und 2002 ein Rückgang der Spülungen um 35 % zu verzeichnen (Abb. 1). Mögliche Ursachen für diese Entwicklung sind in der ökonomisch angespannten Situation der Landwirtschaft und der Verunsicherung der Tierhalter durch Tierseuchen wie BSE (Bovine Spongiforme Encephalopathie) und MKS (Maul- und Klauenseuche) zu sehen. Zeitgleich veränderte sich der arzneimittelrechtliche Umgang mit FSH-Präparaten, wie beispielsweise Folltropin®. Dessen vom Gesetzgeber geduldeter Einsatz, wurde Anfang 2001 untersagt, wodurch in praxi nur noch der Wirkstoff PMSG (eCG) für die Superovulation zur Verfügung stand. Die Superovulationsantwort auf PMSG ist jedoch schlechter als bei Anwendung von FSH, zudem muss mit unerwünschten Wirkungen wie Bildung von Ovarzysten gerechnet werden (GALLI et al. 2003; LEIDING 2001; THIBIER 2002).

Tabelle 3: Entwicklung des Embryotransfers in Deutschland von 1984 bis 2002 (ADR-Jahresbericht 2003)

Jahr	Spülungen	Gewonnene Embryonen	Transfertaugliche Embryonen	Transfertaugliche Embryonen je Spülung
1984	1.046	9.818	5.288	5,1
1985	1.458	12.360	7.021	4,8
1986	1.855	17.388	9.816	5,3
1987	1.966	18.775	9.873	5,0
1988	2.560	21.444	11.908	4,7
1989	3.780	33.915	20.194	5,3
1990	4.264	39.212	23.350	5,5
1991	4.170	37.948	22.372	5,4
1992	3.506	32.991	18.444	5,3
1993	3.422	32.471	18.312	5,4
1994	3.662	33.448	18.756	5,1
1995	3.890	37.877	20.053	5,2
1996	4.080	42.878	24.432	6,0
1997	3.796	41.316	23.955	6,3
1998	4.139	43.511	26.683	6,4
1999	4.247	46.861	29.461	6,9
2000	3.942	48.417	29.624	7,5
2001	3.229	33.535	19.790	6,1
2002	2.567	23.693	14.099	5,5

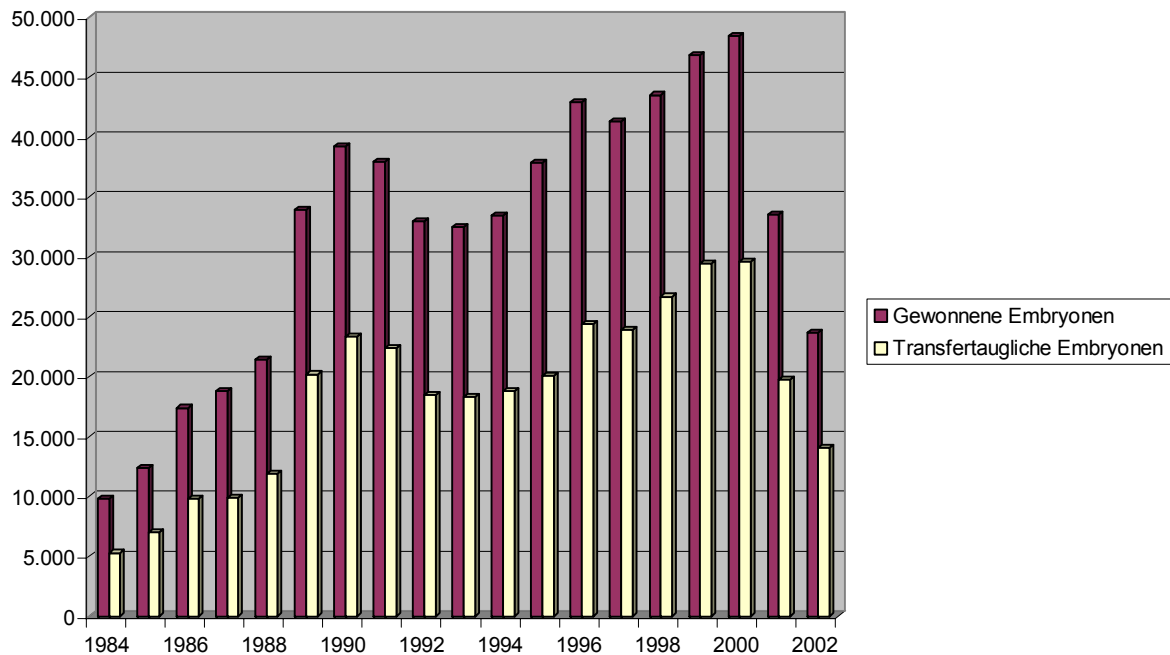


Abbildung 1: Anzahl gewonnener und davon transfertauglicher Embryonen in Deutschland (ADR-Jahresbericht 2003)

2.2 Einfluss verschiedener Faktoren auf die Anzahl und Qualität gewonnener Embryonen

Seit Einführung des Embryotransfers in die Praxis ist die begrenzte Anzahl an tauglichen Embryonen und vor allem die hohe Variabilität der Superovulationsreaktionen Anlass zur Suche nach möglichen Faktoren mit Einfluss auf die Spülergebnisse. Bei den bislang ermittelten Parametern werden tierspezifische (intrinsische) und umweltbedingte (extrinsische) Einflüsse unterschieden (Tab. 4). Zu den tierspezifischen Faktoren zählen Rasse, Alter und Gesundheitszustand des Spenders. Hierbei spielen insbesondere Stoffwechselsituation, Reproduktionsstatus und die Geschlechtsgesundheit des Tieres eine wichtige Rolle (KAFI u. MCGOWAN 1997; NIEMANN u. MEINECKE 1993). Genetische Einflüsse des Spenders haben dagegen weniger Bedeutung für das Spülergebnis. Die in Mutter-Tochter-Modellen errechnete Heritabilität für die Anzahl gewonnener Embryonen war 0,159. Die Wiederholbarkeit der Ergebnisse lag bei 0,301 (BENYEI et al. 2004).

Tabelle 4: Faktoren der Superovulationsergebnisse beim Rind (BREM 1999, KAFI u. MCGOWAN 1997, NIEMANN u. MEINECKE 1993)

Tierspezifische Faktoren	Umweltfaktoren
<ul style="list-style-type: none"> • Rasse • Alter • Dauer der biologischen Rastzeit • Geschlechtsgesundheit • Körpergewicht • Milchleistung • Dominanter Follikel • Endokrine Ausgangslage (v.a. LH, Progesteron, Östrogen) • Individuelle Veranlagung 	<ul style="list-style-type: none"> • Jahreszeit • Klima • Stress • Fütterung • Haltungssystem • Subklinische Infektionen • Wiederholte Superovulation • Verwendetes Gonadotropin • Behandlungsregime und Behandlungszeitraum • Besamungsbulle und Anzahl der Besamungen

Unter den extrinsischen Faktoren haben, wie auch im „normalen“ Fortpflanzungsgeschehen des Rindes, saisonale und klimatische Gegebenheiten Einfluss auf die Fertilität von Spendertieren, sind jedoch nur wenig zu beeinflussen (FREYTAG et al. 1995; LOTTHAMMER 1999). Des Weiteren hängt der Erfolg der Superovulation selbstverständlich in besonderer Weise von der durchgeführten Hormonbehandlung ab. Entscheidend sind hier die Art, die Dosierung und das Applikationsschema des angewendeten Gonadotropins (KANITZ et al. 2002; KELLY et al. 1997) sowie die Anzahl wiederholter Superovulationsbehandlungen (BECKER et al. 1996).

Da in kommerziellen Embryotransferprogrammen der gesamte Ablauf des Embryotransfers überwiegend innerhalb des Herkunftsbetriebes abläuft und dadurch auch der Betriebsleiter stark in den Ablauf mit einbezogen wird, kann der Betrieb als Summe vieler Umweltfaktoren angesehen werden (CAMP 1989). Dazu zählen neben der Spenderauswahl des Landwirtes Faktoren wie Fruchtbarkeitsmanagement, Fütterung, Haltungsbedingungen, Stress und subklinische Infektionen des Spendertieres (DOBSON et al. 2001; KAFI u. MCGOWAN 1997; TROPFMANN 2000).

2.2.1 Betrieblicher Einfluss auf das Spülergebnis

Zahlreiche Autoren zählen den Betrieb zu den wichtigsten Kriterien mit Einfluss auf das Spülergebnis. So sieht HAHN (1992) in einer Auswertung von 2972 Spülungen den Betrieb als den mit Abstand wichtigsten Faktor für den Superovulationserfolg. Weit weniger entscheidend schätzt er die folgenden Kriterien in absteigender Reihenfolge ein: Jahreszeit, Alter der Spendertiere, Anzahl der Spülungen, Zeit zwischen Kalbung und Spülung, Behandlung zur Zyklussynchronisation, Milchleistung, Fett- und Eiweißgehalt der Milch, Zuchtwert für Fettgehalt, Anzahl der Besamungen und Non-return-Rate des Besamungsbullen. Nach PREISINGER et al. (1990) sind so genannte „Nullrunden“ (Spülungen ohne transferfähige Embryonen) eine wesentliche Ursache für die große Variation der Embryonenausbeute. So lagen die Mittelwerte für die Gesamtzahl gewonnener Embryonen in 14 Betrieben mit durchschnittlich 14 Spendertieren zwischen 4,7 und 11, die mittlere Anzahl transfertauglicher Embryonen zwischen 4,2 und 7,9 pro Spülung. Dabei wurde in 3 Betrieben bei einem Drittel aller Spülungen kein transfertauglicher Embryo gewonnen. Dagegen lag der Anteil an Nullrunden in Spitzenbetrieben unter 10 %. Sowohl die Gesamtzahl gewonnener Embryonen als auch die Anzahl transfertauglicher Embryonen waren signifikant durch den Betrieb beeinflusst (WICHMANN 1990). Bei einer Auswertung von 3249 Kühen aus 53 Betrieben konnten NEUMANN et al. (1994) einen signifikanten Einfluss des Betriebes auf die Ovarreaktion und auch auf die Anzahl an transfertauglichen Embryonen pro Spender feststellen. Auch die Trächtigkeitsraten und die Zahl der geborenen Kälber pro Spülung waren stark vom Herkunftsbetrieb des Spenders abhängig. Signifikante Unterschiede in der Anzahl an transfertauglichen Embryonen fand auch CAMP (1989) bei einem Vergleich von 18 Milchviehbetrieben. Noch deutlicher waren die Unterschiede bei den Parametern Anzahl tragender Empfänger und geborener Kälber. Dagegen ergaben sich für die durchschnittliche Gesamtzahl an gewonnenen Eizellen und Embryonen zwar hohe, aber keine signifikanten Abweichungen zwischen den Betrieben (Mittelwerte für gewonnene Embryonen/Spülung zwischen 10,4 und 3,9). Bei einer retrospektiven Studie in 29 ostfriesischen Milchviehbetrieben, in denen 1934 Kühe superovuliert wurden, erwies sich der Einfluss des Betriebes ebenfalls als hochsignifikant. Die große Variabilität zwischen den einzelnen Betrieben zeigte sich in den Mittelwerten für die Merkmale Gesamtzahl gewonnener Eizellen/Embryonen (5,05 bis 13,26) und Anzahl

transfertauglicher Embryonen (2,79 bis 8,22) (HUPKA 2000). Neben diesen Untersuchungen über die allgemeine Bedeutung des Betriebes finden sich in der Literatur auch Aussagen über die Bedeutung einzelner Komponenten dieses Faktorenkomplexes.

2.2.2 Fruchtbarkeitsmanagement und Spenderauswahl

Die umweltbedingten Einflüsse auf die Fertilität einer Herde werden zum großen Teil durch das Betriebsmanagement mitbestimmt. Im Bereich des Fruchtbarkeitsmanagements sind dies Faktoren wie die Bullenauswahl, die technische Durchführung der KB, der Zeitpunkt der Besamung, das Beachten der Rastzeit, die Brunsterkennung und Dokumentation, die Hygiene zum Zeitpunkt der Abkalbung und im Puerperium sowie die Technik bei der Geburtshilfe durch den Landwirt. Damit sind Sorgfalt, Zuverlässigkeit, Interesse und Ausbildungsstand des Betreuers der Tiere von großer Bedeutung (DE KRUIF et al. 1998; LOTTHAMMER 1999). Auch HANSELMANN (1995) misst der Betriebsführung großen Einfluss auf die Herdenfruchtbarkeit bei, vermutet jedoch, dass das allgemeine Fruchtbarkeitsmanagement beim Embryotransfer weniger zum Tragen kommt, da den in der Regel wertvollen Spendertieren spezielle Aufmerksamkeit durch den Besitzer geschenkt wird. HAHN et al. (1980) konnten zeigen, dass Spendertiere hinsichtlich ihrer Fruchtbarkeit vom Fertilitätsstatus der Herde beeinflusst werden. In einer Untersuchung über die Beziehung zwischen Spülergebnissen von Donoren und den Erstbesamungsergebnissen ihrer Herkunftsbetriebe konnte anhand der Non-return-Raten ein deutlicher Zusammenhang gefunden werden. Bei Spendern aus Herden mit einer Non-return-Rate über 50 % konnten durchschnittlich 5,9 Embryonen gewonnen werden, wovon 64,4 % als transfertauglich beurteilt wurden. Dagegen lag das Ergebnis in Herden mit Non-return-Raten unter 50 % bei 5 Embryonen pro Spülung und einem Anteil an transfertauglichen Embryonen von 57,9 %.

Bei der Auswahl eines Spendertieres gibt der allgemeine Reproduktions- und Gesundheitsstatus, speziell aber der Verlauf der letzten Geburt, der Abgang der Nachgeburt, die erste beobachtete Brunst und die Regelmäßigkeit der folgenden Brunstzyklen entscheidende Hinweise auf den Erfolg einer Superovulationsbehandlung (NIEMANN u. MEINECKE 1993). Trotz einer

gründlichen gynäkologischen Untersuchung müssen diese Informationen in der Regel zum großen Teil aus dem Vorbericht entnommen werden (HAHN et al. 1980). Dabei stellen die Aussagen des Tierbesitzers häufig subjektive Einschätzungen dar, die zu falschen Schlüssen führen können. Die Fähigkeit des Besitzers, den Gesundheitsstatus seines Tieres richtig einzuschätzen nimmt somit Einfluss auf die richtige Spenderauswahl bzw. die Wahl des richtigen Zeitpunkts für die Superovulation (GÖRLACH 1997).

2.2.3 Fütterung

Die Fütterung übt sowohl über den Donor als auch über die Rezipienten Einfluss auf den Erfolg eines Embryotransferprogrammes aus. Die Ernährung des Spenders hat Effekte auf den Superovulationserfolg, die Vitalität und Befruchtungsrate der Eizellen und die Überlebensrate der Embryonen (DUNN 1980). Mehrere Autoren berichten über negative Auswirkungen einer energetischen Überversorgung der Spender. MANTOVANI et al. (1993) zeigten, dass eine ad libitum Fütterung von Jungrindern 100 Tage vor der Superovulation zu niedriger Anzahl und Qualität der gewonnenen Embryonen führt. NIBART et al. (1997) ermittelten bei dem Vergleich schlechter (weniger als 3 transfertaugliche Embryonen), mittelmäßiger (3 bis 6 transfertaugliche Embryonen) und guter (mehr als 6 transfertaugliche Embryonen) Spülergebnisse eine deutlich geringere Energieversorgung der Tiere mit den besten Resultaten. Bei einem Versuch mit trockenstehenden Zebu-Kühen wurden die Tiere für 3 Monate entweder energetisch bedarfsgerecht ernährt (Gruppe 1) oder überversorgt (Gruppe 2). Zu Beginn der Superovulation lagen Körpergewicht und Body condition score (BCS) der Tiere aus Gruppe 2 deutlich über dem der Kühe aus Gruppe 1. Sowohl die Ovarreaktion, gemessen an der Zahl palpierbarer Corpora lutea pro Kuh, als auch die Anzahl transfertauglicher Embryonen war in der ersten Gruppe deutlich besser. Tiere der zweiten Gruppe lieferten keine Embryonen, wofür die Autoren eine erkennbare Neigung zur Anbildung von Ovarzysten verantwortlich machen (SIDDIQUI et al. 2002).

Die Auswirkung einer kurzfristig restriktiven Fütterung im Zeitraum der Superovulation bis zur Embryonengewinnung zeigten NOLAN et al. (1998) an Jungrindern. Dabei erfolgte beim Beginn der Superovulationsbehandlung eine schlagartige Reduktion der Energieaufnahme. Die so gefütterten Tiere entwickelten

im Vergleich zur ad libitum gefütterten Kontrollgruppe eine erhöhte Zahl an Follikeln und lieferten Embryonen besserer Qualität. Die Anzahl gewonnener Embryonen unterschied sich dagegen nur unwesentlich. Entgegen diesen Ergebnissen konnten GONG et al. (2002) die Ovarreaktion durch eine energiereiche Fütterung 3 Wochen vor der Superovulation verbessern. Die mit doppeltem Erhaltungsbedarf versorgten Jungrinder reagierten mit signifikant mehr angebildeten Follikeln als die Vergleichsgruppe mit einfacher Bedarfsdeckung. Die Anzahl der Corpora lutea und der Plasma-Progesteronspiegel nach induzierter Ovulation waren ebenfalls deutlich höher. Die gleiche Arbeitsgruppe hatte zuvor schon gezeigt, dass bei Färsen die Anzahl kleiner Follikel (< 4 mm) allein durch eine kurzfristige Erhöhung der Energieaufnahme gesteigert werden kann (GUTIERREZ et al. 1997).

HAFNER et al. (1991) verglichen mit Hilfe der Rückenfettdicke-Messung die Nettoenergiesituation und den Fettstoffwechsel von laktierenden Spendern post partum mit deren Spülergebnissen. Kühe, die beim Abkalben als verfettet eingestuft wurden, lieferten tendenziell weniger transfertaugliche Embryonen als Tiere mit normaler Kondition. Die Verlaufsmessung der Rückenfettdicke zeigte, dass sich eine anhaltende negative Energiebilanz und die damit verbundene Lipolyse im Zeitraum der Superovulation (10.-18. Woche post partum) deutlich negativ auf die Anzahl tauglicher Embryonen auswirkt.

In einer Untersuchung über verschiedene Rationstypen mit unterschiedlichen Nährstoff- und Vitamingehalten konnten von bedarfsgerecht versorgten Spendertieren durchschnittlich mehr transfertaugliche Embryonen gewonnen werden als bei einer Unterversorgung mit Energie, Eiweiß und β -Karotin (MENGEL 1988). BLANCHARD et al. (1990) verglichen 2 Rationen für Spendertiere, die bei gleichem Rohproteingehalt (16 %) unterschiedliche Anteile pansenverdaulichen Proteins (64 % bzw. 73 %) aufwiesen. Unterschieden sich die absoluten Zahlen der gewonnenen Embryonen nur unwesentlich, so zeigte sich jedoch in den prozentualen Anteilen befruchteter und auch transfertauglicher Embryonen ein signifikant negativer Effekt der Ration mit höherem Anteil von pansenverdaulichem Protein. Die Anzahl der Donoren ohne jeden transfertauglichen Embryo war in dieser Gruppe deutlich höher. Auch HUMBLLOT et al. (1998) fanden eine signifikant negative Korrelation zwischen

einer hohen Menge aufgenommenen verdaulichen Proteins und der Anzahl transfertauglicher Embryonen.

Als Erklärung für die Zusammenhänge zwischen der Fütterung und dem Superovulations- bzw. Spülergebnis der Spendertiere finden sich in der Literatur verschiedene Ansätze. MURPHY et al. (1991) beobachteten bei Rindern mit energiereicher Ration vermehrt dominante Follikel. Dagegen wirkte sich eine kurzzeitig restriktive Fütterung negativ auf deren Wachstumsrate und maximale Größe aus (MACKEY et al. 1997). Die hemmende Wirkung eines funktionell dominanten Follikels auf die untergeordneten Follikel beider Ovarien wurde von GINTHER et al. (1989) beschrieben. Dies ist die Ursache für den häufig zu findenden signifikant negativen Einfluss eines zu Stimulationsbeginn vorhandenen dominanten Follikels auf das Superovulationsergebnis (BUNGARTZ u. NIEMANN 1994; ROULLIER et al. 1996; SPITSCHAK et al. 1995).

Die durch exzessive Ernährung veränderten Insulinspiegel könnten eine mögliche Ursache fütterungsbedingter Unterschiede im Superovulationsergebnis sein (SIDDIQUI et al. 2002). Die durch erhöhte Insulinwerte herabgesetzte LH-Ausschüttung (DOWNING u. SCARAMUZZI 1997) wird für das vermehrte Auftreten von Ovarzysten bei Donoren mit hohem BCS verantwortlich gemacht. Auch HUMBLOT et al. (1998) fanden bei Färsen mit hoher Futteraufnahme eine geringere Anzahl transfertauglicher Embryonen bei gleichzeitig signifikant erhöhten Insulinspiegeln. In engem Zusammenhang mit dem Insulin stehen die Insulin-like growth factors (O'CALLAGHAN u. BOLAND 1999). So ist die Konzentration von Insulin-like growth factor (IGF-I) in der Follikelflüssigkeit deutlich vom Ernährungszustand abhängig. Tiere mit extrem niedrigem oder hohem BCS weisen vergleichsweise geringe IGF-I Konzentrationen auf (RAYAN et al. 1994). Es ist nachgewiesen, dass IGF-I an der Sensibilisierung der Granulosa-Zellen gegenüber Gonadotropinen und der Eizellreifung und frühen Embryonalentwicklung beteiligt ist (KANE et al. 1997).

Ein weiterer Ansatz für die Erklärung fütterungsbedingter Einflüsse ergibt sich aus der essentiellen Bedeutung des Progesterons für die Eizell- und frühe Embryonalentwicklung. So konnte bei energetisch dauerhaft übertersorgten Schafen

eine deutliche Reduktion des Plasma-Progesterongehalts gemessen werden (MCEVOY et al. 1995). Ein hoher Proteingehalt in der Ration von Milchkühen führte ebenfalls zu niedrigen Progesteronwerten (JORDAN u. SWANSON 1979). Nach NOLAN et al. (1998) sind höhere Progesteronspiegel mitverantwortlich für die bessere Embryonenqualität von restriktiv gefütterten Färsen. Die Autoren vermuten, dass es durch den bei ad libitum gefütterten Tieren erhöhten Blutfluss in der Leber zu vermehrtem Progesteron-Abbau kommt.

Durch toxische Effekte von Harnstoff und Ammoniak als Abbauprodukte einer proteinreichen Ration könnte es zu einer Schädigung von Eizellen und Embryonen kommen (BLANCHARD et al. 1990). Dagegen konnten KOMMISRUUD et al. (2002) die Embryonenzahl und Qualität durch Zufüttern von Harnstoff, selbst bei deutlich erhöhten Harnstoffgehalten im Blut der Spender, nicht beeinflussen.

Effekte der Fütterung auf die Embryonenqualität lassen sich bereits auf molekularer Ebene nachweisen. WRENZYCKI et al. (1998) verglichen die in vivo gewonnenen Embryonen von 2 Fütterungsgruppen. Die Tiere wurden 100 Tage vor der Superovulation mit einem Kraftfutter entweder restriktiv oder ad libitum gefüttert. Die durch PCR ermittelten relativen Häufigkeiten der Gentranskripte von Untereinheiten der Na/K-ATPase und der Kupfer-Zink-Superoxiddismutase, die für die weitere Entwicklung des Embryos von Bedeutung sind, unterscheiden sich deutlich zugunsten der ad libitum versorgten Gruppe.

2.2.4 Haltungform und Herdengröße

Es ist allgemein akzeptiert, dass die Fruchtbarkeitsleistung von Milchkühen in verschiedenen Haltungformen deutlich unterschiedlich sein kann. Die sich aus den jeweiligen Aufstallungssystemen ergebenden Einzelfaktoren wie Betreuungs- und Beobachtungsmöglichkeiten, Bewegungsfreiheit der Tiere, Hygiene, Fütterung, Stallklima und soziales Verhalten überlagern sich dabei hinsichtlich ihrer Vor- und Nachteile für die Herdenfruchtbarkeit. In der modernen Milchviehhaltung stehen vor allem Anbindestall und Laufstall, ergänzend noch die Weidehaltung als Haltungform zur Diskussion (LOTTHAMMER 1999). Allgemein zeigen Kuhherden in Laufställen meist bessere Trächtigkeitsraten, kürzere Zwischenkalbezeiten und weniger Abgänge wegen Unfruchtbarkeit (BOSTEDT et al. 1985; THAMLING 1980). Positiv wirkt sich hier vor allem die erhöhte Bewegungsmöglichkeit der Tiere aus. Diese

ermöglicht eine verbesserte Brunsterkennung und es kommt seltener zu Stoffwechselstörungen wie z.B. Acetonämie. Der Abschluss der Uterusinvolutions und der erste Progesteronanstieg post partum tritt bei Tieren in Anbindehaltung später auf. Die Inzidenz von Ovarialzysten und funktionslosen Ovarien ist in Boxenlaufställen im Vergleich zu Anbindeställen deutlich geringer. Ein möglicher Nachteil von Laufställen besteht in dem vermehrten Auftreten von Klauenerkrankungen, bedingt durch verstärkten Hornabrieb bzw. nasse und verschmutzte Laufflächen (FIEDLER et al. 2000). Weiterhin ist, im Gegensatz zu den im Anbindestall fixierten Tieren, eine gründliche Fruchtbarkeits- und Gesundheitsüberwachung des Einzeltieres sowie eine individuelle Futterzuteilung im Laufstall erschwert. Dies wird durch die mit der Umstellung auf Laufstallhaltung meist einhergehende Vergrößerung der Herde zusätzlich verstärkt (LOTTHAMMER 1999). Den Einfluss der Herdengröße auf die Ergebnisse des Embryotransfers sieht CAMP (1989) im Zusammenhang mit der bei steigenden Tierzahlen reduzierten Einzeltierbetreuung von Spendern und Empfängern. In Betrieben mit 40 bis 55 Kühen wurden durchschnittlich 1,18 trächtige Rezipienten und 1,05 lebende Kälber mehr registriert als bei Herden mit 55 bis 89 Kühen.

Bei einem Vergleich der Aufstallungssysteme Laufstall, Anbindehaltung und Weidegang konnte HANSELMANN (1995) bei Spendertieren mit Weidegang durchschnittlich 2,2 übertragbare Embryonen mehr gewinnen als bei Donoren in reiner Stallhaltung. Darüber hinaus war auch die Zwischenkalbezeit nach der Spülung bei Tieren mit Weidehaltung im Mittel um 75 Tage kürzer. Positiv auf die Fruchtbarkeit wirken sich bei der Weidehaltung die natürlichen Umweltreize (Licht, Luft) und die Bewegungsfreiheit aus (LOTTHAMMER 1999). Gleichzeitig kommt es durch den nachgebenden Boden zu einer gleichmäßigeren Klauenbelastung und damit zu weniger Klauenleiden (FIEDLER et al. 2000).

Bei jeder Form der Stallhaltung kommt dem Stallklima eine Bedeutung für die Fruchtbarkeit zu. Dabei sind Rinder gegenüber niedrigen Temperaturen bis -10°C , wie sie vor allem in Kaltställen vorkommen, sehr tolerant. Die Fruchtbarkeit leidet hierunter nicht (SCHMIDT 1970). Dagegen haben hohe Temperaturen in Verbindung mit hoher Luftfeuchtigkeit deutlich negative Auswirkungen auf die Gesundheit und Fruchtbarkeit von Milchkühen. Entsprechende Belüftungssysteme und

Kühlungsmöglichkeiten sind im Sommer vor allem in Warmställen Voraussetzung für befriedigende Fruchtbarkeitsleistungen (EALY et al. 1994; YOUNAS et al. 1993). Verschiedene Autoren berichten über den negativen Einfluss von Hitzestress auf die Qualität der gewonnenen Embryonen. PUTNEY et al. (1989) konnten bei superovulierten Jungrindern, die von Tag 1 bis 7 nach der künstlichen Besamung erhöhten Temperaturen ausgesetzt waren einen deutlich höheren Anteil degenerierter und qualitativ schlechter Embryonen gewinnen als bei Tieren in thermoneutraler Umgebung. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch EALY et al. (1993) und HANSEN et al. (2001) bei Untersuchungen an Donor-Kühen, die kurz nach der Besamung unter hohen Temperaturen gehalten wurden.

2.2.5 Stress

Stress wirkt in verschiedenen Formen auf ein Spendertier ein. So kann ganz allgemein jede Veränderung in der Umwelt der Tiere, die sie von der Entfaltung ihrer vollen, genetisch bedingten, reproduktiven Leistungsfähigkeit abhält, als Stress angesehen werden (DOBSON et al. 2001). EDWARDS et al. (1987) untersuchten die Auswirkungen von Transport und Umgebungswechsel bei Färsen während der Superovulation. Dafür wurden die Tiere alle 12 Stunden verladen und in jeweils neue Ställe verbracht. Die Kontrollgruppe verblieb am gleichen Standort. Der Plasmakortisolspiegel der transportierten Donoren war während der Superovulation durchgehend signifikant erhöht. Die Anzahl der Corpora lutea, 8 Tage nach induzierter Brunst, war bei den gestressten Tieren deutlich niedriger (durchschnittlich 15,4) als bei den Kontrolltieren (durchschnittlich 20,4).

GLATZEL et al. (1999) beobachteten einen signifikanten Einfluss der Position des Donors innerhalb der Herdenrangfolge auf das Ergebnis einer Superovulation. Rangniedrige Kühe, die mit ranghöheren zusammen gehalten wurden, erbrachten im Mittel 2,7 taugliche Embryonen weniger als nach Separation in Gruppen mit ausschließlich rangniedrigen Tieren. Nach diesen Autoren führt eine niedrige Rangordnung des Tieres zu Rangordnungskonflikten und wirkt damit als Stressor negativ auf die Ovarfunktion. In diesem Zusammenhang sehen DOBSON et al. (2001) auch die Herdengröße als eine mögliche Ursache für Stress. Die gegenseitige individuelle Erkennung unter den Kühen ist wichtig für das soziale Gefüge der

Gruppe. Einschätzungen über zu empfehlende maximale Herdengrößen reichen von 50 bis zu 100 Tieren (HEMSWORTH et al. 1995).

Stress kann sich negativ auf die Spülergebnisse auswirken, weil es dadurch zu einer verminderten Ausschüttung und veränderten Pulsatilität von GnRH und LH kommt. Dabei wird auch der präovulatorische Anstieg von LH verzögert. Endogene Opiode werden als Mediatoren dieser Reaktionen vermutet. Am Ovar resultiert der Mangel an Gonadotropinen in verlangsamtem Wachstum und geringerer Östradiolproduktion der Follikel. Tatsächlich konnten durch Applikation von exogenem ACTH als Model für akute Stresssituationen bei Milchkühen eine gestörte LH-Pulsatilität, ein verzögerter LH-Anstieg, verminderte Östradiol-Sekretion und verspätete oder gar ausbleibende Ovulationen beobachtet werden (DOBSON u. SMITH 2000). Die durch Stress bedingte schnelle Ausschüttung von ACTH aus der Adenohypophyse führt außerdem zur erhöhten Freisetzung von Cortisol aus der Nebenniere. Bei erhöhten Cortisolspiegeln ist die Empfindlichkeit der Ovarien gegenüber exogenen Gonadotropinen herabgesetzt (EDWARDS et al. 1987).

2.2.6 Betriebsstandort

Einen deutlichen Einfluss des Betriebsstandortes auf das Spülergebnis stellte DETTERER (1991) beim Vergleich von je 75 Spülungen in 2 verschiedenen Landschaftstypen Norddeutschlands, Geest und Marsch, fest. Signifikante Unterschiede waren bei der Anzahl unbefruchteter Eizellen und transfertauglicher Embryonen zu sehen. Die durchschnittliche Anzahl transfertauglicher Embryonen war dabei in der Gruppe der Geest-Betriebe um 1,8 Embryonen (5,4 gegenüber 7,2 transfertaugliche Embryonen) höher als bei den Marschkühen. Bei nahezu identischer Anzahl der Embryonen insgesamt und gleichen Anteilen degenerierter Embryonen waren bei Spendern von der Geest durchschnittlich 2,2, bei Kühen von der Marsch hingegen 4,4 Eizellen pro Spülung unbefruchtet. Als mögliche Ursachen sieht der Autor Unterschiede in der Futtergrundlage und dem Spurenelementgehalt der Futtermittel. Durch den fehlenden Anbau von Mais herrscht in Marschbetrieben häufig ein hoher Eiweißüberschuss, was in einer Analyse der Milchharnstoff-Werte der entsprechenden Betriebe jedoch nicht belegt werden konnte. Die kleinere Betriebsstruktur in der Geest könnte der Grund für eine intensivere Betreuung der Spendertiere sein.

2.2.7 Subklinische Infektionen

Voraussetzung für gute Resultate beim Embryotransfer ist eine gründliche allgemeine und gynäkologische Untersuchung, um die klinische Gesundheit des Spenders sicher zu stellen (NIEMANN u. MEINECKE 1993). Trotzdem werden schlechte Spülergebnisse häufig mit klinisch inapparenten Erkrankungen, insbesondere subklinischen Endometritiden, in Verbindung gebracht. Klinisch unauffällige Spender, in deren Spülproben mittels mikroskopischer und kultureller bakteriologischer Untersuchungen unspezifische Infektionen gefunden wurden, lieferten signifikant weniger transfertaugliche Embryonen. Durch die histologische Untersuchung von Uterus-Biopsaten dieser Tiere konnten häufig akute Endometritiden nachgewiesen werden (MÜLLER 1988; MÜLLER 1989).

Eine inapparente BVD/MD-Infektion hat ebenfalls deutlich negative Einflüsse auf das Spülresultat. Superovulierte Jungrinder, die zum Zeitpunkt der Besamung künstlich mit BVD-Virus infiziert wurden, zeigten niedrigere Ovulationsraten und produzierten signifikant weniger taugliche Embryonen als die Kontrollgruppe (KAFI et al. 1994; KAFI et al. 1996).

Die Auswirkungen einer BHV-1-Infektion bei superovulierten Rindern ist bislang unklar, nach spontanen Ovulationen konnten jedoch degenerative und nekrotische Veränderungen am Corpus luteum festgestellt werden (KAFI u. MCGOWAN 1997).

Der Einfluss einer Infektion mit Chlamydien auf das Ergebnis einer Superovulation ist bislang nicht untersucht worden.

2.3 Chlamydien

2.3.1 Morphologie und Lebenszyklus der Erreger

Chlamydien sind unbewegliche, gramnegative Bakterien, die sich obligat-intrazellulär vermehren. In einem einzigartigen Vermehrungszyklus unterscheidet man zwei verschiedene morphologische Formen dieser Mikroorganismen: die relativ kleinen, kokkoiden Elementarkörperchen (Ek, Durchmesser: 200-400 nm) und die größeren, pleomorphen Retikularkörperchen (Rk, Durchmesser: 600-1500 nm). Die Elementarkörperchen sind stoffwechsellinaktiv und durch ihre hohe Tenazität außerhalb eukaryotischer Zellen überlebensfähig (ROLLE u. MAYR 2002). Sie stellen die infektiöse Form des Erregers dar und werden nach Anheftung an

Rezeptoren durch Endocytose von der Wirtszelle aufgenommen (BAGHIAN u. SCHNORR 1992). In membrangebundenen Phagosomen verhindern die Elementarkörperchen deren Fusion mit Lysosomen zu Phagolysosomen und entwickeln sich zu metabolisch aktiven, nicht infektiösen Retikularkörperchen. Aus der Wirtszelle beziehen die Chlamydien Adenosin-triphosphat und andere energiereiche Nucleotide, was zu der Bezeichnung „Energieparasiten“ geführt hat. Die Vermehrung der Retikularkörper erfolgt durch Zweiteilung, worauf sich nach mehreren Teilungszyklen die Differenzierung zu Elementarkörpern anschließt (ROLLE u. MAYR 2002). Die Freisetzung der Elementarkörper erfolgt durch Zelllysis oder durch Exozytose permanent infizierter Zellen (SCHIEFER u. KRAUSS 1982). Der in Abbildung 2 schematisch dargestellte Lebenszyklus nimmt je nach Chlamydienart 2 bis 3 Tage in Anspruch. Chlamydien der Familie *Simkaniaceae* sind dabei, mit einer Zyklusdauer von bis zu 2 Wochen, die Ausnahme (EVERETT 2000).

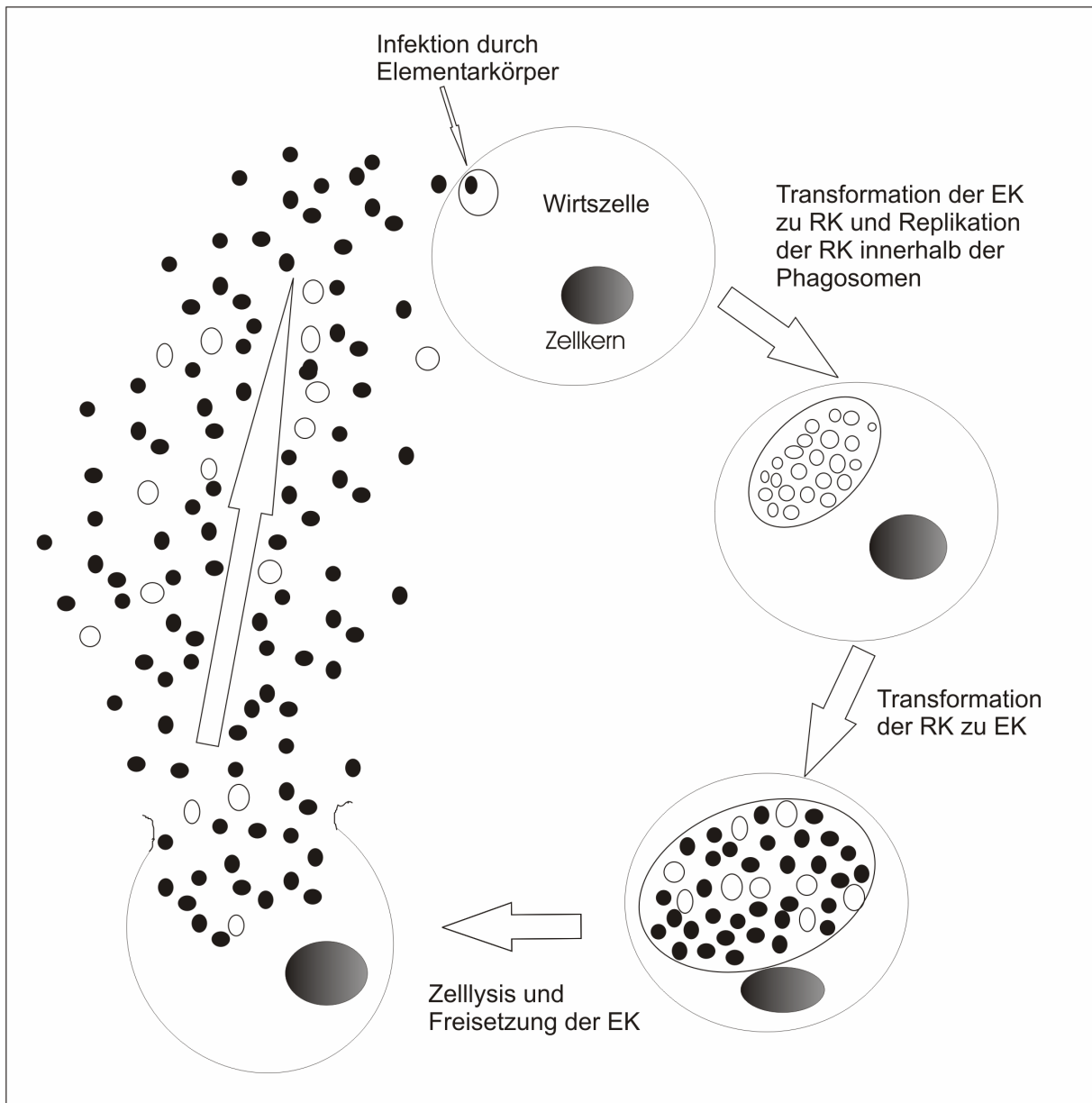


Abbildung 2: Lebenszyklus der Chlamydien, modifiziert nach EVERETT (2000)

2.3.2 Taxonomie

In der bis 1999 angewandten Nomenklatur enthielt die Ordnung *Chlamydiales* eine Familie, und diese eine Gattung mit vier Spezies (HERRING 1993) :

Ordnung:	<i>Chlamydiales</i>
Familie:	<i>Chlamydiaceae</i>
Gattung:	<i>Chlamydia</i>
Spezies:	<i>Chlamydia trachomatis</i>
	<i>Chlamydia psittaci</i>
	<i>Chlamydia pecorum</i>
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>

Isolate von *Chlamydia pecorum* wurden bis 1992 der Spezies *Chlamydia psittaci* zugeordnet und als der, vor allem für Rind und Schaf pathogene Serotyp 2 klassifiziert. FUKUSHI u. HIRAI (1992) konnten durch DNA-Hybridisierungsuntersuchungen eine Homologie unter 20% nachweisen, was zur Etablierung einer neuen Spezies führte. Innerhalb der verbleibenden Spezies *Chlamydia psittaci* war jedoch mit 12 Serovaren und verschiedenen Biovaren immer noch eine sehr heterogene Gruppe von Erregern zusammengefasst. Unter den Isolaten von *Chlamydia psittaci* -Stämmen aus verschiedenen Wirtstieren konnten Verwandtschaftsgrade zwischen 30 und 93 % ermittelt werden (STORZ u. KALTENBÖCK 1993). Dem entsprechend wurde die Taxonomie nach einer phylogenetischen Analyse der 16S und 23S ribosomalen RNA-Gene neu gestaltet (EVERETT et al. 1999a). In nachfolgenden Arbeiten wurde gezeigt, dass auch die Analyse der Genorte verschiedener Membranproteine, wie beispielsweise OmpA und OmpB (outer membrane protein) die neue Klassifizierung untermauert (EVERETT et al. 2000).

Die Ordnung *Chlamydiales* enthält jetzt neben der ursprünglichen Familie *Chlamydiaceae* 3 weitere Familien (*Parachlamydiaceae*, *Simkaniaceae*, *Waddliaceae*). In diesen werden unter anderem die so genannten „*chlamydia-like*“ Organismen oder „Umweltchlamydien“ eingeordnet. Vertreter der Familie *Parachlamydiaceae* infizieren vor allem Amöben, konnten aber auch aus humanen Nasentupfern und zahnmedizinischen Geräten isoliert werden. *Simkania negevensis*,

die bisher einzige Art der Familie *Simkaniaceae*, wird mit Pneumonie beim Menschen in Verbindung gebracht (EVERETT 2000). Innerhalb der Familie *Chlamydiaceae* werden jetzt 2 Gattungen, *Chlamydia* und *Chlamydophila*, und 9 Spezies unterschieden. Wie in Tabelle 5 zu sehen ist, gingen 3 der 5 neuen Spezies aus *Chlamydia psittaci*, 2 aus *Chlamydia trachomatis* hervor. Die für Rinder klinisch relevanten Serovare von *Chlamydia psittaci* wurden alle der Gattung *Chlamydophila* zugeordnet. Das genitopathogene *Chlamydia psittaci*-Serovar 1 wurde umbenannt in *Chlamydophila abortus*. Das frühere Serovar 2 (*Chlamydia pecorum*) heißt jetzt *Chlamydophila pecorum* (EVERETT et al. 1999a).

Tabelle 5: Vergleich zwischen alter und neuer taxonomischer Einteilung der Familie *Chlamydiaceae* (SACHSE u. GROßMANN 2002)

Alte Spezies	Neue Spezies	Wirtsspezifität
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Mensch
	<i>Chlamydia muridarum</i>	Maus, Hamster
	<i>Chlamydia suis</i>	Schwein
<i>Chlamydia psittaci</i>	<i>Chlamydophila psittaci</i>	Vögel, Wiederkäuer , Pferd
	<i>Chlamydophila abortus</i>	Wiederkäuer , Schwein, Vögel
	<i>Chlamydophila caviae</i>	Meerschweinchen
	<i>Chlamydophila felis</i>	Hauskatze
<i>Chlamydia pecorum</i>	<i>Chlamydophila pecorum</i>	Wiederkäuer , Schwein, Koala
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	Mensch, Koala, Pferd, Amphibien

Durch Anwendung neuerer molekularbiologischer Nachweismethoden finden sich bei Wiederkäuern eine Reihe verschiedener Chlamydien-Spezies ohne erkennbare Wirtsspezifität. Eine genauere Typisierung der aus Wiederkäuern isolierten, nach alter Taxonomie als *Chlamydia psittaci* bezeichneten Bakterien, erfolgte mittels PCR im Bereich zwischen den 16S- und 23S-rRNA-Genen und anschließender Charakterisierung durch Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (PCR-RFLP). Nach dieser, von EVERETT und ANDERSEN (1999) vorgeschlagenen Methode fanden sich unter 14, von Rindern stammenden Chlamydienstämmen, sechsmal die

Spezies *Chlamydomphila psittaci*, fünfmal *Chlamydomphila abortus*, zweimal *Chlamydomphila pecorum* und einmal *Chlamydomphila felis*. Auch bei 54 Proben von Schafen fanden sich diese vier Spezies, wobei *Chlamydomphila abortus* mit 47 Isolaten (87%) am häufigsten vertreten war. Die von Ziegen stammenden Chlamydien zeigten sich einheitlich als *Chlamydomphila abortus* (TYCZKA u. JÄGER 2002). Aus Gründen der Übersichtlichkeit wird in den folgenden Abschnitten dieser Arbeit die allgemeine Bezeichnung „Chlamydien“ verwendet.

2.3.3 Chlamydieninfektionen bei Rindern

Chlamydien lösen beim Rind eine Vielzahl verschiedener Erkrankungen aus, die einzeln oder auch zusammen auftreten können. Dabei stehen Infektionen durch *Chlamydomphila abortus*, *Chlamydomphila pecorum* und *Chlamydomphila psittaci* im Vordergrund. Vor allem *Chlamydomphila abortus* wird mit Fertilitätsstörungen bei Milchkühen in Verbindung gebracht und kann bei Aborten und Endometritiden nachgewiesen werden (WITTENBRINK 2003). *Chlamydomphila pecorum* verursacht neben Encephalomyelitiden, Polyarthritiden, Pneumonien und Enteritiden auch Konjunktivitiden, Mastitiden und Aborte (ROLLE u. MAYR 2002). Von *Chlamydomphila psittaci* sind acht Serovare bekannt, welche hauptsächlich aus Vögeln isoliert wurden. Die Serovare A und B bis D sind dabei als Erreger der Psittakose bzw. Ornithose wegen ihres Zoonosecharakters von besonderer Bedeutung. Beim Rind finden sich zwei Fallberichte über den Nachweis von *Chlamydomphila psittaci*, Serovar B, im Falle von Aborten (COX et al. 1998; POSPISCHIL et al. 2002). Der 1986 aus Lunge, Leber und anderen Geweben eines abortierten Rinderfetus isolierte Chlamydien-Stamm WSU 86-1044 wurde der Familie Waddliaceae zugeordnet und trägt als deren einziger Vertreter den Namen *Waddlia chondrophila* (RURANGIRWA et al. 1999).

Untersuchungen von Feldproben zeigen, dass neben klinisch manifesten Infektionen auch häufig symptomlose Chlamydieninfektionen in Rinderbeständen anzutreffen sind. Durch kulturelle Untersuchung des Genitaltraktes weiblicher Schlachtrinder konnten bei 10 von 60 Tieren (16,7 %) Chlamydien isoliert werden (WITTENBRINK et al. 1988). Auch bei Bullen wurden latente Infektionen des Genitaltraktes beobachtet (JASKOWSKI u. SADOWSKI 1980). WITTENBRINK et al. (1993a) konnten durch Erregeranzüchtung aus 190 Rinderkotproben bei 22,1 % der Tiere

inapparente Darminfektionen nachweisen. Diese Tiere stellen eine ständige Infektionsquelle dar, da sie über Monate bis Jahre Chlamydien mit dem Kot ausscheiden. Die fäkal-orale Übertragung wird deshalb als ein sehr wichtiger Infektionsweg von Chlamydien angesehen (GERBERMANN 1991; WITTENBRINK et al. 1987). Grundsätzlich ist beim Rind die orale, aerogene, genitale, laktogene und konjunktivale Übertragung von Chlamydien beschrieben (HORSCH 1980). Da Chlamydien im Hoden sowie in der Präputialschleimhaut von Bullen vorkommen und der Erreger aus Sperma von Besamungsbullen isoliert werden konnte, erscheint eine venerische Übertragung nicht ausgeschlossen (PEREZ-MARTINEZ u. STORZ 1985).

Neben dem Infektionsmodus, der Infektionsdosis und der Virulenz des jeweiligen Chlamydien-Stammes sind Alter, Geschlecht und vor allem resistenzmindernde Belastungen des Wirtstieres ausschlaggebend für die klinische Manifestation einer Chlamydien-Infektion (STORZ u. KRAUSS 1985). Dabei sind die Erreger als Bestandteil infektiöser Faktorenkrankheiten zu betrachten. Im Zusammenhang mit Fruchtbarkeitsstörungen in Milchkuhherden wird eine *chlamydienassoziierte Infertilität* beschrieben, bei der neben anderen infektiösen Agentien vor allem nicht infektiöse Faktoren wie mangelhafte Hygiene, Stress, Fütterungsfehler und Mangelsituationen zu den Ursachen zählen (TISCHER 2003; WITTENBRINK 2003).

WEHREND et al. (2000) konnten in einer Untersuchung von Betrieben mit Fruchtbarkeitsstörungen wie Endometritiden, Vaginitiden, gehäuftem Auftreten von Umrindern und Nachgeburtsverhaltungen bei 49 von 50 betroffenen Milchkuhherden (98%) Antikörper gegen Chlamydien finden. Der Nachweis von Chlamydienantigen aus Genitalupfern gelang bei 30 von 36 untersuchten Beständen (83,3 %). In 25 der antigenpositiven Herden (83,3 %) konnten jedoch durch serologische Untersuchungen Mischinfektionen mit den Erregern BHV-1, BVD/MD-Virus, *Coxiella burnettii*, *Listeria monocytogenes*, *Leptospira spp.* oder *Brucella spp.* festgestellt werden, was die Bewertung von Chlamydien als kausales Agens bei Fruchtbarkeitsstörungen unter Feldbedingungen erschwerte. Eindeutig zeigte sich der kausale Zusammenhang bei Betrieben mit vermehrten Aborten, Frühgeburten und Totgeburten. In allen 9 untersuchten Herden konnte neben Chlamydienantigen eine Serokonversion innerhalb von 14 bis 21 Tagen nachgewiesen werden. Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch STING (1997), der in 71 % der Betriebe mit

Fruchtbarkeitsproblemen Chlamydienantigen fand. Dabei waren 33 % der 617 Proben aus 123 Betrieben positiv. In der Untersuchung von 56 Abortfällen konnte bei 44 (79 %) der Proben aus Nachgeburten und Feten Chlamydienantigen nachgewiesen werden. SIMMERT (1999) fand in Betrieben mit Fortpflanzungsstörungen signifikant mehr Kühe mit Antikörpertitern gegen Chlamydien (28,3 %) als in Betrieben mit zufrieden stellender Fruchtbarkeit (15,8 %). Chlamydienantigen konnte bei 61 % der Problembetriebe, dagegen nur bei 41 % der Kontrollbetriebe festgestellt werden. Durch experimentelle intrauterine Infektion von Färsen mit Chlamydien konnten purulente Endometritiden ausgelöst werden, die in ein chronisches, symptomloses Stadium übergangen und gehäuftes Umrindern zur Folge hatten (WITTENBRINK et al. 1993b). In einer Feldstudie konnten WITTENBRINK et al. (1994) in 60 % der Proben von geruchsneutralem eitrigem Vaginalausfluss Chlamydienantigen nachweisen.

2.3.4 Diagnostik

Aufgrund der sehr heterogenen klinischen Manifestation und der unspezifischen Symptome bei Chlamydiosen ist für die ätiologische Abklärung eine gezielte Labordiagnose notwendig (GERBERMANN 1991). Als Standard in der veterinärmedizinischen Chlamydiendiagnostik gilt die Anzüchtung der Keime in geeigneten Zellkulturen oder im embryonierten Hühnerei (STORZ u. KRAUSS 1985). Die sehr zeit- und arbeitsintensiven Methoden bieten den Vorteil, die isolierten Erreger einer detaillierten Charakterisierung unterziehen zu können. Aviäre, ovine und auch humane Chlamydienisolate lassen sich in der Routinediagnostik in Zelllinien wie BGM, McCoy bzw. HeLa problemlos vermehren. Dagegen sind aus Rindern und Schweinen isolierte Stämme teilweise nur schwer in Zellkulturen zu vermehren (SACHSE u. GROßMANN 2002). WITTENBRINK et al. (1993a) ermittelten bei der Isolierung von Chlamydien aus Rinderkot für die Zellkultur eine vergleichsweise geringe Sensitivität (31,6%) gegenüber der Bruteitechnik.

Für die direkte Erregeridentifizierung von Chlamydien in Organ- und Sekretastrichen, Zellkulturen oder histologischen Schnitten können die Färbungen nach STAMP, GIEMSA oder GIMINEZ angewendet werden. Vorteil dieser Methoden ist der geringe Zeitaufwand und die einfache Durchführung, sie sind jedoch wenig sensitiv, da für den mikroskopischen Nachweis der Einschlusskörperchen eine hohe

Erregerdichte (ca. 3×10^6 Chlamydien/ml) notwendig ist (WITTENBRINK u. BISPING 1987). Durch die Anwendung direkter Immunfluoreszenz kann die Sensitivität des mikroskopischen Chlamydiennachweises erheblich gesteigert werden. Zu beachten ist hier die Auswahl geeigneter monoklonaler Antikörper bzw. Antiseren, um eine ausreichende Spezifität zu gewährleisten (SACHSE u. GROßMANN 2002).

Mit Antigen-ELISA-Testsystemen stehen Methoden zur Verfügung, mit denen auch bereits inaktivierte, aus unsachgemäß gelagertem oder transportiertem Probenmaterial stammende Chlamydien sehr schnell und einfach nachgewiesen werden können (SOURIAU u. RODOLAKIS 1986). Kommerzielle Antigen-ELISA-Kits weisen meist das Lipopolysaccharid (LPS)-Antigen nach, welches nach der neuen Nomenklatur für die Gattungen *Chlamydia* und *Chlamydophila* spezifisch ist (GERBERMANN 1997). Problematisch erscheint die gegenüber Zellkultur, PCR und Immunfluoreszenzmethoden geringe Sensitivität dieser Tests. Zudem zeigte sich speziell bei Proben von Rind und Schwein eine große Anzahl falsch positiver Testergebnisse, die durch Kreuzreaktionen mit LPS-Epitopen anderer gram-negativer Bakterien entstanden (BOGNER et al. 1997; PETER et al. 2002).

Mit der Einführung gentechnischer Nachweismethoden konnten anfangs vor allem die Differenzierungsmöglichkeiten in der Chlamydiendiagnostik wesentlich verbessert werden. Dabei wurden zunächst Gensonden auf der Grundlage der DNA-DNA-Hybridisierung verwendet (COX et al. 1988). Darauf folgte die Einführung von auf Nucleinsäure-Amplifikation beruhenden Methoden, wie die der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und der Ligase-Kettenreaktion (LCR) (LAFFLER et al. 1993; POLLARD et al. 1989). Als routinemäßige PCR-Technik in der Diagnostik kommt heute vor allem die nested-PCR in der *omp1*-Genregion (outer-membrane-protein 1) der Chlamydien zum Einsatz. Mit dieser Methode ist die Absenkung der Nachweisgrenze bis auf eine Einschluss-bildende Einheit (EBE) in der Zellkultur gelungen (KALTENBÖCK et al. 1997; SACHSE u. GALLIEN 2000). Die Amplifikation einer Zielsequenz im Bereich zwischen den 16S- und 23S-rRNA-Genen, und deren anschließende Charakterisierung durch Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (PCR-RFLP) ist weniger sensitiv, erlaubt aber eine exakte Differenzierung kultivierter Chlamydienstämme nach der neuen Taxonomie (EVERETT u. ANDERSEN 1999).

Eine quantitative Bestimmung der Chlamydien in Probenmaterial gelingt durch Anwendung von Real-Time-PCR-Techniken, wie beispielsweise der TaqMan®-PCR. Dabei wird die Entstehung der Amplifikate unter Verwendung von fluoreszenzmarkierten Sonden verfolgt. An die Sonde ist ein Reporterfarbstoff gebunden, dessen Fluoreszenz durch einen ebenfalls angehängten Quencherfarbstoff unterdrückt wird. Während der PCR-Reaktion trennt die verwendete Taq-DNA-Polymerase den Reporterfarbstoff von der Sonde ab, wodurch sich seine Fluoreszenz erhöht. Der Anstieg der Fluoreszenzintensität hängt von der Anfangskopienzahl der Zielsequenz ab. Durch den Vergleich der Fluoreszenzsignale der Probenamplifikate mit denen der mitgeführten Standards, ist eine Berechnung des EBE-Gehaltes der Probe möglich (EVERETT et al. 1999b). Die Vorteile der Anwendung von PCR-Techniken in der Chlamydiendiagnostik liegen vor allem in der gegenüber den herkömmlichen Nachweisverfahren deutlich höheren Sensitivität und Spezifität sowie in der schnellen Ermittlung der Testergebnisse. An das Probenmaterial werden hinsichtlich Transport- und Lagerungsbedingungen weniger hohe Ansprüche gestellt, da jede Art von klinischem Material auch ohne vorherige Anzucht untersucht werden kann. Problematisch erscheint die mit der hohen Sensitivität einhergehende Anfälligkeit gegenüber Kontamination der Proben, welche erhöhte Anforderungen an die Arbeitshygiene der Labors stellt (SACHSE u. GALLIEN 2000).

Für den indirekten Erregernachweis über spezifische Antikörper gegen Chlamydien können verschiedene serologische Techniken wie die passive Hämagglutination, der indirekte Immunofluoreszenztest, die Komplement-Bindungsreaktion oder der ELISA angewendet werden. Routinemäßig wurde beim Rind lange Zeit die Komplement-Bindungsreaktion (KBR) genutzt, mit der hauptsächlich komplementbindende IgG1-Antikörper nachzuweisen sind. Diese werden für kurze Zeit nach manifesten Erkrankungen bzw. Aborten gebildet. Für subklinische und chronische Infektionen ist dagegen die Dominanz der nicht-komplementbindenden IgG2 charakteristisch. Die KBR ist daher dem Antikörper-ELISA, welcher beide Antikörper-Klassen erfasst, hinsichtlich ihrer Sensitivität und Spezifität deutlich unterlegen (SCHMEER 1988). Die meisten ELISA-Testkits wie auch die KBR verwenden das für die Gattungen *Chlamydia* und *Chlamydophila* spezifische Lipopolysaccharid als Antigen. Die

dadurch entstehenden immunologischen Kreuzreaktionen zwischen den einzelnen Chlamydienarten erschweren die Interpretation serologischer Befunde. Beim Rind wird die Serodiagnostik von genitopathogenen *Chlamydia abortus* vor allem durch latente Infektionen mit *Chlamydia pecorum* kompliziert. Neuere serologische Verfahren arbeiten mit dem MOMP (major outer membrane protein), welches durch seine genus-, art- und serotyp-spezifischen B- und T-Zell-Epitope für die antigenische Diversität der Chlamydien verantwortlich ist. Die Verwendung dieser, aus Chlamydien suspension oder rekombinanten MOMPs aufgereinigten Antigene, ermöglicht art-spezifische Antikörpernachweise (HÖLZLE et al. 2002).

Grundsätzlich eignet sich beim Rind die Untersuchung von Einzelseren nicht für eine ätiologische Diagnose bei Chlamydienverdacht. Nur eine Serumpaar-Untersuchung mit entsprechendem Titeranstieg im Abstand von mindestens 14 Tagen oder ein ergänzender direkter Erregernachweis ermöglichen eine Aussage über die Beteiligung von Chlamydien am Krankheitsgeschehen (GERBERMANN 1991). Bei der Untersuchung von Fruchtbarkeitsstörungen auf Bestandesebene ist wegen des meist gleichzeitigen Vorkommens von Infektionen mit anderen Erregern zudem eine differenzierte bakteriologische und virologische Stufendiagnostik erforderlich (WEHREND et al. 2000; WITTENBRINK 2003).

2.3.5 Therapie und Prophylaxe

Die antibiotische Therapie von Chlamydieninfektionen ist wegen der intrazellulären Lage der Keime schwierig und führt selten zu einer vollständigen Erregerelimination (SCHIEFER u. KRAUSS 1982). Beim Rind kommen Tetracycline (Chlortetracyclin, Oxytetracyclin) und Makrolidantibiotika (Tylosin, Erythromycin) zur Anwendung. Wichtig sind ein möglichst frühzeitiger Behandlungsbeginn, eine genügend lange Verabreichung (mindestens 5 Tage) und eine ausreichende Dosierung. Weiterhin sollte die Therapie wegen dem schon erwähnten multifaktoriellen Charakter von Chlamydiosen durch eine Prüfung und gegebenenfalls Verbesserung der Haltungsbedingungen und Betriebshygiene ergänzt werden (GERBERMANN 1991; TISCHER 2003).

Zur aktiven Immunisierung steht in Deutschland derzeit kein für das Rind zugelassener, industriell hergestellter Impfstoff zur Verfügung. Eine Umwidmung der

für Schafe zugelassenen Chlamydienvakzinen ist jedoch möglich. Ebenso ist die Herstellung und Anwendung eines bestandsspezifischen Impfstoffs für Rinder zugelassen (Firma WDT). In ersten Feldversuchen in Milcherzeugerbetrieben mit Fruchtbarkeitsstörungen bzw. Erkrankungen des Bewegungsapparates und Beteiligung von Chlamydien kam es durch den Einsatz der für Schafe zugelassenen Impfstoffe zur Aktivierung der Immunabwehr und klinischen Besserung der Symptome (TISCHER 2003; UHE u. HEHNEN 2002; ZEHLE et al. 2002).

3. Material und Methoden

3.1 Tiere

Die Untersuchungen wurden in 50 Milcherzeugerbetrieben Nordbayerns durchgeführt, die im Zeitraum von Juni 2003 bis Februar 2004 im Rahmen des Embryotransfer-Serviceprogrammes der Besamungsstation Neustadt a.d. Aisch ein Spendertier angemeldet hatten. Spülungen im Versuchszeitraum wurden nur dann ausgewertet, wenn das jeweilige Ergebnis folgenden Kriterien entsprach: In die Gruppe der guten Spülergebnisse (Gruppe A, n = 30) wurden Spülungen mit mindestens 10 gewonnenen Embryonen/Eizellen und einem minimalen Anteil transfertauglicher Embryonen von 66 % eingeordnet. Für die Gruppe der schlechten Spülergebnisse (Gruppe B, n = 20) lag die Obergrenze für den Anteil transfertauglicher Embryonen bei 33 %. Als minimale Reaktion auf die Superovulation waren 5 sonographisch darstellbare Corpora lutea gefordert. Es wurden nur Spender der Rasse Fleckvieh berücksichtigt, die sich in Laktation befanden und zusammen mit der restlichen Kuh-Herde gefüttert und gehalten wurden. Alle ausgewerteten Betriebe waren der Milchleistungsprüfung angeschlossen. Der gesamte Ablauf des Embryotransferprogrammes, von der Superovulation bis hin zur Embryonengewinnung und –beurteilung, wurde auf den Herkunftsbetrieben der Spendertiere durchgeführt.

3.2 Klinische Untersuchung

Alle Spendertiere wurden nach der Brunstmeldung des Besitzers einer Voruntersuchung unterzogen. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich die Tiere zwischen dem 5. und 13. Zyklustag. Nach einer kurzen Allgemeinuntersuchung folgte eine gynäkologische Untersuchung. Dabei wurde das äußere Genitale und Umgebung

adspektorisch beurteilt. Durch rektale Untersuchung wurde der Uterus hinsichtlich Lage, Größe, Symmetrie, Tonus, Füllungszustand, Oberfläche und Beweglichkeit palpirt. Bei den Ovarien wurden neben Größe und Konsistenz vor allem die Funktionsgebilde erfasst. Die Corpora lutea wurden nach dem beim Besamungsverein Neustadt a.d. Aisch e.V. angewandten Punkte-System in 0,5 Punkte-Schritten klassifiziert (Tab. 6). Tastbare dominante Follikel über ca. 15 mm Durchmesser wurden manuell abgedrückt.

Tabelle 6: Subjektive Einteilung der palperten Corpora lutea

Bewertung in Punkten	Befund
0	Kein tastbares C.I.
1	Kleines C.I., in Anbildung oder Regression
2	Gut palpierbares C.I.
3	Deutliches C.I. in Blüte

Ausgewertet wurden nur klinisch und gynäkologisch unauffällige Donoren, die vor mindestens 8 Wochen gekalbt hatten und von welchen wenigstens 2 regelmäßige Brunsttermine post partum bekannt waren. In der Beurteilung des Corpus luteum waren alle Tiere mit mindestens 2 Punkten bewertet.

3.3 Durchführung des Embryotransfers

3.3.1 Superovulation und künstliche Besamung

Die Superovulation begann nach vorausgegangener Untersuchung zwischen dem 7. und 13. Zyklustag. Die Tiere wurden mit dem FSH-Präparat Pluset® (Fa. Calier, Spanien) stimuliert. Die Gesamtdosis von 550 I.E. wurde in 4 abnehmenden Teilmengen in 24-stündigem Abstand verabreicht (Tab. 7). 72 und 84 Stunden nach der ersten FSH-Applikation wurde mit jeweils 500µg Cloprostenol (2ml Estrumate®, Essex Tierarznei) die Luteolyse eingeleitet. Alle Injektionen wurden intramuskulär verabreicht. In der etwa 48 Stunden nach der ersten Cloprostenol-Injektion folgenden Brunst wurden die Spendertiere dreimal im Abstand von 12 Stunden mit Tiefgefriersperma eines oder mehrerer geprüfter Besamungsbullen besamt.

Tabelle 7: Behandlungsschema der Spendertiere

Zeitpunkt	Behandlung
0. Tag	Brunst
5. bis 13.Tag	Voruntersuchung
(7. bis) 13.Tag morgens	3,0 ml Pluset®
(8. bis) 14.Tag morgens	3,0 ml Pluset®
(9. bis) 15.Tag morgens	3,0 ml Pluset®
(10. bis) 16.Tag morgens	2,0 ml Pluset® +2 ml Estrumate®
(10. bis) 16.Tag abends	2 ml Estrumate®
(12. bis) 18.Tag morgens	Künstliche Besamung 1
(12. bis) 18.Tag abends	Künstliche Besamung 2
(13. bis) 19.Tag morgens	Künstliche Besamung 3
(19. bis) 25.Tag	Embryonengewinnung

3.3.2 Spül- und Kulturmedium

Als Spülflüssigkeit diene eine phosphatgepufferte Salzlösung nach Dulbecco (DPBS, Fa. Biochrom, Berlin), der pro 500 ml folgende Substanzen zugesetzt wurden:

Glucose (Fa. Merck, Darmstadt)	500 mg
Na ₂ -Pyruvat (Fa. Serva, Heidelberg)	18 mg
BSA (Fa. Sigma, Steinheim)	150 mg
Penicillin (Fa. Sigma)	10 mg
Streptomycin (Fa. Sigma)	20 mg

Die Spülflüssigkeit hatte einen pH von 7,2 und eine Osmolarität von 280 mosmol. Die Spüllösung wurde täglich frisch angefertigt, im Wasserbad auf 37°C gebracht und während der Spülung auf dieser Temperatur gehalten.

Für die kurzfristige Aufbewahrung der Embryonen zwischen Embryonengewinnung und Transfer bzw. Tiefgefrier-Konservierung (Kulturmedium) wurde die phosphatgepufferte Salzlösung nach Dulbecco mit folgenden Zusätzen pro 500 ml verwendet:

Glucose (Fa. Merck, Darmstadt)	500 mg
Na ₂ -Pyruvat (Fa. Serva, Heidelberg)	18 mg
BSA (Fa. Sigma, Steinheim)	2000 mg
Penicillin (Fa. Sigma)	10 mg
Streptomycin (Fa. Sigma)	20 mg

Das Kulturmedium wurde vor Gebrauch durch einen keimfreien Zellulosemembranfilter (Fa. Clinico, Bad Hersfeld) mit einer Porengröße von 0,22 µm sterilisiert.

3.3.3 Gewinnung der Embryonen und Eizellen

Die Embryonengewinnung erfolgte auf den jeweiligen Herkunftsbetrieben der Tiere am siebten Tag nach der ersten künstlichen Besamung. Gespült wurde nach der von HAHN (1978) beschriebenen unblutigen Methode. Dazu wurden die Spendertiere im Fressgitter oder in einer Liegebox fixiert und der Schwanz zur Seite gebunden. Nach einer gründlichen Reinigung des äußeren Genitale, wurde ein mit Silikon besprühter Spülkatheter, Modell Neustadt/Aisch (Fa. Wörrlein, Ansbach) mit eingesetztem Mandrin vaginal eingeführt.

Unter rektaler Kontrolle wurde nach Erreichen der Krümmung des gewünschten Uterushorns der Mandrin ca. 10 cm zurückgezogen, und der flexible Spülschlauch weiter nach kranial vorgeschoben. Die Abdichtung des Uterushorns und eine Fixation des Spülschlauchs in der gewünschten Position erfolgten durch Aufblasen des Ballons im vorderen Abschnitt des Spülkatheters mit 12-15 ml Luft. Anschließend wurde der Mandrin vollständig entfernt. Für die Spülung eines Uterushorns wurden jeweils ca. 350 ml Spülflüssigkeit verwendet. Die Lösung wurde fraktioniert, beginnend mit ca. 10 ml, in steigender Menge bis hin zu 60 ml in die Gebärmutter eingebracht. Der entsprechend portionierte Rücklauf erfolgte unter transrektaler Massage. Aufgefangen wurde die Spülflüssigkeit von jedem Uterushorn in silikonisierten, 250ml fassenden Glasflaschen mit konischen Böden (Fa. Müller, Nürnberg). Diese waren im Wasserbad auf 36–37 °C vorgewärmt, wo die zurück

gewonnene Flüssigkeit ebenfalls lagerte. Nach Spülung der ersten Seite wurde der Katheter mit Hilfe des Mandrins in das andere Uterushorn umgesetzt und der Vorgang wiederholt.

3.3.4 Suche und Beurteilung der Embryonen und Eizellen

Nach jeweils 15 Minuten Standzeit wurden die sedimentierten Embryonen und Eizellen durch zweimaliges Abhebern bis auf 1,5 cm Bodensatz vom Überstand getrennt. Die verbleibende Flüssigkeit wurde auf silikonisierten und leicht vorgewärmten Uhrgläsern bei 10- 20-facher Vergrößerung durch ein Stereomikroskop (Fa. Nikon, Japan) nach Embryonen durchsucht. Jedes Uhrglas wurde nach dem ersten Durchmustern aufgerührt und nach ca. 10 Minuten nochmals untersucht. Gefundene Embryonen und unbefruchtete Eizellen wurden mit Hilfe einer 1 ml-Spritze unter Verwendung eines Unopettenaufsatzes (Fa. Becton Dickinson USA) in Kulturmedium umgesetzt. Die Embryonen wurden bei 50-facher Vergrößerung nochmals begutachtet und, modifiziert nach NOHNER (1986), in 3 Gruppen eingeteilt (Tab. 8).

Tabelle 8: Beurteilungskriterien für Embryonen und Eizellen

<p>Verwendungsfähige Embryonen (Abb. 3)</p>	<p>Embryonen im erwarteten Entwicklungsstadium der kompakten Morula bis expandierten Blastocyste. Gleichmäßige Granulation und Zellanordnung sowie intakte Zona pellucida. Geringgradige Abweichungen, wie eine begrenzte Anzahl von degenerierten Blastomeren innerhalb und außerhalb des Zellverbands, oder eine leichte Verformung der Zona Pellucida waren akzeptabel.</p>
<p>Degenerierte Embryonen (Abb. 4)</p>	<p>In frühen Stadien der Entwicklung abgestorbene Embryonen. Morulae mit undeutlicher Zellanordnung, lockerer Struktur, vielen abgelösten degenerierten Blastomeren oder starken Größenunterschieden der Blastomeren. Stark deformierte oder beschädigte Zona pellucida .</p>
<p>Unbefruchtete Eizellen (Abb. 5)</p>	<p>Ungefurchte Oozyten, die teilweise Schrumpfungen oder lytischen Vorgängen unterlagen.</p>

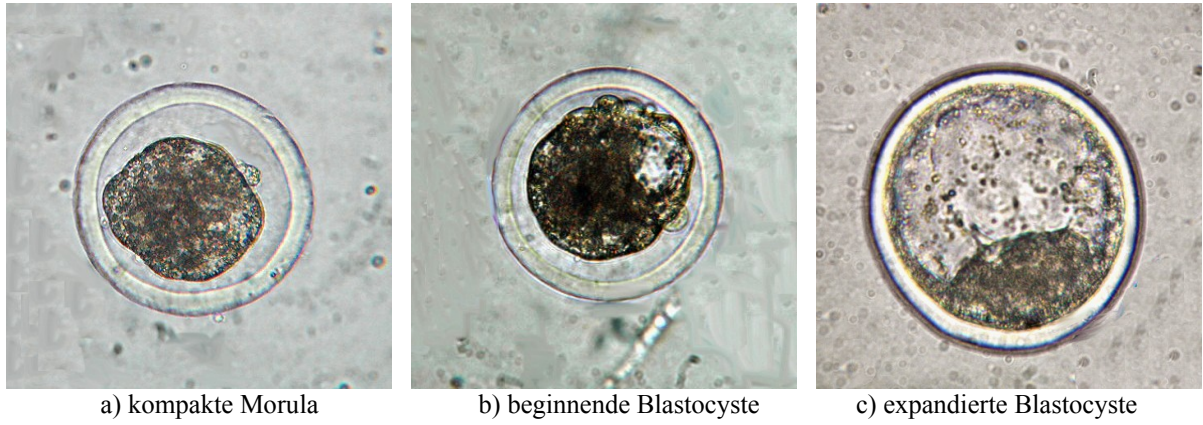


Abbildung 3 a,b,c: Verwendungsfähige Embryonen



Abbildung 4: Degenerierte Embryonen

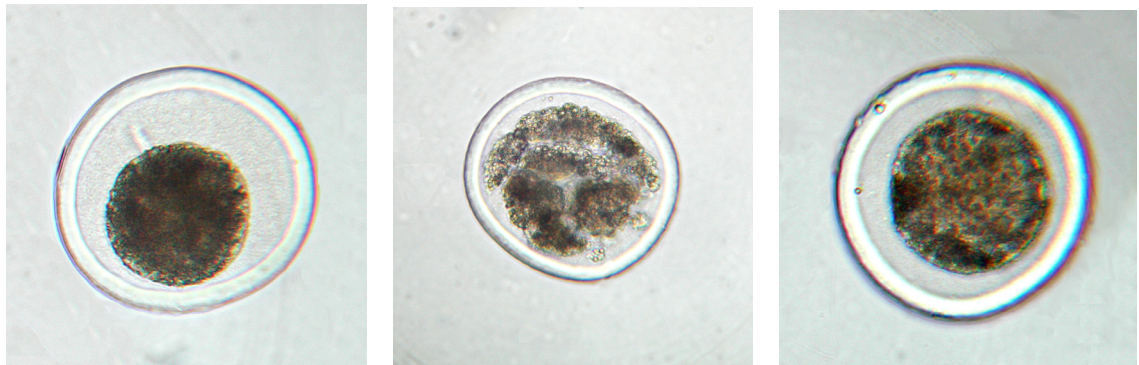


Abbildung 5: Unbefruchtete Eizellen

3.4 Probenentnahme und –analyse

3.4.1 Nachweis von Antikörpern gegen Chlamydien

Von jedem Spender wurde eine Blutserumprobe gewonnen. Mittels einer Einmalkanüle (18 G) wurde die V. caudalis mediana punktiert, und ein 10 ml-Serumröhrchen (Fa. Sarstedt, Nürmbrecht) gefüllt. Bis zur 10-minütigen Zentrifugation bei 3500 U/min (EBA 8 S, Fa. Hettich, Tuttlingen) wurden die Proben für bis zu 4 Stunden bei 1–2°C gelagert. Danach wurde das Serum in neutrale 5 ml-Röhrchen (Fa. Sarstedt, Nürmbrecht) überführt und bei -30°C bis zur weiteren Untersuchung aufbewahrt. Der Nachweis von Antikörpern gegen das Chlamydien-LPS-Antigen erfolgte im Institut für Veterinärbakteriologie der Universität Zürich. Dazu wurde ein Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) nach den Methoden von VOLLER u. BIDWELL (1986) durchgeführt. Als Chlamydienantigen wurde ein Kochantigen aus einer partiell gereinigten Suspension des *Chlamydophila abortus*-Stammes OCHL196 aus BGM-Zellkulturen und ein analog hergestelltes Kontrollantigen aus nicht infizierten BGM-Zellen verwendet (WITTENBRINK 1991). Die Testseren wurden im Doppelansatz gegen das Chlamydienantigen und das Kontrollantigen getestet. Desweiteren wurden Serumkontrollen (ohne Antigen) und Antigen-Konjugatkontrollen für beide Antigene durchgeführt. Als Positiv- bzw. Negativkontrollseren wurden auf jeder Mikrotiterplatte das Serum eines mit *Chlamydophila abortus* Stamm B53 immunisierten Schweines (Serum SW06) und 8 Seren von seronegativen Rindern im Doppelansatz gegen beide Antigene mitgeführt. Die Standardisierung und Dokumentation der ELISA-Messwerte als ELISA-Einheiten erfolgte nach SCHMEER (1988). Die Berechnung des Grenzwertes (cut off) erfolgte aus den Messwerten der seriellen Untersuchungen der Negativkontrollseren nach der Methode von TJIJSEN (1985) auf dem Signifikanzniveau von $p < 0,01$. Die Präzision des ELISA wurde durch Berechnung der Intra- und Interassayvarianz aus ELISA-Daten des positiven Kontrollserums SW06 ermittelt (CHAN u. PERLSTEIN 1987).

3.4.2 Nachweis von *Chlamydophila abortus*-DNA in der Spülflüssigkeit

Von allen Spendern wurden jeweils 50 ml der zurück gewonnenen Spülflüssigkeit in einem Zentrifugenröhrchen (Fa. Greiner, Frickenhausen) bei -30°C eingelagert. Die weiteren Untersuchungen wurden im Institut für Veterinärbakteriologie der Universität Zürich durchgeführt. Nach dem von HÖLZLE et al. (2000) beschriebenen Verfahren wurden die Proben mittels quantitativer Taqman-PCR auf *Chlamydophila abortus*-

DNA untersucht. Die Zielsequenz lag dabei auf dem omp1-Gen (outer-membrane-protein). Eine Prozesskontrolle mit PBS wurde mitgeführt, um falschpositive Ergebnisse durch Kontaminationen mit bereits amplifizierter DNA zu erkennen. Jede Probe wurde im Doppelansatz untersucht. Für die Erstellung einer Standardkurve wurde eine log₁₀-Verdünnungsreihe aus einer quantifizierten Chlamydien-Suspension hergestellt.

3.5 Ultrasonographische Untersuchung

Nach der Spülung wurde die Ovarreaktion mittels transrektaler, ultrasonographischer Untersuchung erfasst. Dabei wurden, in Kombination mit einer rektalen Palpation, die Anzahl der Corpora lutea bestimmt. Weiterhin wurden persistierende Follikel ab einem Durchmesser von 10 mm erfasst. Große Follikel, mit mehr als 20 mm wurden einzeln registriert. Verwendet wurde dabei ein Ultraschallgerät (Agroscan L; Fa. Hauptner u. Herbolz, Solingen) mit einem 5 MHz Linearschallkopf.

3.6 Datenaufnahme zu den Spendertieren

Von jedem Spender wurden das Alter und das Intervall zwischen letzter Abkalbung und dem Embryotransfertermin erfasst. Weiterhin wurde der Geburtsverlauf bei der letzten Abkalbung beurteilt. Eine Gruppe bildeten Spender mit Abkalbungen ohne bzw. mit nur leichter Geburtshilfe durch geringen Kraftaufwand maximal einer Person. Schwierige Haltungsberichtigungen und Zughilfe mit 2 Personen oder einem mechanischen Geburtshelfer zählten als verstärkte Geburtshilfe und wurden zusammen mit Schweregeburten, bei denen ein Tierarzt notwendig war, zu einer zweiten Gruppe zusammengefasst. Das Auftreten von Aborten, puerperalen und postpuerperalen Erkrankungen seit der letzten Kalbung wurde ebenfalls dokumentiert.

3.7 Datenaufnahme zu Herdenmanagement und Fruchtbarkeitslage in den ET-Betrieben

Im Rahmen einer Bestandsaufnahme wurden nähere Informationen zu verschiedenen Bereichen des Herdenmanagement der ET-Betriebe gewonnen. Hierbei wurden Daten über die Herdengröße und -zusammensetzung, das Haltungssystem und das Fruchtbarkeitsmanagement erhoben. Als Grundlage für die Berechnung der Fruchtbarkeitskennzahlen dienten die Abkalbedaten und

Abgangsursachen aus den monatlichen Probemelkergebnissen. Besamungsdaten und Übertragungstermine von Frisch- und Tiefgefrierembryonen wurden aus den Besamungs- bzw. Embryotransferkarten der Betriebe entnommen. Berücksichtigt wurden nur Tiere mit mindestens einer Abkalbung. Bei Doppelbesamungen innerhalb von 3 Tagen wurde nur die letzte Insemination gewertet. Durchgeführte Trächtigkeitsuntersuchungen von den jeweiligen Hoftierärzten wurden übernommen, eigene Untersuchungen wurden sonographisch (Agroscan L; Fa. Hauptner u. Herbolz, Solingen, 5 MHz Linearschallkopf) ab dem 35. Trächtigkeitstag durchgeführt. Folgende Fruchtbarkeitskennzahlen wurden berechnet:

Retrospektive Kennzahlen

- Zwischenkalbezeit

Errechnet wurde das Intervall zwischen der letzten und der vorletzten Kalbung, bezogen auf den Tag der Spülung. Gewertet wurden alle Tiere der Herde mit mindestens 2 Abkalbungen, die sich im Zeitraum eines Jahres vor der jeweiligen Embryonengewinnung in der Herde befanden.

- Abgangsrate wegen Unfruchtbarkeit

Ermittelt wurde die Anzahl der Tiere, die im Zeitraum eines Jahres vor der Spülung nach mehr als 2 erfolglosen Besamungen gemerzt wurden. Zum Vergleich der Betriebe wurde die jeweilige Abgangsrate, gemessen an der Herdengröße, herangezogen.

- Abortrate

Als Aborte wurden alle Fehlgeburten vom 45. bis 265. Trächtigkeitstag für den Zeitraum eines Jahres vor dem jeweiligen Spüldatum erfasst, und daraus die Abortrate des Betriebes errechnet (DE KRUIF et al. 1998).

- Trächtigkeitsrate

Es wurden Trächtikeitsraten für jeweils 3 Intervalle von 21 Tagen bestimmt. Das erste Intervall reichte von der 6. bis zur 3. Woche vor dem Spültermin, das 2. Intervall lag zwischen der 3. Woche und dem Tag vor der Spülung. Die 3. Trächtigkeitsrate umfasste den Tag der Spülung bis zur 3. Woche danach. Berechnet wurden die erzielten Trächtigkeiten innerhalb des jeweiligen Intervalls, als Prozentsatz der

möglichen. Als Tiere mit der Möglichkeit trächtig zu werden wurden solche angesehen, deren freiwillige Wartezeit vor oder während des Berechnungszeitraumes abgelaufen war. Bei Kühen die durch Embryotransfer trächtig wurden zählte der Tag der Übertragung. Für den Spender selbst wurde nur das 3. Intervall berücksichtigt.

- **Erstbesamungserfolg**

Ermittelt wurde der Quotient aus der Anzahl tragender Tiere nach Erstbesamung x 100 und der Anzahl der Erstbesamungen. Der Berechnungszeitraum reichte von 150 Tage vor, bis 30 Tage nach dem Spültermin.

- **24-Tage-Brunsterkennungsrate**

Hierfür wurden alle am Tag der Spülung noch nicht besamten bzw. mit Embryonen belegten Kühe ab dem 20. Tag post partum aufgelistet. Im Rahmen der regulären Brunstbeobachtung vermerkten die Betriebsleiter alle innerhalb der folgenden 24 Tage in Brunst gesehenen Tiere, unabhängig ob besamt oder nicht. Berechnet wurden die in Brunst gesehenen Tiere als Prozentsatz der aufgelisteten.

Prospektive Kennzahlen

- **Rastzeit**

Alle Kühe, für die seit der letzten Abkalbung eine Besamung registriert war, wurden in die Berechnung der Rastzeit einbezogen. Dabei wurde das Intervall zwischen der Abkalbung und der ersten Besamung ermittelt.

Für alle Kühe, bei welchen am Tag der Spülung eine positive Trächtigkeitsuntersuchung vorlag, wurden folgende Kennzahlen ermittelt:

- **Erwartete Zwischenkalbezeit**

Ausgehend von einer physiologischen Trächtigkeitsdauer von 285 Tagen (GRUNERT u. BERCHTOLD 1999), wurde das Intervall zwischen der letzten Kalbung und dem zu erwartenden Kalbetermin bestimmt.

- Verzögerungszeit

Es wurde das Intervall zwischen der ersten Besamung post partum und dem ersten Trächtigkeitstag bestimmt.

- Trächtigkeitsindex

Erfasst wurde der Quotient aus der Anzahl der Besamungen bei trächtig gewordenen Tieren und der Anzahl erzielter Trächtigkeiten.

- Differenz zwischen Verzögerungszeit und Untergrenze 1.Belegung- 1.Trächtigkeitstag

Die Kennzahl „Untergrenze 1. Belegung- 1. Trächtigkeitstag“ errechnete sich aus dem Trächtigkeitsindex minus 1, multipliziert mit 21. Ausgehend von einem physiologischen Zyklus von 21 Tagen beschrieb sie die minimale Verzögerungszeit bei gegebenem Besamungsaufwand für die erzielten Trächtigkeiten, wenn alle Oestren nach der ersten Besamung genutzt worden wären. Aus der Differenz zur Verzögerungszeit konnte auf ungenutzte oder fehlende Brunsten nach der ersten Besamung geschlossen werden (METZNER u. MANSFELD 1992).

3.8 Körperkonditionsbeurteilung

Um die Körperkondition der Milchkuhherden auf den ET-Betrieben zu beurteilen, wurde das BCS-System (Body Condition Scoring) nach EDMONSON et al. (1989), modifiziert nach METZNER et al. (1993) angewendet. Dabei wurde der Ernährungszustand der Tiere visuell und palpatorisch beurteilt. Für die visuelle Einstufung wurden folgende 8 Körperstellen auf der rechten Seite der Tiere betrachtet:

- Dornfortsätze der Lendenwirbelsäule
- Verbindungslinie zwischen Dorn- und Querfortsätzen der Lendenwirbelsäule
- Querfortsätze der Lendenwirbelsäule
- Rechte Hungergrube
- Hüft- und Sitzbeinhöcker
- Bereich zwischen Hüft- und Sitzbeinhöcker
- Bereich zwischen den Hüfthöckern
- Beckenausgangsgrube

Zusätzlich wurde die Fettgewebsauflage auf Hüft- und Sitzbeinhöcker palpatorisch beurteilt. Die Bewertung erfolgte in einer Punkteskala von 1 bis 5, die in 0,25 Punktschritte unterteilt war. Die BCS-Gesamtnote eines Tieres ergab sich aus dem arithmetischen Mittel der beurteilten Körperstellen.

Ausgewertet wurden nur Tiere der Rassen Fleckvieh und Holstein Friesian. Die nur vereinzelt auftretenden Kühe anderer Rassen, Kreuzungstiere sowie zur Schlachtung vorgesehene Kühe wurden nicht berücksichtigt. Als Maß für die anzustrebende Körperkondition, abhängig vom Laktationsstadium des jeweiligen Tieres, wurden für Fleckviehkühe die in Tabelle 9 angegebenen Referenzwerte herangezogen. Für Holstein Friesian-Kühe lagen die entsprechenden Werte um 0,5 Punkte niedriger (MANSFELD et al. 2000).

Tabelle 9: Referenzwerte der Körperkondition bei Fleckviehkühen

Laktationsstadium	BCS-„Normal-Bereich“
Frühe Laktation (11-90 Tage post partum)	3,0-3,75
Mittlere Laktation (91-180 Tage post partum)	3,25-3,75
Späte Laktation (> 180 Tage post partum)	3,5-4,0
Trockenstehend oder frisch abgekalbt (< 10 Tage post partum)	3,75-4,25

3.9 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte mit dem Statistik-Programm SPSS[®], Version 12.0.1. Bei metrischen Variablen wurde zum Vergleich der Mittelwerte in den Versuchsgruppen der t-Test verwendet. Für die Darstellung von Lage und Verteilung der Mittelwerte wurden Boxplots verwendet. Dabei repräsentiert die graue Box den Bereich der 50% mittleren Werte, die sich zwischen dem 25%- und dem 75%-Perzentil befinden. Der Median wird durch den schwarzen Strich in der Box dargestellt. Die horizontal verlaufenden Striche über und unter der Box kennzeichnen den größten und den kleinsten Wert, mit Ausnahme der als kleine Kreise dargestellten Ausreißer. Diese liegen mehr als das 1,5-fache der Boxenhöhe über dem 75%-Perzentil bzw. unter dem 25%-Perzentil. Um den Zusammenhang einer kategorialen Variablen und einer Gruppenzugehörigkeit zu untersuchen kam der Chi-Quadrat-Test zum Einsatz. Das Signifikanzniveau wurde auf $p = 0,05$

festgelegt. Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen, die im Text als „tendenziell“ beschrieben wurden erfüllten $p \leq 0,10$.

4. Ergebnisse

4.1 Embryonen- und Eizellenausbeute

Im Zeitraum von Juni 2003 bis Februar 2004 erfüllten 50 Spendertiere die Einschlusskriterien einer der beiden Versuchsgruppen A (gute Spülergebnisse) oder B (schlechte Spülergebnisse). Die Resultate der beiden Gruppen sind in Tabelle 10 zusammengefasst. Die Anteile von tauglichen und untauglichen Embryonen innerhalb der Versuchsgruppen zeigt Abbildung 6. In der Gruppe Gruppe A (n = 30) wurden insgesamt 602 Embryonen/Eizellen gewonnen. Davon wurden 509 (84,6 %) als transfertauglich beurteilt. Daraus ergab sich ein durchschnittliches Superovulationsergebnis von $20,1 \pm 7,70$ Embryonen/Eizellen (Mittelwert \pm Standardabweichung) mit $17,0 \pm 6,08$ tauglichen Embryonen pro Spülung. Gemessen an der Anzahl tauglicher Embryonen lag die beste Spülung bei 29 Embryonen, was mit 67,4 % zugleich den minimalen Anteil transfertauglicher Embryonen an der Gesamtzahl von Embryonen/Eizellen in Gruppe A darstellte. Aus den beiden schlechtesten Spülungen der guten Gruppe resultierten jeweils 9 taugliche Embryonen, was einem Anteil von 75 % bzw. 81,8 % an der Gesamtzahl von Embryonen/Eizellen entsprach.

Bei den Spülungen mit schlechten Ergebnissen (Gruppe B, n = 20) wurden insgesamt 287 Embryonen/Eizellen gewonnen, von denen 48 (16,7 %) als transfertauglich eingestuft wurden. Die durchschnittliche Anzahl war mit $14,4 \pm 8,80$ Embryonen/Eizellen und $2,4 \pm 2,21$ tauglichen Embryonen pro Spülung signifikant niedriger als in Gruppe A ($p < 0,05$). Die Ausbeute an tauglichen Embryonen lag zwischen 0 und 7 Embryonen, der Anteil transfertauglicher Embryonen bewegte sich zwischen 0 und 30 %.

Tabelle 10: Spülergebnisse der 50 Spendertiere, eingeteilt in die Versuchsgruppen

	Gruppe A			Gruppe B		
	Mittelwert	Summe	Standardabweichung	Mittelwert	Summe	Standardabweichung
Anzahl an gewonnenen Embryonen und Eizellen	20,07	602	7,70	14,35	287	8,80
Anzahl transfertauglicher Embryonen	16,97	509	6,08	2,40	48	2,21
Anzahl degenerierter Embryonen	1,53	46	2,01	1,75	35	3,46
Anzahl unbefruchteter Eizellen	1,57	47	1,83	10,20	204	6,83

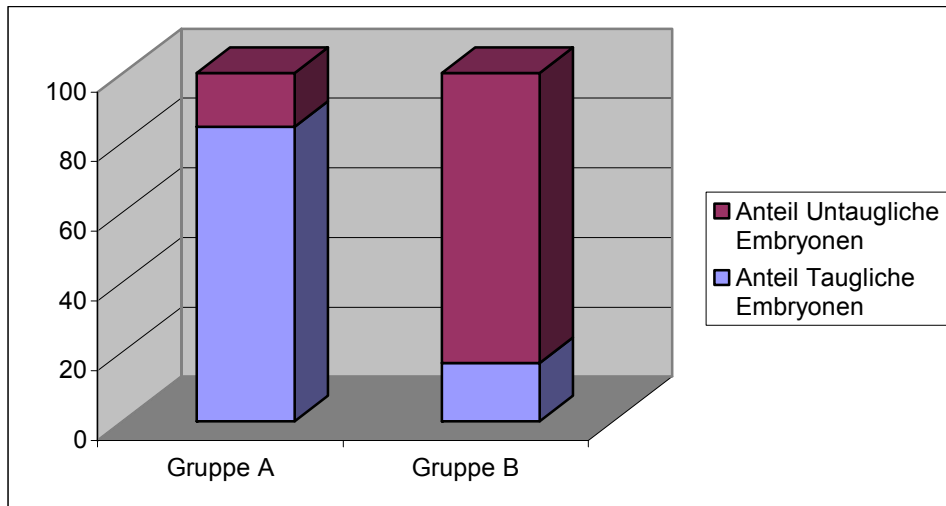


Abbildung 6: Anteile tauglicher und untauglicher Embryonen

4.2 Sonographische Befunde am Spültag

4.2.1 Gesamtzahl der Corpora lutea

Bei den 50 Spendertieren wurde nach der Spülung die Anzahl der Corpora lutea beider Ovarien sonographisch bestimmt (Abb. 7). Als minimale Gesamtzahl waren 5 darstellbare Gelbkörper gefordert. Bei dem Tier mit der schwächsten Ovarreaktion konnten insgesamt 6 Corpora lutea diagnostiziert werden. Die maximale Anzahl dargestellter Gelbkörper lag bei 31. Durchschnittlich konnten in Gruppe A $17,5 \pm 6,04$ Gelbkörper diagnostiziert werden, in Gruppe B waren es $15,8 \pm 5,33$. Dieser Unterschied war statistisch nicht signifikant ($p < 0,05$).

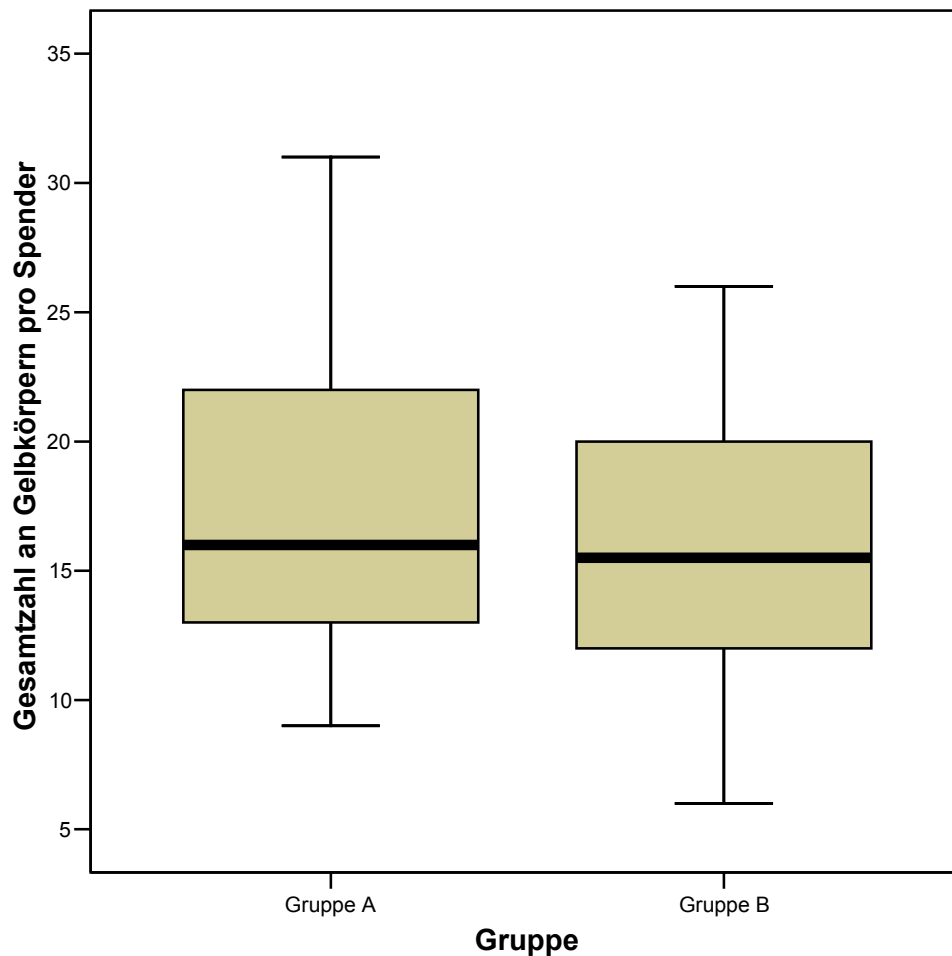


Abbildung 7: Gesamtzahl der sonographisch diagnostizierten Corpora lutea pro Spendertier

4.2.2 Sonographisch dargestellte Follikel

Erfasst wurde die Anzahl der auf den Ovarien des Spendertieres sonographisch darstellbaren Follikel mit einem Durchmesser ≥ 10 mm. Durchschnittlich wurden in Gruppe A $1,2 \pm 1,22$ Follikel diagnostiziert, in Gruppe B waren es $1,9 \pm 1,60$. Maximal waren 5 Follikel bei einem Spendertier zu sehen. In der Gruppe mit guten Spülergebnissen war bei 40 % der Kühe kein Follikel ≥ 10 mm darstellbar. Unter den Tieren mit schlechter Embryonenausbeute fanden sich bei 20% der Gruppe keine Follikel dieser Größe. Die Anzahl der Spendertiere aus der jeweiligen Versuchsgruppe mit 1 bzw. 2 oder mehr Follikeln zeigt Tabelle 11. Die Differenzen in der Gesamtzahl dargestellter Follikel waren statistisch nicht zu belegen ($p > 0,05$).

Tabelle 11: Gesamtzahl der bei den Spendern sonographisch dargestellten Follikel mit einem Durchmesser ≥ 10 mm, eingeteilt in 3 Kategorien

			Gesamtzahl Follikel		
			0	1	>2
Gruppe	Gruppe A	Anzahl	12	5	13
		% von Gruppe	40,0%	16,7%	43,3%
	Gruppe B	Anzahl	4	7	9
		% von Gruppe	20,0%	35,0%	45,0%

Wie in Abbildung 8 zu sehen, ergibt sich für die Verteilung großer Follikel (Durchmesser > 20 mm) auf die Versuchsgruppen eine tendenzielle Häufung in der Gruppe B. Hier hatten 50 % der Spenderkühe zumindest einen großen Follikel. In Gruppe A waren dies 26,7 % der Tiere.

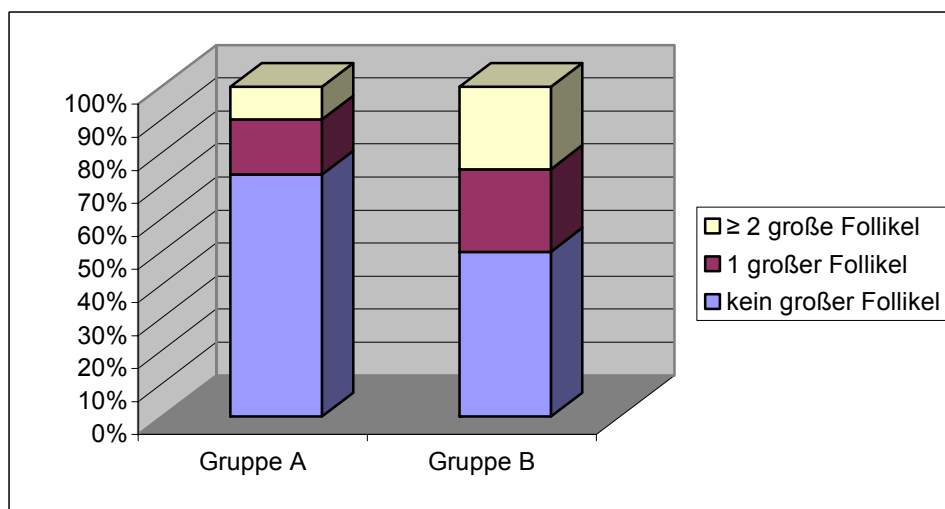


Abbildung 8: Anteile von Spendern mit bzw. ohne große Follikel

4.3 Individuelle Einflüsse der Spender

4.3.1 Alter der Spender

Bei einem Vergleich der Altersstruktur der Spender in den Versuchsgruppen konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Der Durchschnitt lag in Gruppe A bei $5,0 \pm 1,66$ Jahren, in Gruppe B bei $5,6 \pm 2,32$ Jahren. Die Altersverteilung reichte von 2,5 bis 11,3 Jahre, wobei die beiden mit Abstand ältesten Tiere (11,3 bzw. 11,2 Jahre) der Gruppe B angehörten (Abb. 9).

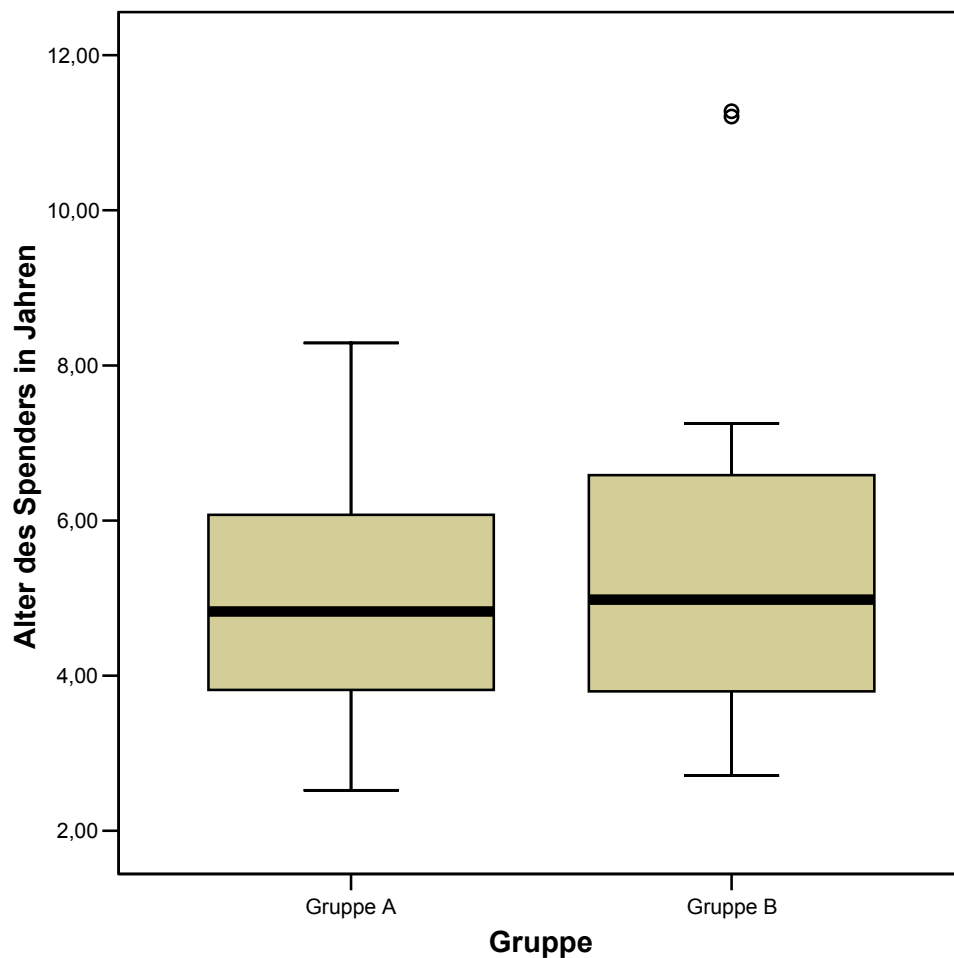


Abbildung 9: Altersverteilung der Spendertiere

4.3.2 Voruntersuchung der Spender

Zum Zeitpunkt der Voruntersuchung waren alle Spenderkühe klinisch und gynäkologisch unauffällig. Bei der durch rektale Palpation vorgenommenen Beurteilung der Corpora lutea ergab sich im Bezug auf die Versuchsgruppen statistisch kein erkennbarer Unterschied. In Gruppe A wurden die Gelbkörper von 8 Tieren (26,7 %) mit 2 Punkten (gut palpierbares C.I.) beurteilt, 22 Spender erhielten 3 Punkte (deutliches C.I. in Blüte). Die Gelbkörper in Gruppe B wurden 8-mal (40 %) mit 2 Punkten und 12-mal (60 %) mit 3 Punkten beurteilt.

Für alle Spendertiere wurde ein Vorbericht erhoben, in dem der Geburtsverlauf der letzten Abkalbung und aufgetretene Erkrankungen seit diesem Zeitpunkt erfasst wurden (Tab. 12). In der Gruppe mit guten Spülresultaten (Gruppe A) hatten 20 Tiere (66,7 %) einen komplikationslosen Geburtsverlauf, ein ungestörtes Puerperium und

zeigten bis zum Spültermin keine gynäkologischen Probleme. Von den Tieren mit schlechtem Spülergebnis (Gruppe B) waren 13 Spender (65 %) ohne auffälligen Vorbericht. In eine zweite Kategorie wurden Spender eingeordnet, die vorberichtlich entweder einen gestörten Geburtsverlauf oder einen Abort hinter sich hatten. Kühe mit puerperalen Erkrankungen (Retentio secundinarum) oder postpuerperalen Fertilitätsstörungen (Ovarialzysten, Endometritis) zählten ebenfalls zu dieser Kategorie. Aus Gruppe A waren hier 10 Tiere (33,3 %), darunter ein Abortfall, eingegliedert. Aus Gruppe B waren 7 Kühe (35 %), darunter 3 Abortfälle, betroffen. Statistisch war zwischen den Versuchsgruppen kein Unterschied zu erkennen.

Tabelle 12: Vorberichte der Spendertiere

			Vorbericht des Spenders	
			Geburt und Peurperium ungestört, keine Fertilitätsstörungen	Gestörte Geburt und/oder Fertilitätsstörungen
Gruppe	Gruppe A	Anzahl	20	10
		% von Gruppe	66,7%	33,3%
	Gruppe B	Anzahl	13	7
		% von Gruppe	65,0%	35,0%

4.3.3 Abstand zwischen letzter Kalbung und Spülung

Die zwischen der letzten Abkalbung und dem Spültermin liegende Zeit war in Gruppe A mit durchschnittlich $127,0 \pm 44,98$ Tagen signifikant kleiner als in Gruppe B, mit $185,5 \pm 127,06$ Tagen. Unter den Spendern mit schlechtem Spülergebnis waren 7 Tiere (35 %), deren letzte Kalbung über 200 Tage zurück lag. In Gruppe A waren es 2 Kühe (6,7 %) mit mehr als 200 Tagen seit dem letzten Kalb (Abb 10).

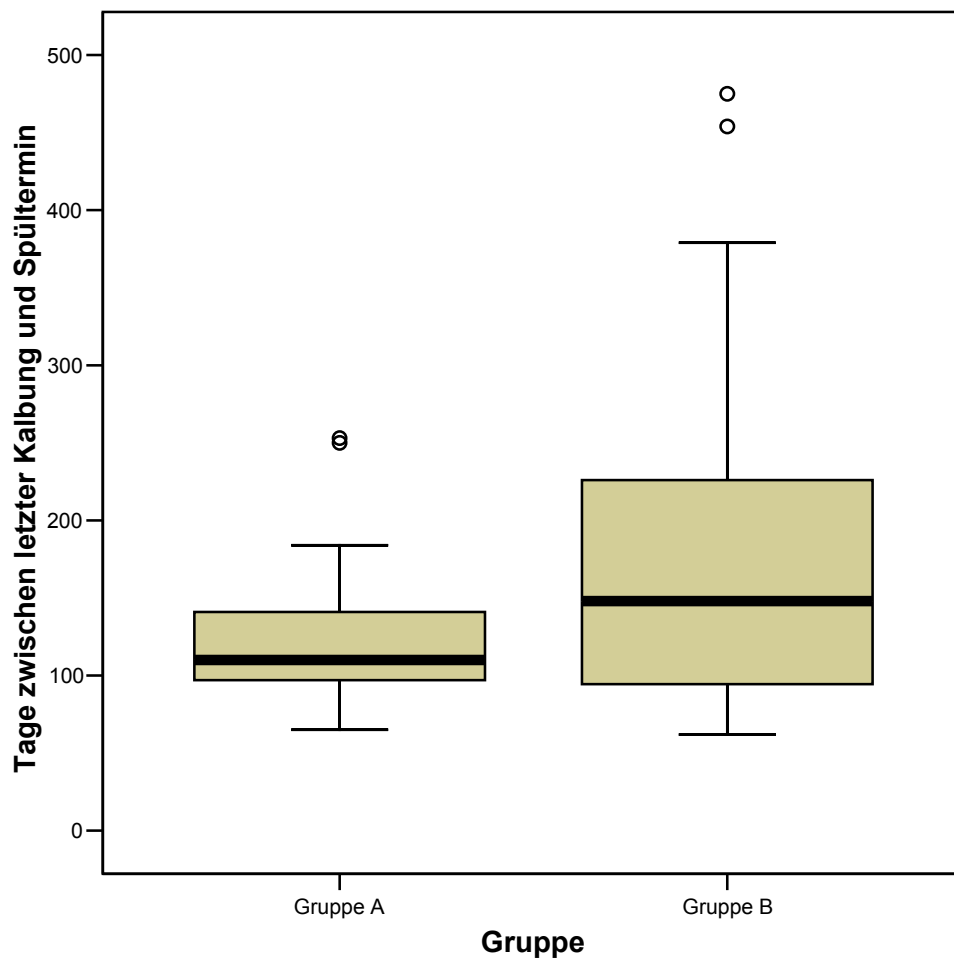


Abbildung 10: Zeitlicher Abstand der Spülung zur letzten Abkalbung der Spender

4.4 Betriebs- und Herdenstruktur

4.4.1 Größe der ET-Betriebe

Die Anzahl der in den einzelnen Betrieben gehaltenen Milchkühe war stark unterschiedlich. Im größten Betrieb wurden 97 Kühe gemolken, im kleinsten Betrieb waren es 23 Kühe (Abb. 11). Entsprechend groß war auch die Spanne der Anzahl insgesamt gehaltener Rinder pro Betrieb. Diese reichte von 247 bis 35 Tieren. Zwischen den Versuchsgruppen ergab sich für die Mittelwerte beider Parameter statistisch kein Unterschied ($p > 0,05$). Die mittlere Anzahl von Milchkühen pro Betrieb lag in Gruppe A bei $49,5 \pm 14,85$, in Gruppe B bei $52,9 \pm 23,98$. Die Zahl der im Betrieb gehaltenen Rinder betrug in Gruppe A durchschnittlich $112,3 \pm 36,94$, in Gruppe B waren es $128,6 \pm 61,33$ Tiere.

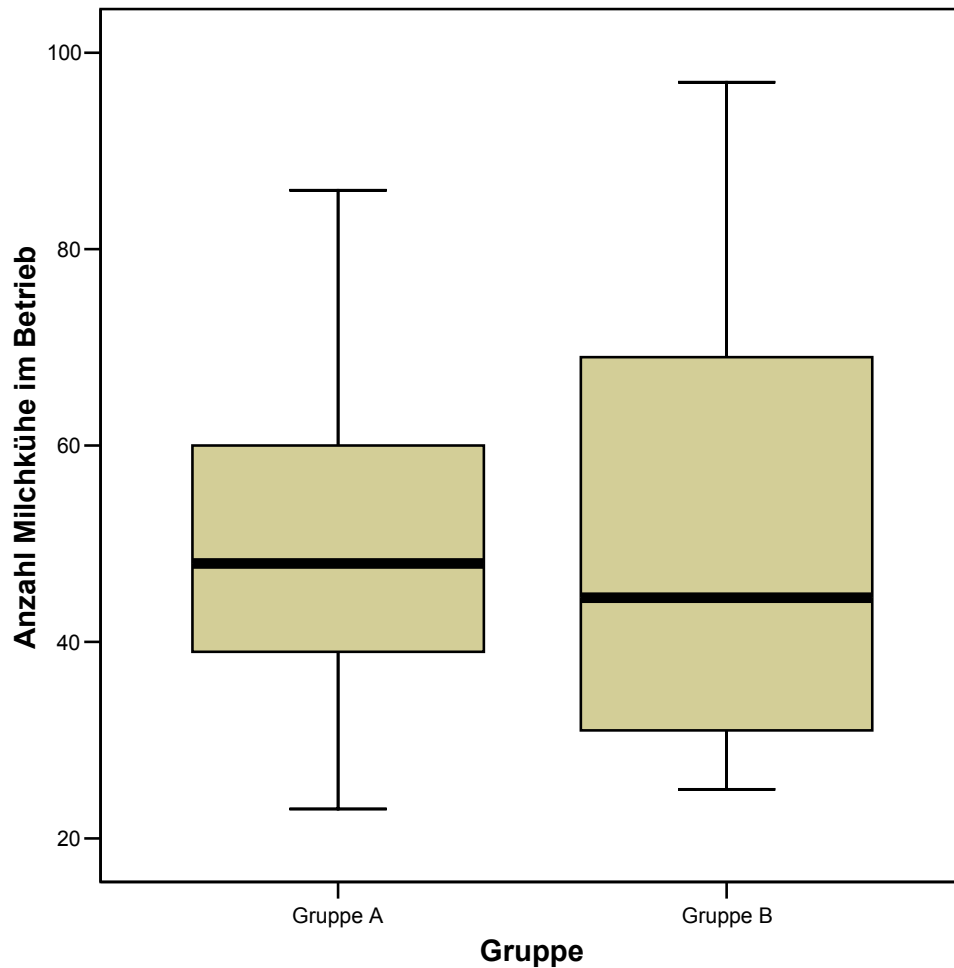


Abbildung 11: Größe der Milchkuhherden

4.4.2 Haltungsbedingungen

Die Stallsysteme für die Kuhherden der ET-Betriebe, eingeteilt in Anbindehaltung und Laufstall, zeigt Abbildung 12. In beiden Versuchsgruppen überwiegt die Laufstallhaltung, wobei der Anteil in Gruppe A mit 76,7 % den Anteil in Gruppe B (55,0 %) statistisch nicht signifikant übertrifft.

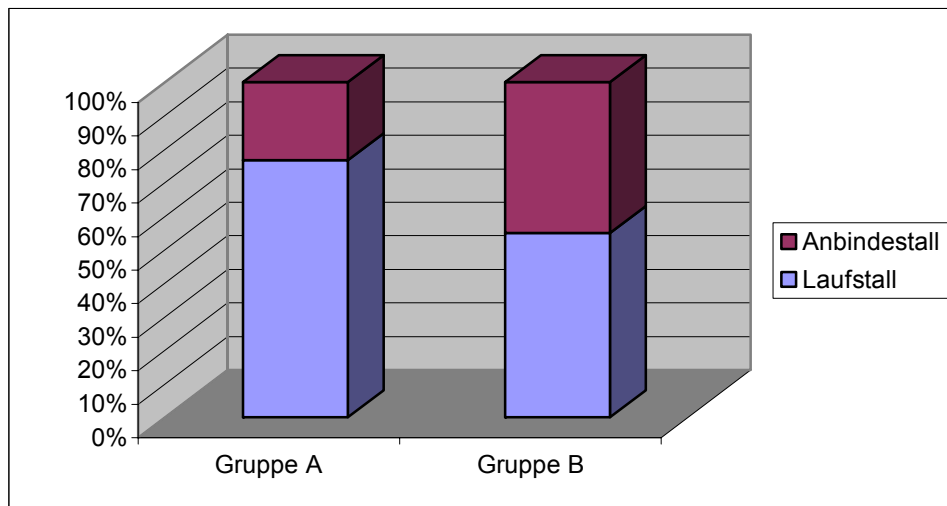


Abbildung 12: Haltungssysteme in den Versuchsgruppen, eingeteilt in Laufstall und Anbindehaltung

Der Großteil der Herden (88 %) beider Versuchsgruppen wurde ganzjährig nur im Stall gehalten, wobei es sich bei 47 Betrieben (94,0 %) um Warmställe handelte. Weideaustrieb erfolgte auf einem Betrieb der Gruppe A und 2 Betrieben der Gruppe B. Als zusätzliche Bewegungsmöglichkeit zum Laufstall waren einer Herde der Gruppe A und 2 Herden der Gruppe B Auslaufflächen im Freien zur Verfügung gestellt.

4.4.3 Körperkondition

Mit Hilfe des Körperkonditionsindex wurde der Ernährungszustand der Milchviehherden am Tag der Embryonengewinnung erfasst. Dabei hatten in Betrieben mit guter Embryonenausbeute (Gruppe A) durchschnittlich $43,9 \% \pm 9,13$ der Tiere eine in Abhängigkeit von Laktationsstadium und Rasse zufrieden stellende Körperkondition. In Herden der Gruppe B lag der Anteil leistungsgerecht versorgter Tiere im Mittel bei $41,2 \% \pm 11,36$. Zwischen den Versuchsgruppen war somit kein statistischer Unterschied der Körperkondition in den Kuhherden zu erkennen ($p > 0,05$). Absolut bewegten sich die Anteile von Tieren mit normaler Körperkondition in den ET-Betrieben zwischen 20,6 % und 62,5 %.

4.4.4 Herdengesundheit

Nach den Aussagen der jeweiligen Betriebsleiter gab es in 21 Herden der Gruppe A (70,0 %), bzw. in 10 Herden der Gruppe B (50,0 %) während eines Jahres vor dem ET-Termin keine gesundheitlichen Bestandsprobleme. In Betrieben mit

Fruchtbarkeitsstörungen kam es vermehrt zu Nachgeburtsverhaltungen, Endometritiden und Vestibulovaginitiden, mit der Folge verlängerter Gäst- und Zwischenkalbezeiten. Dies war in 16,7 % der Betriebe mit guten ET-Ergebnissen (Gruppe A) und in 35,0 % der schlechten ET-Betriebe (Gruppe B) der Fall. Probleme der Euter-, Stoffwechsel- oder Gliedmaßen-gesundheit traten weniger häufig auf (Abb. 13). In Gruppe A waren 4 Herden (13,3 %) von einem dieser Probleme betroffen, in Gruppe B waren dies 3 Bestände (15,0 %). Die unterschiedliche Verteilung der angegebenen Bestandsprobleme auf die Versuchsgruppen konnte statistisch nicht abgesichert werden.

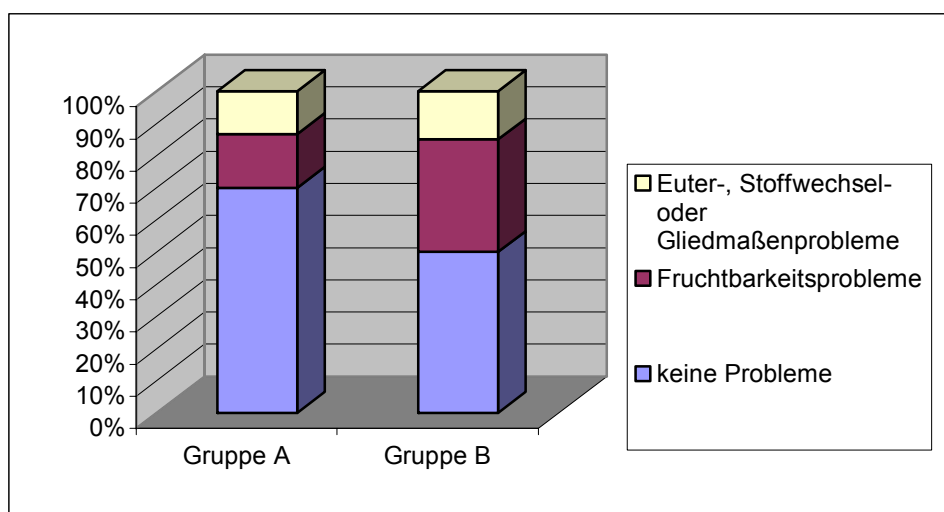


Abbildung 13: Verteilung der angegebenen Bestandsprobleme, ein Jahr vor dem Spültermin

4.4.5 ET-Erfahrung der Betriebe

Die Erfahrung des Betriebsleiters im Ablauf eines ET-Programmes, gemessen an der Zahl im Betrieb durchgeführter Spülungen, ist in Gruppe A mit durchschnittlich $9,1 \pm 13,11$ Spülungen pro Betrieb höher als in Gruppe B mit $7,0 \pm 11,07$ Spülungen (Differenz $p > 0,05$). Der Betrieb mit den meisten Spülungen hatte bis zum Zeitpunkt der ausgewerteten Superovulation 70 Spülungen durchführen lassen. 5 Betriebe nutzen den ET-Service zum ersten Mal.

4.5 Fruchtbarkeitsmanagement

4.5.1 Brunstbeobachtung

Ein Vergleich der Intensität der Brunstbeobachtung zwischen den ET-Betrieben wurde anhand einer 24- Tage- Brunsterkennungsrate, ausgehend vom Tag der Embryonengewinnung, durchgeführt. Die Erkennungsraten der ab 20 Tage post partum zur Brunstbeobachtung aufgelisteten Tiere lagen zwischen 42,9 % und 100 %. Die Mittelwerte des Anteils erkannter Brunsten unterschieden sich nur minimal ($p > 0,05$). Sie lagen bei 68,0 % (Gruppe A) und 67,4 % (Gruppe B).

Die Brunsterkennung und –nutzung nach der Erstbesamung wurde für alle Kühe mit positiver Trächtigkeitsuntersuchung am Analysetag mit Hilfe der Untergrenze 1.Belegung-1.Trächtigkeitstag bewertet. Anhand der Differenz zur Verzögerungszeit ergab sich die Anzahl der Verlusttage nach der Erstbesamung, die durch fehlende, nicht gesehene oder nicht genutzte Brunsten entstanden waren. Herden der Gruppe A (gutes Spülergebnis) hatten mit durchschnittlich $13,4 \pm 8,49$ Tagen weniger Zeitverlust als Herden in Gruppe B (schlechtes Spülergebnis) mit $18,0 \pm 11,71$ Tagen, wobei die Differenz der Mittelwerte nicht signifikant war ($p > 0,05$).

4.5.2 Besamungsmanagement

Alle 50 ET-Betriebe arbeiteten mit Tiefgefriersamen zugelassener Besamungsstationen. Das Erstbelegungsalter für die Nachzucht lag durchschnittlich bei $17,7 \pm 1,51$ Monaten. Der minimale Wert lag hier bei 15 Monaten, der Betrieb mit dem höchsten Erstbelegungsalter besamte Färsen ab einem Alter von 22 Monaten. Alle Betriebsleiter gaben an, eine freiwillige Wartezeit bis zur ersten Besamung nach der Abkalbung einzuhalten. Die Angaben hierfür lagen zwischen 28 und 60 Tagen. Die Mehrzahl der Betriebe (58 %, $n = 29$) wählte 42 Tage als Grenze für die erste Besamung. 18 % der Landwirte ($n = 9$) belegten die Tiere früher als 6 Wochen post partum 24 % ($n = 12$) wählten eine freiwillige Wartezeit über 42 Tage. In der Regel wurde in allen ET-Betrieben brunstorientiert besamt. Synchronisationsprogramme zur terminorientierten Besamung kamen nur in Ausnahmefällen, zum Beispiel bei Problemtieren, zum Einsatz. Für die Bestimmung des Besamungszeitpunktes wendeten alle Betriebsleiter die am-pm Regel (ante bzw. post meridiem) an, besamten die Tiere also in der zweiten Hälfte der Brunst. Für alle bisher aufgeführten

Parameter hinsichtlich des Besamungsmanagements waren in Bezug auf die Versuchsgruppen keine Unterschiede zu erkennen.

Abbildung 14 zeigt die Verteilung der Besamungs-Fachkräfte in den 50 ET-Betrieben. In beiden Versuchsgruppen wurden 40 % der Herden von Besamungstechnikern betreut. In Gruppe A besamten weniger Tierärzte (16,7 %) als in Gruppe B (25 %). Entsprechend lag der Anteil an Eigenbestandsbesamern in Gruppe A mit 43,3 % über dem Anteil in Gruppe B (35,0 %). Die Differenzen waren statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$).

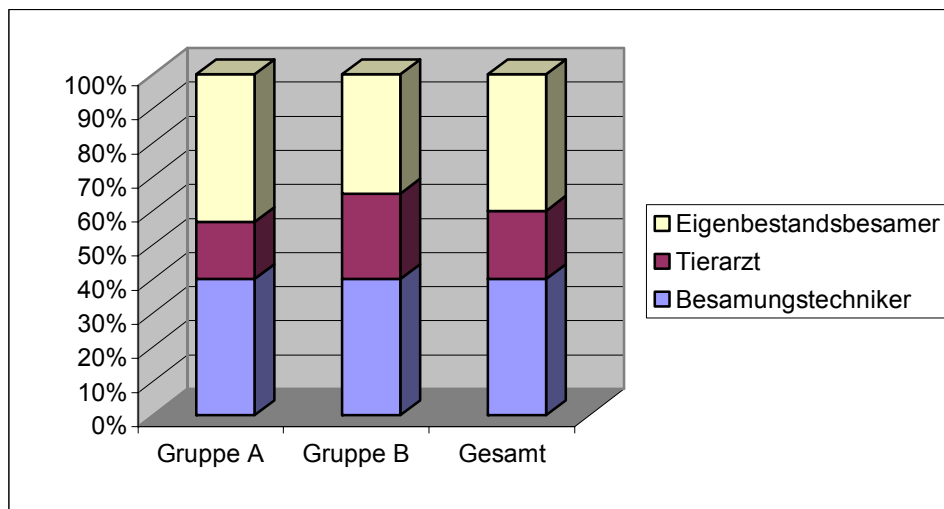


Abbildung 14: Anteil verschiedener Besamungsfachkräfte in den ET-Betrieben

4.6 Fruchtbarkeitskennzahlen

4.6.1 Zwischenkalbezeit

Die Zwischenkalbezeiten wurden für alle Tiere mit mindestens 2 Abkalbungen berechnet, die sich im Zeitraum eines Jahres vor der jeweiligen Embryonengewinnung in der Herde befanden. Die Verteilung der mittleren Zwischenkalbezeiten in den Betrieben zeigt Abbildung 15. Die Herde mit der niedrigsten Zwischenkalbezeit lag bei durchschnittlich 369,0 Tagen, der maximale Mittelwert einer Herde lag bei 441,0 Tagen. Bei einem Vergleich der beiden Versuchsgruppen konnte nur eine geringe Differenz ($p > 0,05$) der durchschnittlichen Zwischenkalbezeiten festgestellt werden. Dabei lag die mittlere Zwischenkalbezeit in Gruppe A bei $389,9 \pm 19,66$ Tagen, in Gruppe B bei $394,4 \pm 13,49$ Tagen.

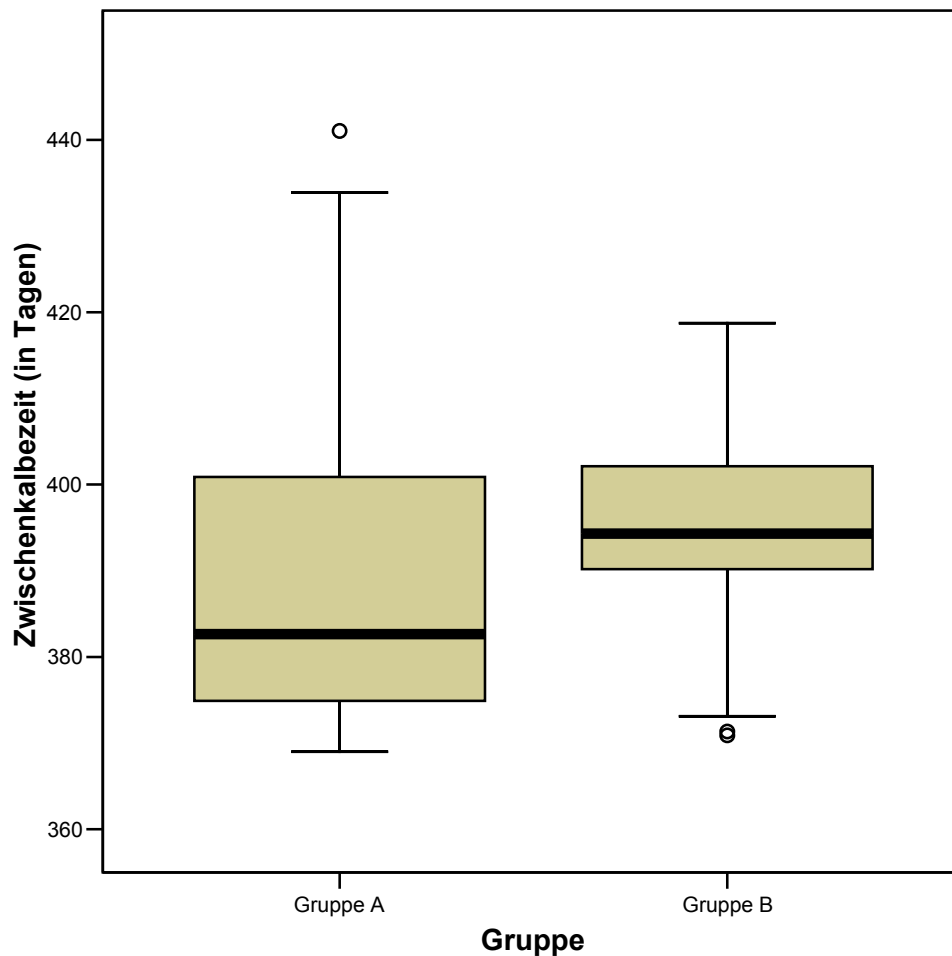


Abbildung 15: Mittlere Zwischenkalbezeiten

4.6.2 Erwartete Zwischenkalbezeit

Die erwartete Zwischenkalbezeit wurde für alle am Analysetag trächtigen Kühe berechnet. Zwischen den Versuchsgruppen war keine statistisch signifikante Differenz der durchschnittlichen erwarteten Zwischenkalbezeiten zu sehen ($p > 0,05$). Der berechnete Mittelwert über die ET-Betriebe lag in Gruppe A bei $389,7 \pm 18,69$ Tagen, in Gruppe B leicht darüber, bei $395,2 \pm 19,26$ Tagen.

4.6.3 Rastzeit

In die Berechnung der durchschnittlichen Rastzeit der Herde wurden alle Kühe miteinbezogen, für die seit der letzten Abkalbung eine Besamung registriert war. Die durchschnittlichen Rastzeiten der analysierten Betriebe lagen zwischen 49,7 und 108,7 Tagen. Zwischen den Versuchsgruppen konnte kein signifikanter Unterschied erkannt werden. Der Mittelwert für die berechneten Rastzeiten lag in Betrieben mit

gutem Spülerfolg bei $73,2 \pm 11,84$ Tagen, in Betrieben mit schlechter Embryonenausbeute bei $70,5 \pm 10,34$ Tagen ($p > 0,05$).

4.6.4 Verzögerungszeit

Für alle Kühe mit positiver Trächtigkeitsuntersuchung wurde das Intervall zwischen der ersten registrierten Besamung und der Konzeption innerhalb der aktuellen Laktation erfasst. Die Verteilung der durchschnittlichen Verzögerungszeiten in den Betrieben zeigt Abbildung 16. Die Verzögerungszeiten in Betrieben der Gruppe A lagen mit durchschnittlich $30,7 \pm 13,29$ Tagen statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$) unter den Ergebnissen der Betriebe aus Gruppe B ($37,4 \pm 16,67$ Tage).

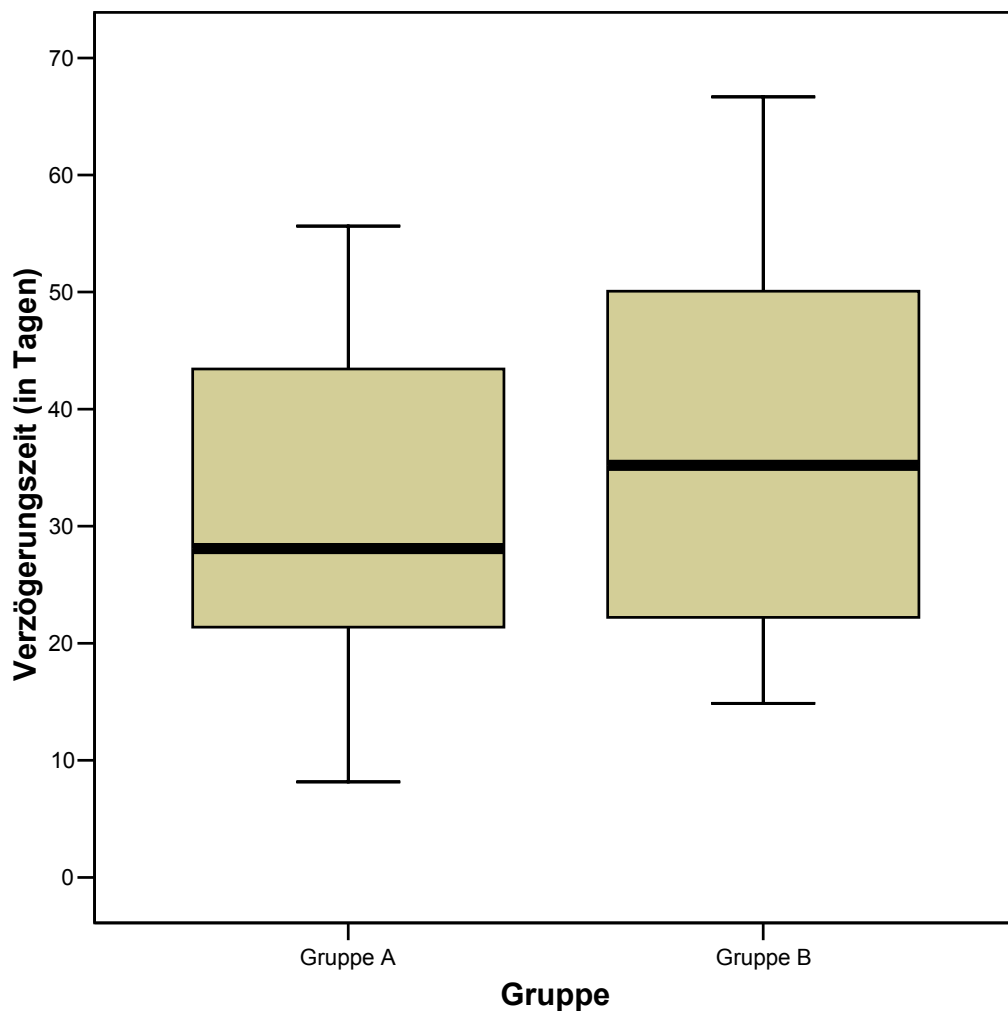


Abbildung 16: Mittlere Verzögerungszeiten

4.6.5 Erstbesamungserfolg

Die für den Zeitraum 150 Tage vor, bis 30 Tage nach dem jeweiligen Spüldatum ermittelten durchschnittlichen Erstbesamungserfolge lagen in Betrieben der Gruppe A bei 46,5 % \pm 12,36. Herden aus Gruppe B lagen im Mittel bei 42,7 % \pm 13,94. Die Verteilung der durchschnittlichen Ergebnisse in den Versuchsgruppen zeigt Abbildung 17. Wählt man einen Erstbesamungserfolg von mindestens 55 % als untere Grenze einer ungestörten Herdenfruchtbarkeit, so lagen 66,7 % (n = 20) der Betriebe mit gutem Spülergebnis (Gruppe A) unter dieser Anforderung. Von den Betrieben mit schlechtem Spülergebnis (Gruppe B) lagen 85 % (n= 17) unter diesem Grenzwert. Die Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen waren statistisch nicht abzusichern ($p > 0,05$).

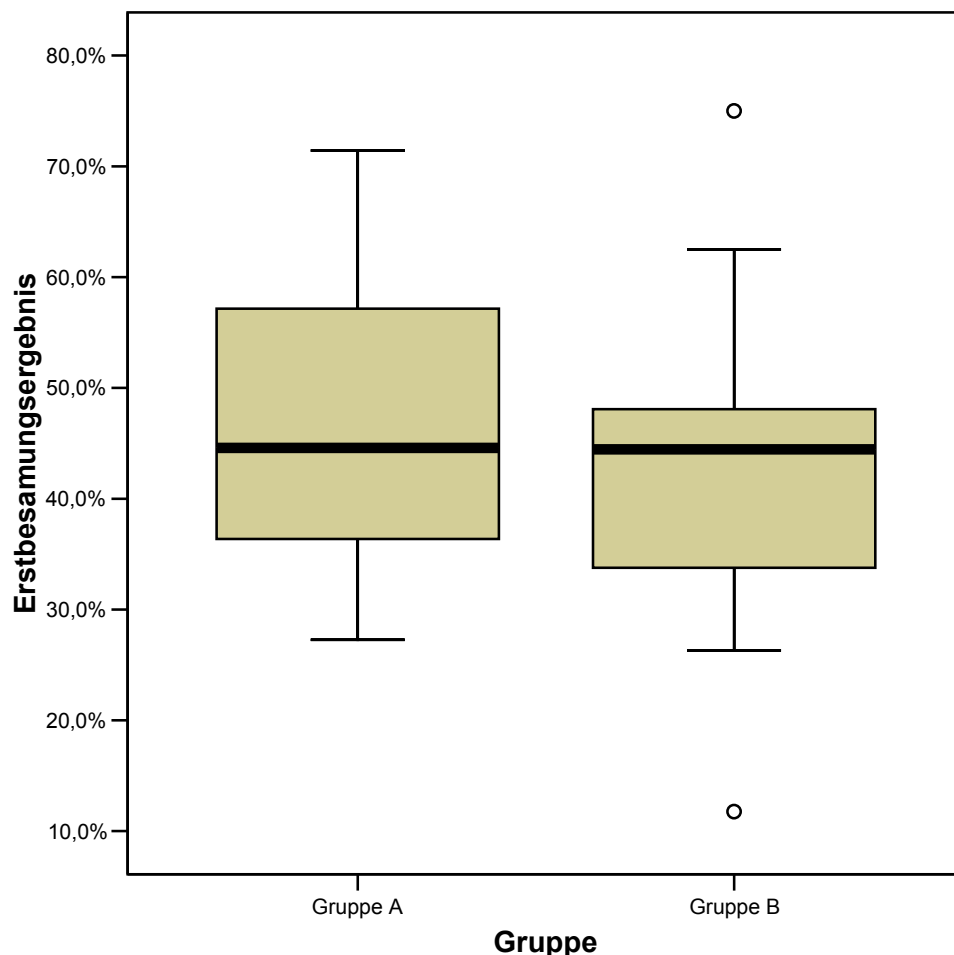


Abbildung 17: Mittlere Erstbesamungsergebnisse

4.6.6 Trächtigkeitsindex

Die durchschnittliche Anzahl der, bei trächtigen Kühen durchgeführten Besamungen pro Trächtigkeit lag in den bewerteten Herden zwischen 1,2 und 2,7. Die Mittelwertdifferenz der Versuchsgruppen war statistisch nicht ($p > 0,05$). Der durchschnittliche Trächtigkeitsindex in Gruppe A lag bei 1,8, der entsprechende Wert in Gruppe B bei 1,9.

4.6.7 Trächtigkeitsrate

Die einzelnen Trächtigkeitsraten der Betriebe lagen zwischen 0 und 66,7 %. Die durchschnittlichen Trächtigkeitsraten im Zeitraum 6 bis 3 Wochen (Trächtigkeitsrate 1) vor dem jeweiligen Spültermin lagen bei Betrieben mit schlechtem und Betrieben mit gutem Spülresultat eng zusammen (Gruppe A: 15,8 % gegenüber 16,8 % in Gruppe B). In den 3 Wochen vor dem Spültermin (Trächtigkeitsrate 2) hatten Herden der Gruppe A mit durchschnittlich 17,8 % \pm 14,0 bessere Ergebnisse als Herden der Gruppe B mit 13,4 % \pm 9,9. Ähnlich, jedoch auf höherem Niveau, waren die Durchschnittswerte der Trächtigkeitsrate 3 (3 Wochen nach der Spülung). Hier lag die mittlere Trächtigkeitsrate der Gruppe A bei 22,6 % \pm 11,5, in Gruppe B waren es 18,2 % \pm 13,8 (Abb. 18). Statistisch konnten die Unterschiede der Trächtigkeitsraten 2 und 3 nicht belegt werden ($p > 0,05$).

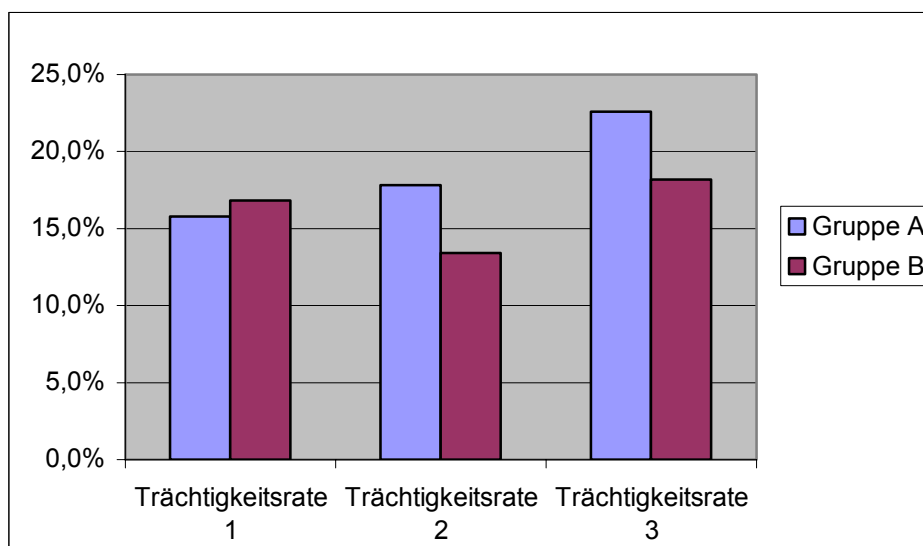


Abbildung 18: Durchschnittliche Trächtigkeitsraten (TR 1 = Zeitraum 6. bis 3. Woche vor dem Spültermin; TR 2 = Zeitraum 3 Wochen vor dem Spültermin; TR 3 = Zeitraum bis 3 Wochen nach der Spülung)

4.6.8 Abgänge wegen Unfruchtbarkeit

Die Ergebnisse für die Berechnung der Abgangsraten wegen Unfruchtbarkeit im Zeitraum eines Jahres vor dem ET-Termin sind in Abbildung 19 dargestellt. Dabei wurden alle Kühe erfasst, die nach mehr als 2 erfolglosen Besamungen gemerzt wurden. Die Extremwerte lagen hier bei 0 bzw. 22 %. Im Mittel gingen in Betrieben aus Gruppe A 7,5 % \pm 4,68 der Tiere wegen Unfruchtbarkeit ab, in Gruppe B lag der Durchschnitt bei 8,4 % \pm 6,05 der Herde. Die Differenz der Mittelwerte war nicht signifikant ($p > 0,05$).

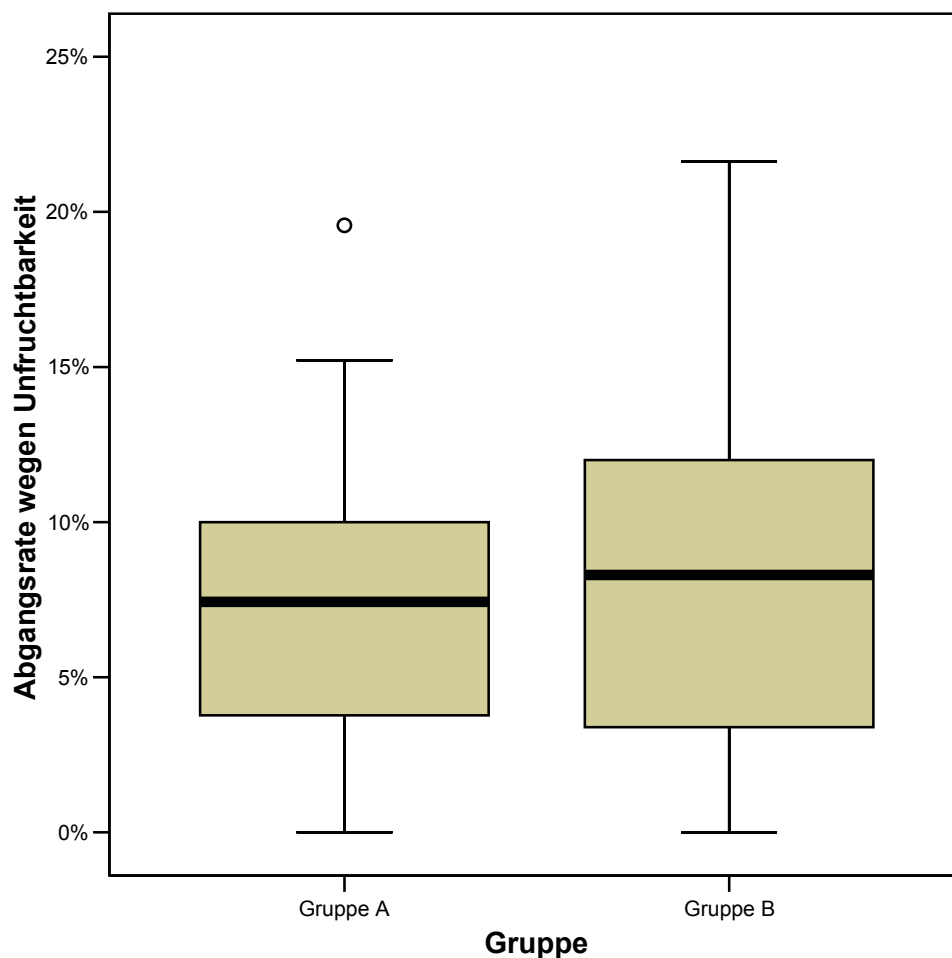


Abbildung 19: Abgangsraten wegen Unfruchtbarkeit

4.6.9 Anteil abortierender Kühe

Alle Fehlgeburten zwischen dem 45. und 265. Trächtigkeitstag wurden als Abort registriert. Die Verteilung der in den 50 Herden ermittelten Abortraten im Zeitraum eines Jahres vor der Spülung ist in Abbildung 20 getrennt nach Versuchsgruppen

abgebildet. Durchschnittlich hatten $4,1\% \pm 3,10$ der Kühe aus Herden der Gruppe A abortiert, in Gruppe B waren es $4,7\% \pm 5,30$ Tiere. Unter der Annahme einer akzeptablen Abortrate von maximal 8% waren unter den Betrieben mit schlechtem Spülergebnis (Gruppe B) 25% ($n = 5$) über diesem Grenzwert. In Gruppe A lagen mit 10% ($n = 3$) weniger Herden über dieser Marke. Statistisch waren zwischen den Versuchsgruppen in keinem der beiden Parameter Unterschiede zu belegen ($p > 0,05$).

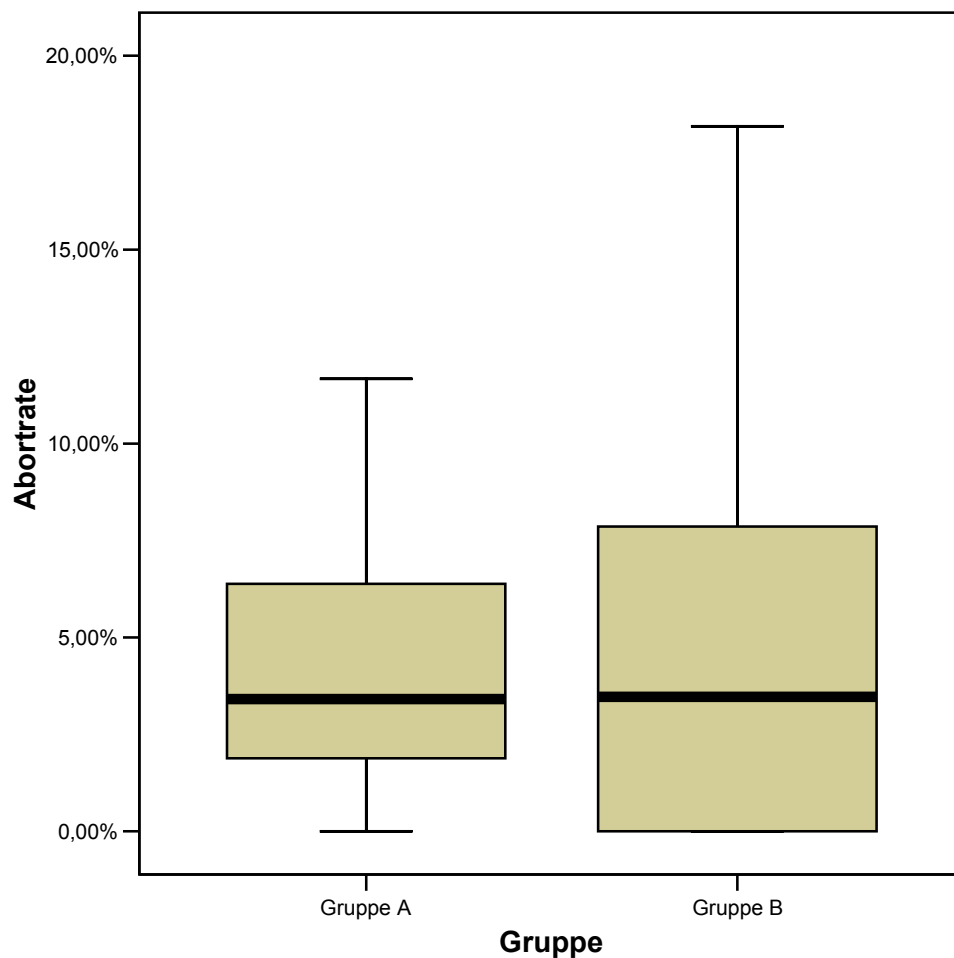


Abbildung 20: Verteilung der Abortraten in den Herden

4.7 Chlamydien- Nachweis bei den Spendertieren

4.7.1 Nachweis von Antikörpern gegen Chlamydien

Mit Hilfe eines gattungsspezifischen ELISA wurden bei 22 von 50 untersuchten Spendertieren Antikörper gegen Chlamydien gefunden. Im Bezug auf das Spülergebnis konnten statistisch keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen gefunden werden ($p > 0,05$). Von den Tieren mit schlechtem Spülergebnis (Gruppe B) waren 45 % serologisch positiv. In Gruppe A waren bei 43,3 % der Kühe Chlamydien- Antikörper zu finden.

4.7.2 Nachweis von spezifischer *Chlamydomphila abortus*-DNA

Bei insgesamt 19 der 50 Spendertiere (38 %) konnte DNA von *Chlamydomphila abortus* in der aus dem Uterus zurück gewonnenen Spülflüssigkeit nachgewiesen werden. Aus der Gruppe mit schlechten Spülergebnissen war die Taqman- PCR bei 6 Tieren positiv (30 % der Gruppe B), in der Gruppe der guten Donoren war bei 13 Kühen *Chlamydomphila abortus*- DNA nachzuweisen (43,3 % der Gruppe A). Statistisch war dieser Unterschied nicht signifikant ($p > 0,05$).

4.7.3 Zusammenhänge zwischen dem direkten und indirekten Nachweis von Chlamydien

Wie in Tabelle 13 zu sehen, konnten bei 33 der 50 untersuchten Spendertiere entweder direkt oder indirekt Chlamydien nachgewiesen werden. Zwischen dem Erregernachweis und dem Antikörpernachweis mittels ELISA konnte statistisch jedoch kein Zusammenhang nachgewiesen werden ($p > 0,05$). Ein gleichzeitiger indirekter und direkter Nachweis gelang nur bei 8 Tieren.

Tabelle 13: Direkter und indirekter Nachweis von Chlamydien

		Chlamydien-AK-ELISA		Gesamt
		negativ	positiv	
Chlamydien-PCR	negativ	17	14	31
	positiv	11	8	19
Gesamt		28	22	50

5.Diskussion

Verschiedene Autoren nennen die betrieblichen Rahmenbedingungen unter denen eine Embryonengewinnung beim Rind durchgeführt wird als wichtige Faktoren mit Einfluss auf die Embryonenausbeute (CAMP 1989; HAHN 1992). Dazu zählen die Fähigkeiten des Tierhalters hinsichtlich Spenderauswahl und Fruchtbarkeitsmanagement (GÖRLACH 1997). Daneben haben die Fütterung, die Haltungsbedingungen, die Stressbelastung und der Infektionsdruck vor allem genitalpathogener Erreger messbaren Einfluss auf den Spülerfolg (DOBSON et al. 2001; KAFI u. MCGOWAN 1997; TROPFMANN 2000). In den eigenen Untersuchungen wurden die betriebliche Haltungsumwelt und die Fruchtbarkeitslage in ET-Betrieben mit guten bzw. schlechten Spülergebnissen verglichen.

5.1 Ergebnisse der Embryonengewinnung

Die 50 ausgewerteten Spülergebnisse stellen 24,8 % der im Versuchszeitraum durch das ET-Team des BVN gespülten Fleckviehkühe (n = 202) dar. Insgesamt wurden durchschnittlich 14,4 Embryonen und Eizellen mit 8,86 transfertauglichen Embryonen gewonnen. Damit lag der Anteil transfertauglicher Embryonen bei durchschnittlich 61,7 %. Durch die angewandten Einschlusskriterien für die Versuchsgruppen wurden Spendertiere selektiert, die sich sowohl in der Anzahl transfertauglicher Embryonen wie auch in deren Anteil an der Gesamtzahl gewonnener Embryonen und Eizellen deutlich von den durchschnittlichen Resultaten im Beobachtungszeitraum abhoben. Die Embryonenausbeute in der Gruppe der guten Spenderkühe (Gruppe A) lag bei durchschnittlich 17,0 tauglichen Embryonen pro Spülung. Der Anteil transfertauglicher Embryonen lag bei 84,6 %. In Gruppe B (Spender mit schlechten Spülergebnissen) wurden bei einem Anteil transfertauglicher Embryonen von 16,7 % im Mittel pro Spender 2,4 taugliche Embryonen gewonnen.

Die unterschiedliche Embryonenausbeute der Versuchsgruppen ergab sich vor allem durch die abweichende Anzahl unbefruchteter Eizellen pro Spülung. So waren in Gruppe A durchschnittlich 1,6 Eizellen unbefruchtet, in Gruppe B waren es 10,2. Die mittlere Anzahl degenerierter Embryonen war dagegen in beiden Gruppen ähnlich (1,53 in Gruppe A gegenüber 1,75 in Gruppe B). Ursachen für eine hohe Anzahl unbefruchteter Eizellen können zunächst beim Spender selbst gesucht werden. So ist bekannt, dass vor allem bei starken Ovarreaktionen die Länge des

Ovulationszeitraums zunimmt, und so einige Ovulationen nicht zeitgerecht im Verhältnis zum Besamungszeitpunkt stattfinden (PURWANTARA et al. 1994). Weiterhin kann es durch die Superovulation zu gestörter Östrogen-, bzw. Progesteronausschüttung kommen. Dies kann zu Veränderungen im Ablauf der Oozytenmaturation und zu Störungen des tubalen Milieus führen, wodurch sowohl der Spermientransport als auch die Befruchtung an sich negativ beeinflusst werden kann (DE LOOS et al. 1991; FOOTE u. ELLINGTON 1988; HYTTEL et al. 1991; WILEY et al. 1982). Auch die individuelle Fruchtbarkeit von Bullen hat Einfluss auf die Fertilisation (GRANDKE et al. 1990; HUPKA 2000; MANCIAUX et al. 2000). In der vorliegenden Studie wurde nur Sperma geprüfter Besamungsbullen verwendet. Zudem wurde beim überwiegenden Teil der Spender eine Doppelbesamung mit 2 verschiedenen Bullen durchgeführt, was den Einfluss einzelner Bullen auf die Befruchtungschancen verringert (HUPKA 2000). Auch die Inseminationsmethode und -frequenz beeinflussen den Anteil unbefruchteter Eizellen (DONALDSON 1985; NIEMANN u. MEINECKE 1993). In den eigenen Untersuchungen wurden alle Spender einheitlich dreimal im Abstand von 12 Stunden besamt.

5.2 Ergebnisse der sonographischen Untersuchung nach der Embryonengewinnung

Die Untersuchung der Ovarreaktionen der Spender sollte gewährleisten, dass die Zuordnung eines Spendertieres zur Gruppe B nicht aufgrund einer fehlenden oder nur schwachen Superovulationsantwort der Ovarien geschah. Als minimale Ovarreaktion auf die FSH-Behandlung waren insgesamt 5 Corpora lutea gefordert. Andere Autoren sehen die Grenze einer positiven Superovulationsreaktion bei 3 (ROMMEL u. REHBOCK 1990) oder bereits bei 2 Gelbkörpern (CHAGAS E SILVA et al. 2002). Bei der sonographischen Untersuchung am Tag der Embryonengewinnung wurden bei den Spendern in Gruppe A durchschnittlich 17,5 Corpora lutea diagnostiziert, in Gruppe B wurden im Mittel 15,8 Gelbkörper registriert. Statistisch war demnach kein Unterschied der Ovarreaktionen guter und schlechter Spendertiere zu erkennen ($p > 0,05$). Tiere der Gruppe A hatten mit 20,1 gespülten Eizellen und Embryonen jedoch eine signifikant bessere Embryonenausbeute als Tiere der Gruppe B mit durchschnittlich 14,4 Eizellen und Embryonen ($p < 0,05$). Die Differenzen zwischen den sonographischen Untersuchungsergebnissen und der Gesamtzahl gewonnener Embryonen und Eizellen können einerseits durch

fehlerhafte Gelbkörperdiagnosen erklärt werden. Mit dem verwendeten Ultraschallgerät konnten keine Bilder gespeichert bzw. Sequenzen aufgenommen werden, was die Unterscheidung und Zählung der in einer Ebene dargestellten Gelbkörper während der Untersuchung erschwert. Auch andere Untersucher berichten über mangelhafte Diagnosegenauigkeit, vor allem bei sehr guten Ovarreaktionen (GREVE u. PURWANTARA 1993; ROBERTSON et al. 1993). Weitere mögliche Ursachen für die mangelhafte Übereinstimmung der Untersuchungsergebnisse sind beim Spendertier zu finden. So kann vor allem bei starker Ovarreaktion die Aufnahme der Eizellen vom Infundibulum des Eileiters gestört sein. Auch Verklebungen im Bereich der Eileiter führen zu scheinbar falschen Gelbkörperdiagnosen (BOWEN et al. 1978a).

Neben der Gesamtzahl an Corpora lutea wurde die Anzahl und Größe der zum Zeitpunkt der Embryonengewinnung noch persistierender Follikel ab einem Durchmesser ≥ 10 mm sonographisch erfasst. Diese haben sich aus anovulatorischen Follikeln nach der Superovulation weiterentwickelt oder sind in der Zeit bis zur Untersuchung neu entstanden (GOULDING et al. 1991). Dabei wurden bei Spendern mit guter Embryonenausbeute (Gruppe A) durchschnittlich 1,2 Follikel gegenüber 1,9 Follikel pro Spender in Gruppe B registriert ($p > 0,05$). Tendenziell hatten die Spendertiere der Gruppe B häufiger große persistierende Follikel mit einem Durchmesser > 20 mm als Kühe mit gutem Spülerfolg. Diese Ergebnisse unterstützen die Aussagen verschiedener Autoren, wonach persistierende Follikel die Embryonenqualität herabsetzen (HAHN et al. 1977; HAHN 1978; SCHILLING et al. 1980; SCHWAB 2000). Als Ursache ihres negativen Effektes wird die hormonelle Aktivität persistierender Follikel genannt. Die erhöhten Östrogenwerte können den Spermientransport, die Fertilisation und die frühembryonale Entwicklung beeinträchtigen (AHMAD et al. 1994; HYTTEL et al. 1991).

5.3 Einfluss der Spenderkuh auf die Embryonengewinnung

Als individuelle Einflüsse seitens der Spendertiere auf den Erfolg der Embryonengewinnung wurde in der vorliegenden Arbeit das Alter, der vorberichtlich ermittelte Geburts-, Puerperal- und Postpuerperalverlauf sowie die Zeitspanne zwischen letzter Abkalbung und dem Spültermin untersucht.

Für das Alter der Spender konnte keine Beziehung zur Embryonenausbeute festgestellt werden. Das Durchschnittsalter der Tiere unterschied sich in den beiden Versuchsgruppen nur geringfügig (Gruppe A: 5,0 Jahre; Gruppe B: 5,6 Jahre). Das Alter der Spenderkühe schwankte zwischen 2,5 und 11,3 Jahren. Auch HASLER et al. (1981; 1983) stellten bei Kühen zwischen 3 und 10 Jahren keinen Einfluss des Alters auf den Superovulationserfolg fest. Die Beobachtung, dass die beiden mit Abstand ältesten Kühe (11,3 bzw. 11,2 Jahre) der Gruppe B (schlechte Spülergebnisse) angehörten steht ebenfalls in Einklang mit den Ergebnissen von HASLER et al. (1983), die bei Kühen über 10 Jahren einen deutlichen Abfall der Fertilisationsrate und der Anzahl tauglicher Embryonen beobachteten. Andere Untersuchungen zeigten einen linearen Abfall der Embryonenausbeute und –qualität mit steigendem Alter der Donorkühe (LERNER et al. 1986). Als Ursache für die schlechteren Spülergebnisse älterer Tiere wird die geringere Anzahl der auf exogene Gonadotropine reagierenden Follikel genannt (KATSKA u. SMORAG 1984). Möglicherweise treten mit zunehmendem Alter häufiger Funktionsstörungen an Ovarien und Uterus auf, die ohne eine Superovulation nicht auffallen würden (DESAULNIERS et al. 1995).

Aus mehreren Untersuchungen geht die Empfehlung hervor, nur Tiere mit einwandfreiem Vorbericht einer Superovulation mit anschließender Embryonengewinnung zu unterziehen. Folgende Faktoren scheinen einen negativen Einfluss auf die Ergebnisse einer Superovulation zu haben: Schweregeburten (HAUPT 1979), Endometritiden, Ovarzysten, Zyklusunregelmäßigkeiten sowie Mastitiden und schmerzhafte Gliedmaßenkrankungen (BUSSE 1995). In den eigenen Untersuchungen wurden die Spendertiere hinsichtlich des Geburtsverlaufs, der puerperalen und der postpuerperalen Erkrankungen verglichen. Dabei konnte zwischen Spendern mit guter Embryonenausbeute und Kühen mit schlechtem Spülergebnis keine unterschiedliche Häufigkeit im Auftreten von Geburtskomplikationen, Retentio secundinarum, Endometritis und Ovarialzysten nachgewiesen werden.

Verschiedene Untersuchungen beschreiben signifikante Zusammenhänge der Rastzeit von Spendertieren bis zur Superovulation und dem Ergebnis der Embryonengewinnung. HAHN und SCHNEIDER (1978) registrierten bei

Superovulationen bis 90 Tage post partum bessere Reaktionen als bei Stimulierungen, die später als 90 Tage post partum stattfanden. DARROW et al. (1982) konnten bei Kühen bis zum 135. Laktationstag eine höhere durchschnittliche Anzahl transfertauglicher Embryonen gewinnen, als bei Tieren, die zu einem späteren Zeitpunkt zur Embryonengewinnung herangezogen wurden. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch HAUPT (1979), TROPFMANN (2000) und WICHMANN (1990). Andere Autoren fanden dagegen keinen Zusammenhang zwischen dem Abstand zur letzten Abkalbung und der Embryonengewinnung (BUSSE 1995; HASLER et al. 1983; HUPKA 2000). In den eigenen Untersuchungen war das Intervall zwischen Partus und Spültermin bei Spendern mit hohem Anteil tauglicher Embryonen (Gruppe A: 127,0 Tage) signifikant ($p < 0,05$) kleiner als bei Tieren mit schlechteren Spülergebnissen (Gruppe B: 185,5 Tage). Vor allem Tiere mit mehr als 200 Tagen seit dem letzten Kalb waren überwiegend in der Gruppe B zu finden. Mögliche Ursachen für diesen Zusammenhang sind ein verzögerter Wiederbeginn der Fortpflanzungstätigkeit und klinisch nicht diagnostizierte Fruchtbarkeitsstörungen später stimulierter Kühe. Tiere die erst relativ spät zur Embryonengewinnung genutzt werden haben häufig eine Reihe erfolgloser Besamungen hinter sich. Andere werden aufgrund unklarer palpatorischer Ovarbefunde oder wegen unregelmäßiger Zyklusdauer bei den Voruntersuchungen zunächst abgelehnt.

5.4 Einfluss des Betriebes

CAMP (1989) sieht den Betrieb als die Summe vieler Umweltfaktoren. Zahlreiche Autoren sprechen dem multifaktoriellen Oberbegriff „Betrieb“ einen ausschlaggebenden Einfluss auf den Erfolg eines Embryotransfer-Programms zu (HAHN 1992; HANSELMANN 1995; HUPKA 2000; NEUMANN et al. 1994; PREISINGER et al. 1990). In der vorliegenden Arbeit wurden die ET-Betriebe zunächst anhand der Herdengröße, Haltungsbedingungen, Körperkondition der Herden, Herdengesundheit und der ET-Erfahrung der Betriebsleiter verglichen.

Die von CAMP (1989) in größeren Milchviehherden gefundene Verschlechterung der Embryotransferergebnisse führt der Autor auf eine reduzierte Betreuung des Einzeltiers, sowohl bei den Spendern, als auch auf Empfängerseite zurück. Nach HANSELMANN (1995) wird dies durch ein spezielles Interesse der Tierhalter an den wertvollen Zuchttieren kompensiert. Auch im Hinblick auf die Stressbelastung der

Spenderkühe wird der Faktor Herdengröße in ET-Betrieben diskutiert. DOBSON et al. (2001) postulieren, dass eine instabile Rangordnung in zu großen Herden sich als Stressor negativ auf den Spülerfolg auswirken kann. Vor allem rangniedere Tiere produzieren, vermutlich bedingt durch vermehrt stattfindende Rangordnungskonflikte, weniger verwendungsfähige Embryonen (GLATZEL et al. 1999).

Die eigenen Ergebnisse zeigten keine Unterschiede der Herdengrößen zwischen ET-Betrieben mit guten und schlechten Spülerfolgen. Weder in der durchschnittlichen Milchkuh-Zahl (49,5 in Gruppe A gegenüber 52,9 in Gruppe B) noch in der durchschnittlichen Gesamtzahl der am Betrieb gehaltenen Rinder (112,3 in Gruppe A gegenüber 128,6 in Gruppe B) war ein statistischer Unterschied zu erkennen. Dabei muss berücksichtigt werden, dass nicht die Viehzahl alleine über die Betreuungsdichte des Einzeltieres entscheidet. Vor allem die in kleineren Betrieben übliche Form der Bewirtschaftung im Nebenerwerb und die nicht erfasste Arbeitsbelastung durch zusätzliche Betriebszweige wie beispielsweise Ackerbau oder Schweinehaltung in gemischt wirtschaftenden landwirtschaftlichen Betrieben können die Intensität der Herdenbetreuung stark beeinflussen. Weiterhin sind die Herdengrößen hinsichtlich der Stressbelastung und der Betreuungsmöglichkeiten des Einzeltieres in verschiedenen Haltungssystemen nur begrenzt vergleichbar.

Die Haltungsbedingungen einer Spenderkuh sind im besonderen Maße durch das verwendete Stallsystem beeinflusst. Dabei ergeben sich für Laufstall und Anbindehaltung verschiedene Vor- und Nachteile hinsichtlich der Betreuungs- und Beobachtungsmöglichkeiten, der Bewegungsfreiheit der Tiere, des Liegekomforts, der hygienischen Verhältnisse, der Fütterung, und des Stallklimas. Allgemein überwiegen im Bezug auf die Fruchtbarkeitsleistung einer Milchkuh die Vorzüge eines Laufstalles. Hier kommt vor allem die erhöhte Bewegungsmöglichkeit zum tragen, die sich positiv auf die Tiergesundheit auswirkt und zudem die Brunstbeobachtung vereinfacht (BOSTEDT et al. 1985; LOTTHAMMER 1999; THAMLING 1980). In den eigenen Untersuchungen wurde die Mehrzahl der Spendertiere in Laufställen gehalten. Der Anteil von Laufställen gegenüber der Anbindehaltung lag in der Gruppe A (gute Embryonenausbeute) mit 76,7 % statistisch nicht signifikant über dem entsprechenden Anteil in der Gruppe B (55,0 %). Auch HANSELMANN (1995) findet zwischen den Aufstallungssystemen Laufstall und Anbindehaltung keine signifikanten Unterschiede in der Embryonenausbeute. Es

ist anzunehmen, dass der Vorteil einer besseren Brunsterkennung im Laufstall durch die intensivere Beobachtung der züchterisch wertvollen Spendertiere und die terminorientierte Besamung nach der Superovulation geringere Bedeutung hat.

Einen signifikant positiven Einfluss der Haltungsform sah HANSELMANN (1995) bei Spendern mit Weidegang. Hier konnten im Mittel 2,2 transfertaugliche Embryonen mehr gewonnen werden als bei reiner Stallhaltung. Hierüber kann mit den eigenen Ergebnissen aufgrund zu geringer Fallzahlen von Spendertieren mit Weidegang (n = 3) oder Auslaufflächen (n = 3) keine Aussage getroffen werden.

Mit der quantitativen Erfassung der Körperkondition durch das BCS (Body Condition Scoring) nach EDMONSON et al. (1989) kann die Leistungsgerechtigkeit der Fütterung in Abhängigkeit vom Laktationsstadium schnell und zuverlässig auf Herdenebene erfasst werden (MANSFELD et al. 2000). Der Körperkonditionsindex wird im Wesentlichen durch die Ausbildung des Körperfettgewebes geprägt. Da Fett den Hauptenergiespeicher des Körpers darstellt, geben Veränderungen des BC-Score direkte Hinweise auf eine unausgeglichene Energiebilanz (JONES u. GARNSWORTHY 1989). Ein zu hohes Maß an Mobilisation oder Deposition von Körperfett innerhalb einer Laktation führt neben Milchleistungseinbußen zu Stoffwechselstörungen (vor allem Ketose) und Fruchtbarkeitsproblemen wie beispielsweise Ovarialzysten oder Anöstrie (STAUFENBIEL et al. 1991).

Da für Kühe der Rasse Fleckvieh bislang noch keine wissenschaftlich gesicherten Richtwerte für eine anzustrebende Körperkondition vorliegen, wurden die für Holstein-Tiere angegebenen Richtwerte in der vorliegenden Untersuchung bei Fleckviehkühen um 0,5 Punkte erhöht (MANSFELD et al. 2000). In den beurteilten Herden waren große Abweichungen der Konditionsnoten von den in der Literatur angegebenen Idealbereichen zu finden. So lag der Anteil zufrieden stellend konditionierter Tiere bei durchschnittlich nur 43,9 % (Gruppe A), bzw. 41,2 % (Gruppe B). Wegen des geringen Unterschiedes zwischen den beiden Versuchsgruppen ($p > 0,05$) scheidet die Leistungsgerechtigkeit der Fütterung als Ursache für die guten bzw. schlechten Spülergebnisse aus.

Bei der Auswertung der Ergebnisse zur Herdengesundheit im Jahr vor der Embryonengewinnung ist zu berücksichtigen, dass es sich dabei um subjektive Aussagen der Betriebsleiter handelt. Eine objektive Analyse auftretender

Bestandsprobleme bedarf einer längerfristigen Datenaufnahme im Rahmen einer Integrierten Tierärztlichen Bestandsbetreuung (ITB). Nur einer der untersuchten Betriebe nahm diesen tierärztlichen Service regelmäßig in Anspruch. Die im Rahmen einer tierärztlichen Bestandsbetreuung anfallenden Daten über den Verlauf des Puerperiums und der postpartalen Phase, die auftretenden Genitalerkrankungen sowie die Stoffwechselsituation der Herde gelten als wertvolle Entscheidungshilfen für die Spenderselektion (MÖHRLE 1999). Von den Betrieben mit schlechten Spülgewässern (Gruppe B) berichteten 35,0 % über gehäufte Fruchtbarkeitsstörungen wie Nachgeburtsverhaltungen, Endometritiden und Vestibulovaginitiden. In der Gruppe A waren dies nur 16,7 % der Betriebe, wobei dieser Unterschied nicht signifikant war. Aus eigener Sicht ist daher im Fall von Fruchtbarkeitsproblemen in einem ET-Betrieb die Abklärung möglicher Ursachen vor der Durchführung einer Superovulation zu empfehlen, da die Fertilität auch klinisch unauffälliger Spendertiere beeinträchtigt sein kann. So lieferten klinisch gesunde Spender mit histologisch und bakteriologisch nachweisbarer Endometritis bzw. Tiere mit inapparenten BVD/MD-Infektionen signifikant weniger taugliche Embryonen (KAFI et al. 1994; MÜLLER 1988). Von Herdenproblemen in Bezug auf Euter-, Stoffwechsel- oder Gliedmaßengesundheit wurde in den eigenen Untersuchungen seltener berichtet (Gruppe A: 13,3 %; Gruppe B: 15,0 %). Grundsätzlich ist bei der Voruntersuchung potentieller Spendertiere neben der gynäkologischen Untersuchung auch auf Erkrankungen des Euters, auf schmerzhaftes Klauenerkrankungen und auf Stoffwechselstörungen zu achten, da die gesamte Manipulation des Embryotransfers eine zusätzliche Belastung für das Tier darstellt (BREM 1999; NIEMANN u. MEINECKE 1993).

Üblicherweise finden Superovulation, Besamung und Spülung des Spenders beim kommerziellen ET auf dem Herkunftsbetrieb des Tieres statt. Damit wird der Tierbesitzer intensiv in das ET-Programm mit einbezogen. So ist die Brunstbeobachtung eine wesentliche Informationshilfe für den Startzeitpunkt der Superovulation. Weiterhin ist trotz einer eingehenden tierärztlichen Voruntersuchung der vom Tierbesitzer gegebene Vorbericht über den Gesundheitsstatus und das Zyklusgeschehen des Spenders seit der letzten Abkalbung von entscheidender Bedeutung für die Entscheidung zur Superovulation (GÖRLACH 1997; HAHN et al. 1980). Die Hormon-Behandlung selbst und die Organisation der Besamung wird in

den meisten ET-Programmen ebenfalls vom Betriebsleiter durchgeführt. So kann die Erfahrung des Tierbesitzers mit früheren ET-Programmen das Spülergebnis beeinflussen. Für die durchschnittliche Zahl der im Betrieb durchgeführten Spülungen ergab sich jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (Gruppe A: 9,1 Spülungen pro Betrieb, Gruppe B: 7,0 Spülungen pro Betrieb). Aus arzneimittelrechtlichen Gründen wurden die Superovulationen während des Versuchszeitraumes nur von Stationstierärzten durchgeführt. Dies kann dazu beigetragen haben, dass der Faktor „ET-Erfahrung des Betriebsleiters“ keinen Einfluss auf die Spülergebnisse hatte.

5.5 Herdenfruchtbarkeit in ET-Betrieben

GÖRLACH (1997) hält klinisch gesunde Kühe mit unauffälligem Vorbericht, die aus fruchtbaren Herden mit gutem Management stammen, für besonders geeignete Spender. Ein konkreter Vergleich zwischen der Herdenfruchtbarkeitslage und dem ET-Erfolg der jeweiligen Betriebe liegt bislang nur von HAHN et al. (1980) vor. Dabei hatten Spendertiere aus Herden mit einer Non-return-Rate über 50 % eine höhere Embryonen- und Eizellausbeute und einen höheren Anteil transfertauglicher Embryonen als Donoren aus Betrieben mit schlechteren Besamungsergebnissen. Grundsätzlich sollten wegen der komplexen Zusammenhänge innerhalb des Reproduktionsgeschehens einer Herde immer mehrere Fruchtbarkeitsindizes gleichzeitig betrachtet werden (KÜPFER 1991; METZNER u. MANSFELD 1992). In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb ET-Betriebe anhand verschiedener retrospektiver und prospektiver Fruchtbarkeitskennzahlen, die verschiedene Zeitabschnitte und Teilbereiche der Herdenfruchtbarkeit beschreiben, miteinander verglichen.

Vor allem in größeren Milchvieherden ist eine intensive Brunstbeobachtung Voraussetzung für gute Besamungsergebnisse und geringe Gäst- und Zwischenkalbezeiten (DE KRUIF et al. 1998). Im Rahmen von Embryotransferprogrammen erleichtert eine genaue Kenntnis des Zyklusstandes durch sorgfältige Brunstbeobachtung dem ET-Tierarzt die Entscheidung, eine Superovulation einzuleiten (BREM 1999). In den eigenen Untersuchungen wurde die Intensität der Brunstbeobachtung in den ET-Betrieben anhand verschiedener Indizes verglichen. Dabei ergab sich für die durchschnittliche 24-Tage-Brunsterkennungsrate

der Betriebe mit guten Spülergebnissen (Gruppe A: 68,0 %) und schlechten Spülergebnissen (Gruppe B: 67,4 %) statistisch kein Unterschied ($p > 0,05$). Auffällig war, dass nur 26,0 % ($n = 13$) der 50 untersuchten Betriebe den in der Literatur zu findenden Referenzwert für eine ausreichende Brunsterkennungsrate von ≥ 80 % (DE KRUIF et al. 1998) erreichten, was für eine unzureichende Brunstbeobachtung in vielen ET-Betrieben spricht. Zu beachten ist, dass die Brunsterkennungsrate nur eine Aussage über die Sensitivität, nicht jedoch über die Spezifität der Brunstbeobachtung trifft (FETROW et al. 1990). Da die Landwirte ihren Spendertieren in der Regel ohnehin eine besondere Aufmerksamkeit widmen, ist für den Erfolg einer Superovulation vermutlich mehr die Fähigkeit der richtigen Interpretation äußerer Brunstsymptome von Bedeutung als der allgemeine Zeitaufwand für Brunstbeobachtung in der Herde.

Für die Beurteilung der Brunsterkennung und –nutzung bei Tieren nach der ersten Besamung wurde die Differenz aus Verzögerungszeit und Untergrenze 1.Belegung-1.Trächtigkeitstag berechnet. Unter Annahme einer festen Zykluslänge von 21 Tagen verlängert sich die Verzögerungszeit bei ungenutzten Brunsten durch mangelnde Brunstbeobachtung oder bei Tieren in gynäkologischer Behandlung, die Untergrenze 1.Belegung-1.Trächtigkeitstag bleibt jedoch konstant (METZNER u. MANSFELD 1992). Die Anzahl der auf diese Weise berechneten Verlusttage war in Gruppe A geringer als in Gruppe B (13,4 gegenüber 18,0 Tage), die Differenz war jedoch nicht signifikant ($p > 0,05$). Insgesamt war zwischen ET-Betrieben mit unterschiedlichen Embryonenausbeuten sowohl für die Brunstbeobachtung vor der Erstbesamung als auch für die Brunsterkennung und –nutzung bei Nachbesamung kein belegbarer Unterschied zu sehen. Ein möglicher Grund ist die züchterische und ökonomische Sonderstellung der Spenderkühe, wodurch eventuelle Mängel der Brunstbeobachtung in der Herde bei diesen Einzeltieren nicht zum Tragen kommen.

Die Zwischenkalbezeit ist eine der am häufigsten angewandten Kennzahlen, da sie als Intervall zwischen 2 aufeinander folgenden Abkalbungen einfach zu berechnen und für die ökonomische Bewertung einer Herde gut geeignet ist. Der Sollwert für die mittlere Zwischenkalbezeit einer Herde liegt bei 385 Tagen (DE KRUIF et al. 1998). Die Zwischenkalbezeit wird vor allem zur Beurteilung des Fruchtbarkeitsgeschehens in längeren Zeiträumen, wie in der vorliegenden Studie von einem Jahr genutzt, da

nur reproduktionsbiologische Abläufe von vor mehr als 9 Monaten erfasst werden. Weiterhin ist eine zeitliche Eingrenzung auftretender Störungen der Herdenfertilität nicht möglich (METZNER u. MANSFELD 1992). Diese Einschränkungen erklären vermutlich den fehlenden Zusammenhang zwischen der durchschnittlichen Zwischenkalbezeit in den Versuchsgruppen und den Spülergebnissen (Gruppe A: 389,9 Tage, Gruppe B: 394,4 Tage, $p > 0,05$). Auch in Herden mit sehr hoher durchschnittlicher Zwischenkalbezeit von bis zu 441,0 Tagen waren Spender mit guter Embryonenausbeute zu finden.

Eine aktuellere Aussage zur Herdenfruchtbarkeit kann mit Hilfe der erwarteten Zwischenkalbezeit getroffen werden, da diese Kennzahl Kühe bereits ab der positiven Trächtigkeitsuntersuchung berücksichtigt. Allerdings werden akute Fertilitätsprobleme anhand der erwarteten Zwischenkalbezeit ebenfalls, abhängig vom Zeitpunkt der Trächtigkeitsuntersuchungen, zeitlich deutlich verzögert sichtbar. Auch hier war aber kein Unterschied zwischen den Versuchsgruppen zu erkennen.

Die mittlere Rastzeit dient zur Bewertung des Besamungsbeginns in einer Herde. Dieser ist vor allem durch die Managemententscheidung des Landwirtes beeinflusst, indem er eine freiwillige Wartezeit festlegt. Weiterhin führt eine mangelhafte Brunstbeobachtung zu verlängerten Rastzeiten. Erst sekundär wird die Rastzeit von den Tieren selbst beeinflusst, wenn der Besamungsbeginn durch puerperale und postpuerperale Störungen wie vor allem Endometritiden oder Ovarzysten verzögert wird (METZNER u. MANSFELD 1992). Der Optimalbereich für die anzustrebende Rastzeit einer Herde liegt, abhängig von der Milchleistung, zwischen 60 und 100 Tagen (JAHNKE 2002). Bei Besamungen zwischen dem 40. und 60. Tag post partum sind schlechtere Besamungsergebnisse zu erwarten, da auch nach zeitlichem Ablauf des Puerperiums mit unvollständig abgeschlossenen Regenerationsvorgängen am Uterus sowie hohen Stoffwechselbelastungen gerechnet werden muss. Verlängerte Rastzeiten führen vor allem bei Tieren mit geringer Milchleistung zu ökonomischen Einbußen (LOTTHAMMER 1999). In den eigenen Untersuchungen waren die durchschnittlichen Rastzeiten der Betriebe mit guter und schlechter Embryonenausbeute nur minimal verschieden ($p > 0,05$). Sie lagen bei 73,2 Tagen (Gruppe A) bzw. 70,5 Tagen (Gruppe B). Da die Spendertiere von der Entscheidung des Betriebsleiters über den Besamungsbeginn

ausgenommen sind, ist vermutlich kein Zusammenhang zwischen der Rastzeit der Herde und der Embryonenausbeute zu erkennen.

Die Verzögerungszeit ist der Zeitraum zwischen der Erstbelegung und dem ersten Trächtigkeitstag innerhalb einer Laktation. Aus ökonomischen Gründen sollte die durchschnittliche Verzögerungszeit einer Herde so gering wie möglich sein. Die in den ET-Betrieben ermittelten Verzögerungszeiten liegen mit durchschnittlich 30,7 (Gruppe A) bzw. 37,4 (Gruppe B) Tagen weit über dem anzustrebenden Referenzwert von maximal 18 Tagen (DE KRUIF et al. 1998). Dies kann eine Folge der schon beschriebenen schlechten Brunsterkennung in den Betrieben sein. Weiterhin führen ein herabgesetzter Besamungserfolg und vermehrter embryonaler Fruchttod zu einem Zeitverlust bis zum ersten Trächtigkeitstag (GRUNERT u. BERCHTOLD 1999). Über diese Faktoren lässt sich eventuell auch die längere durchschnittliche Verzögerungszeit in der Versuchsgruppe mit niedrigem Anteil tauglicher Embryonen erklären, wobei die Differenz zu den Betrieben mit guter Embryonenausbeute statistisch nicht zu belegen war ($p > 0,05$).

Die Effizienz der Besamungen in den ET-Betrieben wurde anhand der Erstbesamungserfolge und der Trächtigkeitsindizes bewertet. Durchschnittlich hatten Betriebe mit geringer Embryonenausbeute schlechtere Besamungserfolge als Betriebe mit gutem Spülerfolg, wobei die Differenzen statistisch nicht signifikant waren ($p > 0,05$). Die durchschnittlichen Erstbesamungsergebnisse lagen bei 46,5 % (Gruppe A) bzw. 42,7 % (Gruppe B). Der durchschnittliche Trächtigkeitsindex lag in Gruppe A bei 1,8, der entsprechende Wert in Gruppe B bei 1,9. Die Ergebnisse stehen im Einklang mit Untersuchungen von HAHN et al. (1980), die in Herden mit Non-return-Raten über 50 % einen höheren Anteil an transfertauglichen Embryonen gewinnen konnten, als in Herden mit Non-return-Raten unter 50 %. Die Mehrheit der ET-Betriebe beider Versuchsgruppen lag unter den in der Literatur zu findenden Optimalwerten für den Besamungserfolg (Erstbesamungserfolg ≥ 55 %; Trächtigkeitsindex $\leq 1,6$). Wichtige Ursachen schlechter Besamungserfolge sind unter Anderem Mängel in der Brunsterkennung, ein falscher Besamungszeitpunkt, mangelhafte Besamungstechnik, Fütterungsmängel oder schlechte Haltungsbedingungen (DE KRUIF et al. 1998). Im Rahmen dieser Untersuchungen

kommen vor allem die suboptimale Brunstbeobachtung sowie der hohe Anteil über- und unterkonditionierter Kühe in den ET-Betrieben als Ursachen in Betracht.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Trächtigkeitsraten (TR) in 21-Tage-Intervallen auf Basis der zur Besamung vorgesehenen Kühe berechnet (MANSFELD 2003). Die errechneten Werte sind dadurch von der Brunstnutzungsrate und dem Besamungserfolg im jeweiligen Zeitabschnitt abhängig (HEUWIESER et al. 2002). Die Werte der ersten berechneten Trächtigkeitsrate (6. bis 3. Woche vor dem jeweiligen Spültermin) lagen in den Versuchsgruppen eng zusammen (Gruppe A: 15,8 % gegenüber 16,8 % in Gruppe B). Die Ergebnisse in den Zeiträumen 3 Wochen vor und nach dem Spültermin lagen in Herden der Gruppe A durchschnittlich um jeweils 4 % über den Trächtigkeitsraten in Gruppe B, wobei die Differenz statistisch nicht abzusichern war ($p > 0,05$). Für Betriebe der Gruppe A (gute Embryonenausbeute) zeigte sich eine kontinuierliche Steigerung der durchschnittlichen Trächtigkeitsraten über die 3 ausgewerteten Zeiträume hinweg (TR 1: 15,8 %, TR 2: 17,8 %, TR 3: 22,6 %). In Gruppe B lagen die Trächtigkeitsraten bei 16,8 % (TR 1), 13,4 % (TR 2) und 18,2 % (TR 3). Die Ergebnisse können Ausdruck einer, im Rahmen der Spender- und Empfängerenauswahl, intensivierten Brunstbeobachtung sein. Steigende Besamungserfolge in Verbindung mit guter Embryonenausbeute sind eventuell auf günstige Umwelteinflüsse zurückzuführen, die im Zeitraum um die Embryonengewinnung herum auf die Herde und gleichzeitig das Spendertier einwirkten. Als kurzfristig veränderliche Faktoren mit Einfluss auf die Fertilität kommen vor allem das Klima, die Fütterung und der Infektionsdruck durch genitalpathogene Erreger in Betracht (LOTTHAMMER 1999).

Zur Beurteilung der Herdenfruchtbarkeit ist die Erfassung der Abgangsrate wegen Unfruchtbarkeit wichtig, da sich viele der Fruchtbarkeitsindizes (z. B. Verzögerungszeit, Trächtigkeitsindex) nur auf trächtige Tiere beziehen (DE KRUIF et al. 1998). In den Versuchsgruppen lagen die durchschnittlichen Abgangsraten bei 7,5 % (Gruppe A) und 8,4 % (Gruppe B). Der nur geringfügig größere Wert ($p > 0,05$) in Herden von Spendertieren mit schlechter Embryonenausbeute lässt keinen Zusammenhang der Abgangsraten wegen Unfruchtbarkeit mit den Spülerngebnissen erkennen. Der Anteil an Tieren die mit mehr als 2 erfolglosen Besamungen gemerzt

werden sollte maximal bei 7 % liegen (DE KRUIF et al. 1998). Von den untersuchten ET-Betrieben lagen 56 % (n = 28) über diesem Wert, was für eine herabgesetzte Fruchtbarkeitslage in der Mehrzahl der Herden spricht.

Für die Abortraten im Jahr vor dem Embryotransfer ergab sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen. Herden aus Gruppe B hatten mit durchschnittlich 4,7 % Aborten etwas mehr als Betriebe der Gruppe A mit 4,1 %. Auffällig war, dass unter der Annahme einer akzeptablen Abortrate von 8 % (DE KRUIF et al. 1998) 5 Herden aus Gruppe B (25 %), dagegen nur 3 Betriebe aus Gruppe A (10 %) ein Problem mit vermehrt auftretenden Aborten hatten ($p > 0,05$). Eine Abortrate bis zu 6 % gilt in der Rinderzucht als unvermeidbar. Als Ursachen gehäufte Fehlgeburten kommen neben nichtinfektiösen Ursachen wie Chromosomendefekte, Intoxikationen, Traumata, Zwillingsträchtigkeit oder iatrogene Abortauslösung vor allem Erreger wie BHV- 1 (Bovines Herpesvirus 1), BVD-Virus (Bovine Virus Diarrhoe), Leptospiren, Salmonellen, Listerien, Chlamydien, Coxiella burnetii, Mykoplasmen, Neospora caninum oder Pilze (v.a. Aspergillus- und Mucorarten) als Abortauslöser in Frage (GRUNERT u. BERCHTOLD 1999). Da auch das Spendertier, eventuell klinisch unauffällig, von negativen Umwelteinflüssen in seiner reproduktiven Leistungsfähigkeit beeinträchtigt werden kann, ist bei gehäuftem Auftreten von Aborten eine genaue Abklärung der Ursachen vor einer Superovulationseinleitung zu empfehlen. So konnte beispielsweise für subklinische Infektionen mit BVD-Virus zum Zeitpunkt der Besamung superovulierter Rinder ein negativer Einfluss auf die Anzahl gewonnener Embryonen gefunden werden (KAFI et al. 1994; KAFI et al. 1996).

5.6 Einfluss von Chlamydien auf die Embryonenausbeute

Mit Hilfe serologischer und molekularer Nachweismethoden sollte die Bedeutung von Chlamydien im Rahmen der Embryonengewinnung beim Rind ermittelt werden. Verschiedene Studien weisen auf die Bedeutung genitaler Chlamydien-Infektionen, in neueren Untersuchungen vor allem *Chlamydophila abortus*, im Zusammenhang mit Fruchtbarkeitsstörungen weiblicher Rinder hin (DE GRAVES et al. 2004; SIMMERT 1999; STING 1997; WEHREND et al. 2000). Über Zusammenhänge zwischen dem Infektionsstatus von ET-Spendertieren und der Embryonenausbeute gibt es bislang keine Untersuchungen.

In der vorliegenden Arbeit wurden bei 22 der 50 untersuchten Spender (44 %) Antikörper gegen Chlamydien nachgewiesen. Vergleichbare serologische Untersuchungen klinisch gesunder Milchkühe mittels ELISA- Technik zeigen ebenfalls eine hohe Seropraevalenz von Chlamydien- Antikörpern. Abd El-Rahim (2002) konnte bei 19,6 % (n = 240) der zufällig aus 20 verschiedenen norddeutschen Beständen untersuchten Kühe Chlamydien-Antikörper nachweisen. Bei epidemiologischen Untersuchungen in Sachsen-Anhalt reagierten 45 % (n = 180) der Rinderseren positiv im ELISA (PETER et al. 2002). In neueren Untersuchungen, die mit Hilfe von rekombinanten MOMP- Antigenen speziesspezifische Chlamydien-Antikörper nachwies, konnte bei allen untersuchten, klinisch gesunden Färsen (n = 51) Antikörper detektiert werden (DEGRAVES et al. 2003). In den eigenen Untersuchungen wurden mittels ELISA-Technik Antikörper gegen das, für die Gattungen *Chlamydia* und *Chlamydophila* spezifische, LPS-Antigen nachgewiesen. Es bestand dabei kein Unterschied zwischen dem Anteil seropositiver Spendertiere in den Versuchsgruppen mit schlechter bzw. guter Embryonenausbeute. Da mit dem ELISA im Gegensatz zur KBR sowohl IgG1- als auch IgG2-Antikörper detektiert werden, lässt der einmalige Nachweis keine Rückschlüsse auf das Infektionsstadium zu. Ein positiver Befund kann Ausdruck einer klinisch manifesten Infektion 2 bis 4 Wochen post infectionem sein, oder auch für eine klinisch inapparente Infektion sprechen (SCHMEER 1988). Epidemiologische Vergleichsstudien von KBR und ELISA in Rinderbeständen Sachsens-Anhalts zeigen einen deutlich höheren Anteil ELISA-Reagenten, was für ein Überwiegen klinisch inapparenter Infektionen spricht, bei denen die IgG2-Antikörper dominieren (PETER et al. 2002). Da alle Spenderkühe während des jeweiligen ET-Programmes klinisch gesund waren und zuvor mindestens 2 ungestörte Zyklen zeigten, sind die Ergebnisse der untersuchten Tiere vermutlich als Ausdruck subklinischer Infektionen zu werten. Die Interpretation serologisch positiver Resultate hinsichtlich der Fruchtbarkeit bei den ET-Tieren wird zudem von den immunologischen Kreuzreaktionen zwischen den einzelnen Chlamydienpezies kompliziert. Vor allem klinisch inapparente Infektionen mit *Chlamydophila pecorum* erschweren eine serologische Diagnose genitalpathogener *Chlamydophila abortus* (HÖLZLE et al. 2002). In Ergänzung zu den serologischen Untersuchungen wurde deshalb der direkte Erregernachweis aus der Spülflüssigkeit der Spender mittels Real- Time- PCR geführt.

Die Interpretation der Ergebnisse der PCR-Untersuchungen wird durch die noch fehlende Standardisierung dieser Methode erschwert. Gegenüber der als Standard geltenden, aber weniger sensitiven Zellkulturanzucht fehlt eine ausreichende Validierung (SACHSE u. GROßMANN 2002). In einer vergleichenden Untersuchung von PCR mit dem Antigen-ELISA stellten sich die meisten Antigen-Nachweise bei Rindern in der PCR als falsch-positiv heraus (PETER et al. 2002), was einen Vergleich der eigenen Ergebnisse mit den Resultaten von Erregernachweisen auf Basis des ELISA erschwert. In den eigenen Untersuchungen gelang der spezifische Nachweis von *Chlamydomphila abortus* aus dem Uterus bei 38 % der Spender (n = 19). DE GRAVES et al. (2003) konnten bei klinisch gesunden Färsen mit Hilfe einer quantitativen omp1-PCR in vaginalen Tupfern bei 22 % der untersuchten Tiere Chlamydien-DNA nachweisen. Mit der 23S rRNA als Zielsequenz waren 51 % der getesteten Tiere (n = 51) positiv. Der Anteil der Tiere mit nachweisbarer Chlamydia psittaci-Infektion lag insgesamt bei 24 %. Die Autoren führen die hohe Erregerprävalenz im Genitale nicht belegter Färsen auf eine schon bei Kälbern auftretende extragenitale Infektion zurück. Ältere Untersuchungen von Feldproben zeigten, dass klinisch inapparente Chlamydien-Infektionen bei Rindern regelmäßig anzutreffen sind, und vor allem die Ausscheidung über den Kot eine wichtige Infektionsquelle darstellt (WITTENBRINK et al. 1987; WITTENBRINK et al. 1988; WITTENBRINK et al. 1993a).

In der Gruppe der guten Spenderkühe war bei 43,3 % der Tiere *Chlamydomphila abortus* nachzuweisen, gegenüber 30 % in der Gruppe mit schlechter Embryonenausbeute. Dieser Befund kann eventuell mit der Pathogenese einer genitalen Chlamydien-Infektion erklärt werden. WITTENBRINK et al. (1993a) konnten bei Rindern durch experimentelle Infektion akute Endometritiden auslösen, die anschließend in ein chronisches, subklinisches Stadium übergingen. Nach den im Anschluss vorgenommenen Besamungen zeigten die Tiere verlängerte Brunstintervalle. Die Autoren interpretierten dies als eine embryonale Mortalität aufgrund der histologisch nachweisbaren, atypisch regenerierten Uterusschleimhaut. De GRAVES et al. (2004) verzeichneten nach experimenteller Reinfektion seropositiver Rinder keine klinischen Symptome, stellten aber ebenfalls verlängerte Brunstzyklen nach der Besamung fest. Auch BOWEN et al. (1978b) sahen nach subklinischer Chlamydien-Infektion der Uterusschleimhaut Probleme für die

Implantation der Embryonen. Die Befruchtung scheint demnach durch eine Chlamydien-Infektion nicht beeinflusst zu werden. Möglicherweise haben chronische, entzündungsbedingte Veränderungen des Uterus zum Zeitpunkt der Embryonengewinnung noch keine negativen Auswirkungen auf die morphologische Qualität der Embryonen, da diese erst am Tag 3 bis 4 in den Uterus gelangen, und bereits an Tag 7 post inseminationem ausgespült werden (NIEMANN u. MEINECKE 1993). Daraus ergibt sich für weitere Untersuchungen zum Einen die Frage in wie fern die weitere Entwicklungskompetenz der Embryonen aus Chlamydien-infizierten Spendern beeinträchtigt ist, zum Anderen wären Untersuchungen des Infektionsstatus von Empfängertieren interessant.

In der vorliegenden Arbeit waren keine Zusammenhänge zwischen Erregernachweis und Serologie in der Chlamydien-Diagnostik zu erkennen. So waren bei 22 % (n = 11) der untersuchten Tiere trotz nachgewiesenem Erreger im Genitale keine Antikörper zu detektieren. Die Ursache hierfür könnte in der überwiegend zellulären und nicht humoralen Immunantwort auf eine Infektion mit den sich intrazellulär vermehrenden Chlamydien liegen (ROTHERMEL et al. 1989). Bei 28 % (n = 11) der Spender konnten Chlamydien-Antikörper im ELISA nachgewiesen werden, der Erregernachweis aus dem Uterus verlief jedoch negativ. Der Grund hierfür ist möglicherweise eine intermittierende Erregerausscheidung (STORZ et al. 1968). Auch DE GRAVES et al. (2003) konnten bei seropositiven Rindern nicht regelmäßig Chlamydien-DNA in den Vaginaltupfern nachweisen.

5.7 Abschlussbetrachtung

Für die Ovarreaktionen (Zahl der Gelbkörper, Zahl persistierender Follikel am Tag der Embryogewinnung) der 50 untersuchten superovulierten Spendertiere mit guter bzw. schlechter Embryonenausbeute konnten statistisch keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen nachgewiesen werden. Der unterschiedliche Anteil transfertauglicher Embryonen in den beiden Versuchsgruppen kam überwiegend durch eine abweichende Anzahl unbefruchteter Eizellen pro Spülung zustande. Der Einfluss tierspezifischer Faktoren auf die Embryonenausbeute wurde durch eine einheitliche Vorauswahl der Spenderkühe anhand Rasse, Parität und Zyklusstand weitgehend minimiert. Auch für das Alter und den klinischen Vorbericht der Tiere ergaben sich keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Lediglich die

längere durchschnittliche Rastzeit der Spender mit geringem Anteil tauglicher Embryonen gab Hinweise auf mögliche Störungen der Fertilität dieser Tiere. Es erscheint daher sinnvoll, Kühe mit einer verzögerten biologischen Rastzeit oder mehreren erfolglosen Besamungen vor der Aufnahme in ein ET-Programm sorgfältig zu untersuchen.

Bei dem Vergleich der Herkunftsbetriebe der Spenderkühe war anhand der Kriterien Herdengröße, Haltungsbedingungen und Körperkondition der Kühe, Herdengesundheit und ET-Erfahrung eine enorme Heterogenität des Untersuchungsmaterials festzustellen, eindeutige Einflüsse auf die reproduktive Leistungsfähigkeit der Donorkühe waren jedoch nicht zu erkennen. Die errechneten Herdenfruchtbarkeitskennzahlen Erstbesamungserfolg, Verzögerungszeit und Abgangsrate wegen Unfruchtbarkeit zeigten ein suboptimales Niveau des Fertilitätsstatus, wobei dies nicht in Beziehung mit der Fruchtbarkeit der Spendertiere im ET stand.

Nach den eigenen Untersuchungen sind Infektionen mit Chlamydien unter Spendertieren weit verbreitet. Eine Erklärung schlechter Spülerfolge konnte durch den direkten bzw. indirekten Erregernachweis jedoch nicht festgestellt werden. Vermutlich hat selbst eine genitale *Chlamydomphila abortus*-Infektion zum Zeitpunkt der Uterusspülung noch keine negativen Auswirkungen auf die Embryonenqualität.

Die Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass die zur Embryonengewinnung ausgewählten Tiere eine Sonderstellung innerhalb des Fruchtbarkeitsgeschehens ihrer Herden einnehmen. Zum Einen kann man von einer gesteigerten Betreuungsintensität seitens der Tierhalter, vor allem hinsichtlich Brunstbeobachtung, Fütterung und Gesundheitsüberwachung der Donoren, ausgehen. Zum Anderen stehen die Spenderkühe vor und während des ET-Programmes unter ständiger tierärztlicher Kontrolle. Dennoch ist vor allem bei einer akuten Verschlechterung der Herdenfertilität eine eingehende Aufklärung möglicher Ursachen zu empfehlen, da die Spendertiere auch subklinisch von negativen Umweltfaktoren belastet sein können.

6. Zusammenfassung

Ziel dieser Untersuchungen war es festzustellen, ob die Haltungsumwelt und die allgemeine Fruchtbarkeitslage im Betrieb Einfluss auf die Embryonenausbeute von Spenderkühen haben. Weiterhin sollte die Bedeutung subklinischer Infektionen der Donorkühe mit Chlamydien für das Spülergebnis ermittelt werden. Dazu wurden von Juni 2003 bis Februar 2004 insgesamt 50 Milchviehbetriebe Nordbayerns untersucht, die eine Embryonengewinnung durchführen ließen. Berücksichtigt wurden nur laktierende Spenderkühe der Rasse Fleckvieh die, gemessen anhand des Anteils transfertauglicher Embryonen an der Gesamtausbeute von Embryonen und Eizellen, gute (> 66 %) bzw. schlechte (< 33 %) Spülergebnisse zeigten.

Alle Spender waren zu Beginn der Behandlung klinisch und gynäkologisch unauffällig, befanden sich zwischen dem 7. und 13. Zyklustag und hatten ein deutlich zu palpierendes Corpus luteum. Die Superovulation wurde mit dem FSH-Präparat Pluset® (Fa. Calier, Spanien) durchgeführt. Am Tag der Embryonengewinnung wurde die Ovarreaktion sonographisch überprüft, wobei als minimale Superovulationsantwort 5 darstellbare Corpora lutea gefordert waren.

In der Gruppe mit guten Spülergebnissen (Gruppe A, n = 30) wurden im Mittel 20,1 Embryonen bzw. Eizellen gewonnen. Der Anteil transfertauglicher Embryonen betrug durchschnittlich 84,6 %. Die durchschnittlichen Ergebnisse in Gruppe B (n = 20) waren mit 14,4 Embryonen/Eizellen und 16,7 % tauglichen Embryonen pro Spülung signifikant schlechter als in Gruppe A ($p < 0,05$).

Bei der sonographischen Untersuchung am Tag der Embryonengewinnung konnten in Gruppe A durchschnittlich 17,5 Gelbkörper, in Gruppe B 15,8 Gelbkörper diagnostiziert werden ($p > 0,05$). Die Gesamtzahl der sonographisch diagnostizierten persistierenden Follikel lag bei Spendertieren mit guter Embryonenausbeute (Gruppe A) bei durchschnittlich 1,2. Spender mit schlechtem Spülergebnis (Gruppe B) hatten im Mittel 1,9 persistierende Follikel, wobei die Differenz zwischen den Gruppen nicht signifikant war ($p > 0,05$). Tendenziell hatten Kühe der Gruppe B (50 %) häufiger Follikel mit mehr als 20 mm Durchmesser als Tiere der Gruppe A (26,7 %).

Für den Anteil der Spendertiere mit Schweregeburten sowie für die Inzidenz puerperaler und postpuerperaler Erkrankungen konnte zwischen den Versuchsgruppen kein Unterschied festgestellt werden. Kühe mit einem geringen Anteil transfertauglicher Embryonen hatten jedoch durchschnittlich eine signifikant längere Rastzeit bis zur Embryonengewinnung (Gruppe B: 185,5 Tage) als Spender mit guter Embryonenausbeute (Gruppe A: 127,0 Tage; $p < 0,05$).

Bei einem Vergleich der Herkunftsbetriebe der Spenderkühe war für die Parameter Bestandsgröße, Stallsystem, Körperkondition und Gesundheitsstatus der Herden kein Zusammenhang zur Embryonenausbeute zu erkennen. Für die Beurteilung der Herdenfruchtbarkeit wurden folgende Kennzahlen berechnet: Brunsterkennungsrate, Differenz zwischen Verzögerungszeit und Untergrenze 1.Belegung-1.Trächtigkeitstag, Zwischenkalbezeit, erwartete Zwischenkalbezeit, Rastzeit, Verzögerungszeit, Erstbesamungserfolg, Trächtigkeitsindex, Trächtigkeitsrate, Abgangsrate wegen Unfruchtbarkeit und Abortrate. Dabei ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen.

Mit Hilfe eines ELISA konnten bei 22 der 50 untersuchten Spender (44 %) Antikörper gegen Chlamydien diagnostiziert werden. Mittels PCR gelang der spezifische Nachweis von *Chlamydomphila abortus*-DNA aus dem Uterus bei 38 % der Spender ($n = 19$). Ein Einfluss direkt oder indirekt nachgewiesener Chlamydien auf die Embryonenausbeute wurde nicht festgestellt.

Der unterschiedliche Spülerfolg in den Versuchsgruppen der vorliegenden Studie war durch Parameter des Betriebs- und Fruchtbarkeitsmanagements nicht hinreichend zu erklären. Die Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass Spendertiere im ET eine Sonderstellung in der Herde einnehmen, da ihnen seitens der Tierhalter und der ET-Fachkräfte eine verstärkte Betreuungsintensität zu Teil wird. Dennoch ist bei einer akuten Verschlechterung der Herdenfertilität eine Aufklärung möglicher Ursachen zu empfehlen, da die Spendertiere auch subklinisch von negativen Umweltfaktoren belastet sein können.

7. Summary

Extrinsic factors associated with the variation in the embryo yield of embryo transfer donor cows

The aim of this study was to evaluate the influence of herd health, fertility and management conditions on the embryo yield of embryo transfer donor cows. Furthermore the impact of subclinical Chlamydia-infection on the results of embryo recovery were investigated. A total of 50 dairy farms in northern Bavaria were included in this study. Between June 2003 and February 2004 a total of 50 lactating Simmenthal cows with a high (> 66 %; n = 30) or low (< 33 %; n = 20) percentage of transferable embryos were selected during routine on-farm embryo transfer.

At the beginning of the superovulation procedure all donor cows had no clinical or gynecological disorders. Stimulation was started between the 7th and the 13th day of the estrous cycle when a palpable corpus luteum was present. The gonadotrophic hormone used for the stimulation of superovulation was Pluset®. On the day of embryo recovery the ovarian status was checked by ultrasound. Only cows with a minimum of 5 corpora lutea were included in this study.

The average embryo yield in the group of cows with good flushing results (group A, n = 30) was 20.1 embryos or ova and 14.4 in cows with poor results (group B, n = 20; P > 0.05). The percentage of transferable embryos was 84.6 % and 16.7 % in group A and B, respectively (P < 0.05).

An average 17.5 and 15.8 corpora lutea in group A and B, respectively, could be detected by ultrasonography on the day of flushing. The mean number of persisting follicles diagnosed by ultrasonography was 1.2 (group A) and 1.9 in group B (P > 0.05). More cows in group B (50 %) had follicles with a diameter > 20mm than animals in group A (26.7 %).

There was no difference between cows of group A and B in respect to calving problems and the incidence of puerperal and postpueral diseases in the reproductive

period preceding embryo recovery. However the number of days open was significantly higher for cows with a reduced embryonic yield (group B: 185.5 days) than for cows with good flushing results (group A: 127.0 days, $P < 0.05$)

There was no apparent relationship between embryo yield (groups A and B) and the following parameters: herd size, housing system, body condition score and the general health situation of the herd. The following herd fertility parameters were calculated: Estrous detection rate, the number of days from calving to first insemination, the number of days from first insemination to conception, calving interval, prospective calving interval, first service conception rate, the average number of inseminations per pregnancy, cumulative pregnancy rate, the reproductive culling rate, and the percentage of cows with abortion. Neither of these parameters had a significant relationship to the outcome of embryo recovery in terms of transferable embryos.

Antibodies against Chlamydia could be diagnosed with an ELISA-test in 22 of 50 donors (44 %). In 19 cows (38%) Chlamydia abortus-DNA could be detected by PCR in uterine flushings. However there was no significant relationship to the percentage of transferable embryos

The significant difference between groups in the percentage of transferable embryos could not be attributed to any of the parameters describing farm management and herd fertility. This result may be explained by the fact that donor cows for ET are watched more closely by owner, ET-technicians and veterinary surgeons than ordinary herd mates. In case of an acute herd fertility problem, it is advisable to investigate possible reasons for this problem, because donor cows may be affected subclinically from negative factors in their environment.

8. Literaturverzeichnis

- Abd El-Rahim, I. H. A. (2002)
Serumuntersuchungen zur Ermittlung der Verbreitung von Chlamydien-Infektionen beim Rind in Norddeutschland.
Praktischer Tierarzt 83, 268-273
- Ahmad, N., Schrick, F. N., Butcher, R. L., u. Inskeep, E. K. (1994)
Fertilization Rate and Embryo Development in Relation to Persistent Follicles and Peripheral Estradiol- 17 β in Beef Cows.
Biology of Reproduction 50, 65
- Baghian, A. u. Schnorr, K. L. (1992)
Detection and antigenicity of chlamydial proteins that bind eucaryotic cell membrane proteins.
American Journal of Veterinary Research 53 (6), 980-986
- Becker, F., Kanitz, W., u. Hantel, R. (1996)
Untersuchungen zur Superovulation von Dauerdonoren mit unterschiedlichen Gonadotropin- Behandlungsregimen.
Tagung der Arbeitsgemeinschaft Embryotransfer Deutschland (AET-d), Neustadt a.d.Aisch
- Benyei, B., Gaspardy, A., Komlosi, I., u. Pecs, A. (2004)
Repeatability and Heritability of Ovulation Number and Embryos in Dam- daughters Pairs in Superovulated Holstein- Friesian Cows.
Reproduction in Domestic Animals 39, 99-102
- Blanchard, T., Ferguson, J., Love, L., Takeda, T., Henderson, B., Hasler, J., u. Chalupa, W. (1990)
Effect of dietary crude-protein type on fertilization and embryo quality in dairy cattle.
American Journal of Veterinary Research 51, 905-908
- Bogner, K.-H., Dünninger, A., u. Kaleta, E. F. (1997)
Nachweis von Chlamydien bei Psittaziden aus Tupferproben mit verschiedenen Methoden.
AVID- Mitteilungen II Anl. 10,
- Bostedt, H., Kozicki, L. E., Finger, K. H., u. Karg, H. (1985)
Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Haltungsbedingungen auf postpartale Regenerationsvorgänge am Genitaltrakt von Milchkühen unter besonderer Berücksichtigung der Progesteronprofile.
Zuchthygiene 20, 17-33
- Bowen, R. A., Elsdon, R. P., u. Seidel, G. E. (1978a)
Embryo Transfer for Cows with Reproductive Problems.
Journal of the American Veterinary Medical Association 172, 1303-1307

- Bowen, R. A., Spears, P., Storz, J., u. Seidel, G. E. (1978b)
Mechanisms of infertility in genital tract infections due to *Chlamydia psittaci* transmitted through contaminated semen.
The Journal of Infectious Diseases 138, 95-98
- Brem, G. (1999)
Embryotransfer und assoziierte Techniken.
In: Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind, E.GRUNERT und M.BERCHTHOLD,
Paul Parey Verlag, Berlin
- Bungartz, L. u. Niemann, H. (1994)
Assessment of the presence of a dominant follicle and selection of dairy cows suitable for superovulation by a single ultrasound examination.
Journal of Reproduction and Fertility 101, 583-591
- Busse, T. (1995)
Untersuchungen über die Auswirkungen verschiedener Einflüsse auf die Spülergebnisse superovulierter Kühe beim Embryotransfer.
Vet.Med.Diss., FU Berlin
- Camp, H. (1989)
Untersuchung über Einflußfaktoren auf den Embryotransfer beim Rind.
Vet.Med.Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover
- Casida, L. E., Meyer, R. K., Mc Schan, W. H., u. Wisnicky, W. (1943)
Effects of pituitary gonadotropins on the ovaries and the induction of superfecundity in cattle.
American Journal of Veterinary Research 4, 76-94
- Chagas e Silva, Lopes, da Costa, u. Robalo, Silva J. (2002)
Embryo yield and plasma progesterone profiles in superovulated dairy cows and heifers.
Animal Reproduction Science 69, 1-8
- Chan, D. W. u. Perlstein, M. T. (1987)
Immunoassay: A practical Guide.
Academic Press, Inc., San Diego, USA53-67
- Christie, W. B., McGuirk, B. J., Strahie, R. J., u. Mullan, J. S. (1992)
Practical experience with the implementation of a MOET breeding scheme with dairy cattle.
Annales Zootechnica 41, 347-352
- Cox, H. U., Hoyt, P. G., Poston, R. P., Snider, T. G. 3rd, Lemarchand, T. X., u. O'Reilly, K. L. (1998)
Isolation of an avian serovar from a case of bovine abortion.
Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 10, 280-282

- Cox, R. L., Kuo, C.-C., Grayston, J. T., u. Campbell, L. A. (1988)
Deoxyribonucleic acid relatedness of *Chlamydia* sp. strain TWAR to *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia psittaci*.
International Journal of Systematic Bacteriology 38, 265-268
- Darrow, M. D., Lindner, G. M., u. Goemann, G. G. (1982)
Superovulation and fertility in lactating and dry diary cows.
Theriogenology 17, 84
- De Graves, F. J., Gao, D., Hehnen, H.-R., Schlapp, T., u. Kaltenböck, B. (2003)
Quantitative Detection of *Chlamydia psittaci* and *C. pecorum* by High- Sensitivity Real- Time PCR Reveals high Prevalence of Vaginal Infection in Cattle.
J.Clin.Microbiol. 41, 1726-1729
- De Graves, F. J., Kim, T. Y., Jee, J. B., Schlapp, T., Hehnen, H.-R., u. Kaltenböck, B. (2004)
Reinfection with *Chlamydophila abortus* by Uterine and Indirect Cohort Routes reduces Fertility in cattle Preexposed to *Chlamydophila*.
Infection and Immunity 72,5, 2538-2545
- De Kruif, A., Mansfeld, R., u. Hoedemaker, M. (1998)
Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- De Loos, F., Bevers, M., Dieleman, S., u. Kruip, T. A. (1991)
Follicular and Oocyte Maturation in Cows Treated for Superovulation.
Theriogenology 35, 537-546
- DeGraves, F. J., Gao, D., Hehnen, H.-R., Schlapp, T., u. Kaltenböck, B. (2003)
Quantitative Detection of *Chlamydia psittaci* and *C. pecorum* by High- Sensitivity Real- Time PCR Reveals high Prevalence of Vaginal Infection in Cattle.
Journal of Clinical Microbiology 41, 1726-1729
- Desaulniers, D. M., Lussier, J. G., Goff, A. K., Bousquet, D., u. Guilbault, L. A. (1995)
Follicular development and reproductive endocrinology during and after superovulation in heifers and mature cows displaying contrasting superovulatory responses.
Theriogenology 44, 479-497
- Detterer, J. (1991)
Untersuchungen über die Betreuung von Spendertieren im Rahmen von kommerziellen Embryotransferprogrammen in Ostfriesland.
Vet.Med.Diss., Gießen
- Dobson, H. u. Smith, R. F. (2000)
What is stress, and how does it affect reproduction.
Animal Reproduction Science 60, 743-752

Dobson, H., Tebble, J. E., Smith, R. F., u. Ward, W. R. (2001)
Is stress really all that important ?
Theriogenology 55, 65-73

Donaldson, L. E. (1985)
Effect of insemination regimen on embryo production in superovulated cows.
The Veterinary Record 117, 35-37

Downing, J. A. u. Scaramuzzi, R. J. (1997)
The effect of the infusion of insulin during the luteal phase of the oestrus cycle on the ovulation rate and on plasma concentrations of LH,FSH and glucose in ewes.
Theriogenology 47, 747-759

Dunn, T. G. (1980)
Relationship of nutrition to successful embryo transplantation.
Theriogenology 13, 27

Ealy, A., Carlos, F., Bray, D. R., Risco, C. A., u. Hansen, P. J. (1994)
Effectiveness of short-term cooling and vitamin E for alleviation of infertility induced by heat stress in dairy cows.
Journal of Dairy Science 77, 3601-3607

Ealy, A., Drost, M., u. Hansen, P. J. (1993)
Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows.
Journal of Dairy Science 76, 2899-2905

Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D., Farver, T., u. Webster, G. (1989)
A body condition scoring chart for Holstein dairy cows.
Journal of Dairy Science 72, 68-78

Edwards, L. M., Rahe, C. H., Griffin, J. L., Wolfe, D. F., Marple, D. N., Cummins, K. A., u. Pitchett, J. F. (1987)
Effect of transportation stress on ovarian function in superovulated hereford heifers.
Theriogenology 28, 291-299

Everett, K. D. (2000)
Chlamydia and Chlamydiales: more than meets the eye.
Veterinary Microbiology 75, 109-126

Everett, K. D. u. Andersen, A. A. (1999)
Identification of nine species of the Chlamydiaceae using PCR- RFLP.
International Journal of Systematic Bacteriology 49, 803-813

- Everett, K. D., Bush, R. M., u. Andersen, A. A. (1999a)
Emended description of the order Chlamydiales, proposal of parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms.
International Journal of Systematic Bacteriology 49, 415-440
- Everett, K. D., Bush, R. M., u. Andersen, A. A. (2000)
Phylogenetic analyses of five coding genes support the new chlamydial taxonomy. Proceeding of the 4th Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Helsinki (Aug 20-23, 2000), S.5
- Everett, K. D., Hornung, L. J., u. Andersen, A. A. (1999b)
Rapid detection of the *Chlamydiaceae* and other families in the order Chlamydiales: Three PCR tests.
Journal of Clinical Microbiology 37, 575-580
- Fetrow, J., Mc Clary, D., Harman, R., Butcher, K., Weaver, L., Studer, E., Ehrlich, J., Etherington, W., Guterbock, W., Klingborg, D., Reneau, J., u. Williamson, N. (1990)
Calculating selected reproductive indices: recommendations of the American Association of Bovine Practitioners.
Journal of Dairy Science 73, 78-90
- Fiedler, A., Nüske, S., u. Maierl, J. (2000)
Funktionelle Klauenpflege beim Rind.
BLV Verlagsgemeinschaft, München
- Foote, R. H. u. Ellington, J. E. (1988)
Is a Superovulated Oocyte Normal ?
Theriogenology 29, 111-123
- Freytag, A., Lange, H., Gehrmeier, D., u. Jongeling, C. (1995)
Effect of temperature, atmospheric pressure and relative humidity on the response of superovulation in cattle.
11e Réunion A.E.T.E., 8.-9.September, Hannover170
- Fukushi, H. u. Hirai, K. (1992)
Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for Chlamydia strains derived from ruminants.
International Journal of Systematic Bacteriology 42, 306-308
- Galli, C., Duchi, R., Crotti, G., Turini, P., Ponderato, N., Colleoni, S., Lagutina, I., u. Lazzari, G. (2003)
Bovine embryo technologies.
Theriogenology 59, 599-616

- Gerbermann, H. (1991)
Chlamydiose beim Rind und ihre bedeutung im Fruchtbarkeitsgeschehen.
Wiener Tierärztliche Monatsschrift 78, 13-19
- Gerbermann, H. (1997)
Bewertung diagnostischer Methoden im rahmen der Psittakose/Ornithose-
Bekämpfung.
AVID- Mitteilungen II Anlage 8.
- Ginther, O. J., Kastelic, J. P., u. Knopf, L. (1989)
Intraovarian relationships among dominant and subordinate follicles and the corpus
luteum in heifers.
Theriogenology 32, 787-795
- Glatzel, P. S., Busse, T., u. Görlach, A. (1999)
Superovulation und Embryonenausbeute in Embryotransferprogrammen bei
Milchrindern: Auswertung von 727 Uterusspülungen mit 3944 transfertauglichen
Embryonen.
Tierärztliche Praxis 27 (G), 219-222
- Gong, J. G., Armstrong, D. G., Baxter, G., Hogg, C. O., Garnsworthy, P. C., u. Webb,
R. (2002)
The effect of increased dietary intake on superovulatory response to FSH in heifers.
Theriogenology 57, 1591-1602
- Görlach, A. (1997)
Embryotranfer beim Rind.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- Goulding, D., Williams, D. H., Roche, J. F., u. Boland, M. P. (1991)
Superovulation in Heifers Using either Pregnant Mares Serum Gonadotrophin or
Follicle Stimulating Hormone during the Mid Luteal Stage of the Estrous Cycle.
Theriogenology 36, 949-958
- Grandke, R., Herrmann, M., Beuing, R., Wassmuth, R., u. Gehring, W. (1990)
Der Einfluß von ausgewählten Leistungsparametern auf das Spülergebnis von
MOET.
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 97, 346-348
- Greve, T. u. Purwantara, B. (1993)
Ultrasonography in Embryo Transfer Practice.
9e Reunion A.E.T.E., Lyon137-147
- Grunert, E. u. Berchtold, M. (1999)
Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind.
Parey Buchverlag, Berlin

- Gutierrez, C. G., Oldham, J., Bramley, T. A., Gong, J. G., Campbell, B. K., u. Webb, R. (1997)
The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers.
Journal of Animal Science 75, 1876-1884
- Hafner, L., Sreve, S., Stenzel, M., Bönisch, K., u. Staufenbiel, R. (1991)
Beziehungen zwischen dem Energiestoffwechsel und der Donoreneignung.
Monatshefte für Veterinärmedizin 46, 283-288
- Hahn, J. (1978)
Die unblutige Eigewinnung beim Rind unter Berücksichtigung der Vorbereitung der Spendertiere und der Entwicklung der Eizellen in Eileiter und Gebärmutter.
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 85, 420-424
- Hahn, J. (1992)
Attempts to explain and reduce variability of superovulation.
Theriogenology 38, 269-275
- Hahn, J. u. Hahn, R. (1976)
Experiences with ova transfer in cattle.
World Review of Animal Production, Vol XII 4, 51-58
- Hahn, J., Hahn, R., Baumgärtner, G., Lotthammer, K.-H., Lormann, W., Schneider, U., Traub, J., u. Zoder, H. F. (1977)
Untersuchungen zur Verbesserung der Auswahl von Spender- und Empfängertieren im Rahmen der Eiübertragung beim Rind.
Zuchthygiene 12, 68-76
- Hahn, J., Marquardt, O., u. Niemann, H. (1996)
Biotechnologie der Fortpflanzung bei Haustieren.
In: Sill, B.: Bio- und Gentechnologie in der Tierzucht, Ulmer Verlag Stuttgart 9-36
- Hahn, J., Romanowski, W., Roselius, R., u. Schneider, U. (1980)
Embryotransfer beim Rind am Beispiel des Zuchtgebietes Hannover.
Kali-Briefe (Büntehof) 15, 263-276
- Hahn, J. u. Schneider, U. (1978)
Observations on the influence of the donors on egg quality and transfer results.
EEC Seminar, Tours, (Vortragsreferat)
- Hanselmann, D. (1995)
Woran es hakt, wenn die Ergebnisse nicht stimmen.
Was beeinflusst den Erfolg bei der Superovulation?
Der Tierzüchter 47, 28-29

Hansen, P. J., Drost, M., Rivera, R. M., Paula-Lopes, F. F., al Katanani, Y. M., Krininger, C. E., u. Chase, C. C. (2001)
Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation.
Theriogenology 55, 91-103

Hasler, J. F. (2003)
The current status and future of commercial embryo transfer in cattle.
Animal Reproduction Science 79, 245-264

Hasler, J. F., Brooke, G. P., u. Mc Auley, A. (1981)
The Relationship between Age and Response to Superovulation in Holstein Cows.
Theriogenology 15, 109

Hasler, J. F., McCauley, A. D., Schermerhorn, E. C., u. Foote, R. H. (1983)
Superovulation responses in Holstein cows.
Theriogenology 19, 83-99

Haupt, P. (1979)
Untersuchungen über die Abhängigkeit des Superovulationserfolges bei frisch laktierenden Kühen und ihre Fruchtbarkeit nach der Eigewinnung.
Vet.Med.Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover

Hemsworth, P. H., Barnett, J. L., Beveridge, L., u. Matthews, L. R. (1995)
The welfare of extensively managed dairy cattle: a review.
Applied Animal Behaviour Science 42, 161-182

Herring, A. J. (1993)
Typing chlamydia psittaci- areview of methods and recent findings.
British Veterinary Journal 149, 455-475

Heuwieser, W., Drillich, M., u. Tenhagen, B.-A. (2002)
Aktuelle Aspekte zum Fruchtbarkeitsmanagement beim Milchrind.
Internetpublikation: <http://www.212.87.35.103/tipinfo/pdf/bestand/Intervet-G%C3%BCstrow-print1.pdf>

Hölzle, K., Hölzle, L. E, Knitz, C., u. Wittenbrink, M. M. (2002)
Speziesspezifische Serodiagnostik bei Rind und Schwein mit rekombinanten Chlamydia- MOMP als Antigen.
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 109, 450

Hölzle, L. E, Steinhausen, G., u. Wittenbrink, M. M. (2000)
PCR-based detection of chlamydial infection in swine and subsequent PCR-coupled genotyping of chlamydial omp1-gene amplicons by DNA-hybridization, RFLP-analysis, and nucleotide sequence analysis.
Epidemiology and Infection 125, 427-439

- Horsch, F. (1980)
 Epizootiologie, Pathogenese und Infektabwehr bei den Chlamydieninfektionen der Wiederkäuer.
 Wissenschaftliche Zeitschrift der Humboldt-Universität zu Berlin. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Reihe 29, 5-9
- Humblot, P., Negrao, S., u. Nibart, M. (1998)
 Effects of high energy supply and metabolic status on superovulatory response and embryo production in dairy heifers.
 Theriogenology 49, 378
- Hupka, S. (2000)
 Erfolgsbeeinflussende Faktoren im Rahmen der Embryonengewinnung beim kommerziellen ET des Rindes unter besonderer Berücksichtigung verschiedener Superovulationsschemata und Besamungstypen- Eine retrospektive Studie-.
 Vet.Med.Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover
- Hyttel, P., Callesen, H., Greve, T., u. Schmidt, M. (1991)
 Oocyte Maturation and Sperm Transport in Superovulated Cattle.
 Theriogenology 35, 91-107
- Jahnke, B. (2002)
 Sicherung einer guten Fruchtbarkeit in Hochleistungsherden.
 Internetpublikation: http://www.portal-rind.de/portal/data/artikel/39/forschungsbericht_reproduktion_fzt.pdf
- Jaskowski, L. u. Sadowski, J. M. (1980)
 Observations on the bovine genital Chlamydiosis.
 9. Internationaler Kongress über tierische Fortpflanzung und künstliche Besamung, Madrid Bd. 2, 445-452
- Jones, G. P. u. Garnsworthy, P. C. (1989)
 The effects of dietary energy content on the response of dairy cows to body condition at calving.
 Animal Production 49, 183
- Jordan, E. R. u. Swanson, L. V. (1979)
 Serum progesterone and luteinizing hormone in dairy cattle fed varying levels of crude protein.
 Journal of Animal Science 48, 1154-1158
- Kafi, M. u. McGowan, M. R. (1997)
 Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle.
 Animal Reproduction Science 48, 137-157

- Kafi, M., McGowan, M. R., Jillella, D., Davies, F., Johnston, S., u. Kirkland, P. D. (1994)
The effect of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) during follicular development on the superovulatory response in cattle.
Theriogenology 41, 223
- Kafi, M., McGowan, M. R., Jillella, D., Fenwick, D., Johnston, S., u. Kirkland, P. D. (1996)
The effect of bovine Pestivirus on on ovulation in superovulated fresian heifers.
Theriogenology 45, 317
- Kaltenböck, G., Schmeer, N., u. Schneider, R. (1997)
Evidence for numerous *omp1* alleles of porcine *Chlamydia trachomatis* and novel chlamydial species obtained by PCR.
Journal of Clinical Microbiology 35, 1835-1841
- Kane, M. T., Morgan, P. M., u. Coonan, C. (1997)
Peptide growth factors and preinplantation development.
Human Reproduction Update 3, 137-157
- Kanitz, W., Becker, F., Schneider, F., Kanitz, E., Leiding, C., u. Pohland, R. (2002)
Superovulation in cattle: practical aspects of gonadotropin treatment and insemination.
Reproduction Nutrition Development 42, 587-599
- Katska, L. u. Smorag, Z. (1984)
Number and quality of oocytes in relation to age of cattle.
Animal Reproduction Science 7, 451
- Kelly, P., Duffy, P., Roche, J. F., u. Boland, M. P. (1997)
Superovulation in cattle: effect of FSH type and method of administration on follicular growth, ovulatory response and endocrine patterns.
Animal Reproduction Science 46, 1-14
- Kommisrud E., Vatn, T., Pedersen M., Olsaker I., u. Farstad W. (2002)
In vivo production of bovine embryos using two different feeding regimes differing in urea content.
18e Reunion A.E.T.E., Rolduc, 194
- Küpfer, U. (1991)
Erfahrungen mit einem Fruchtbarkeitsdienst beim Rind.
Wiener Tierärztliche Monatsschrift 78, 26-32
- Laffler, T. G., Carrino, J. J., u. Marshall, R. L. (1993)
The ligase chain reaction in DNA-based diagnosis.
Annales de Biologie Clinique (Paris) 51, 821-826

- Leiding, C. (2001)
Embryotransfer- vom Verbraucherschutzminister nicht gewollt?
Zuchtwahl und Besamung 146, 32-34
- Lerner, S. P., Thayne, W. V., Baker, R. D., Henschen, T., Meredith, S., Inskeep, E. K., Dailey, R. A., Lewis, P. E., u. Butcher, R. L. (1986)
Age, dose of FSH and other factors affecting superovulation in Holstein cows.
Journal of Animal Science 63, 176-183
- Lotthammer, K.-H. (1999)
Umweltbedingte Fruchtbarkeitsstörungen.
In: Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind, E.GRUNERT und M.BERCHTHOLD,
Paul Parey Verlag, Berlin
- Mackey, D. R., Sreenan, J. M., Roche, J. F., u. Diskin, M. G. (1997)
The effect of acute changes in energy intake on follicle wave turnover in beef heifers.
Irish Journal of Agriculture Food Research 36, 95-96
- Manciaux, L., Ponsart, C., Grisouard, D., u. Humblot, P. (2000)
Sources of Variation in Embryo Production Following Superovulation in the
Montbelliard Breed.
Theriogenology 53, 502
- Mansfeld, R. (2003)
Beurteilung der Bestandssituation - Aktuelles zum Umgang mit
Fruchtbarkeitskennzahlen.
BPT-Kongress 2003, Kongressbericht,27-31
- Mansfeld, R., Heuwieser, W., Metzner, M., u. Schäfers, M. (2000)
Die fortlaufende Konditionsbeurteilung: Unverzichtbarer Bestandteil der
Fütterungsüberwachung beim Milchvieh.
Michpraxis 38, 180-184
- Mantovani, R., Enright, W. J., Keane, M. G., Roche, J. F., u. Boland, M. P. (1993)
Effect of nutrition and dose of follicle stimulating hormone (FSH) on superovulatory
response in beef heifers.
9e Reunion A.E.T.E., Lyon234
- McEvoy, T. G., Robinson, J. J., Aitken, R. P., Findlay, P. A., Palmer, R. M., u.
Robertson, I. S. (1995)
Dietary induced suppression of pre-ovulatory progesteron concentrations in
superovulated ewes impairs the subsequent in vivo and invitro development of their
ova.
Animal Reproduction Science 39, 89-107

- Mengel, T. (1988)
 Untersuchungen zur Auswahl von Spendertieren für den Embryotransfer unter Berücksichtigung des Vorberichtes und verschiedener Blutparameter.
 Vet.Med.Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover
- Metzner, M., Heuwieser, W., u. Klee, W. (1993)
 Die Beurteilung der Körperkondition (body conditioning scoring) im Herdenmanagement.
 Der praktische Tierarzt 11, 991-998
- Metzner, M. u. Mansfeld, R. (1992)
 Tierärztliche Betreuung von Milcherzeugerbetrieben.
 Der praktische Tierarzt 9, 802-814
- Möhrle, E. (1999)
 Untersuchungen zur Auswahl geeigneter Spendertiere für den Embryotransfer im Rahmen der Fruchtbarkeitsbetreuung auf Herdenbasis.
 Vet.Med.Diss., LMU München
- Müller, C. (1988)
 Untersuchungen zur feststellung der Eignung von Spenderkühen für den Embryotransfer.
 Vet.Med.Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover
- Müller, R. (1989)
 Untersuchungen von Einflussfaktoren auf die Embryonenqualität und Versuche zur chromosomalen Geschlechtsbestimmung an Rinderembryonen.
 Vet.Med.Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover
- Murphy, M. G., Enright, W. J., Crowe, M. A., McConnell, K., Spicer, L. J., Boland, M. P., u. Roche, J. F. (1991)
 Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle in beef heifers.
 Journal of Reproduction and Fertility 92, 333-338
- Neumann, C., Rehbock, F., Schönmuth, G., u. Neumann, K. (1994)
 Einflußfaktoren auf das Ergebnis des Embryotransfer beim Rind.
 Archiv für Tierzucht 37, 339-347
- Nibart, M., Marquant le Guienne, Humblot, P., u. Guerin, B. (1997)
 The application of new reproductive technologies in France.
 Arquivos da Faculdade de Veterinária, UFRGS Porto Alegre 25, 21-35 (Supl.)
- Niemann, H. (1986)
 Möglichkeiten und Grenzen des Embryotransfers bei landwirtschaftlichen Nutztieren.
 Tierärztliche Umschau 41, 625-633

- Niemann, H. u. Meinecke, B. (1993)
Embryotransfer und assoziierte Biotechniken bei landwirtschaftlichen Nutztieren.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- Nohner, H. P. (1986)
Versuche zur Tiefgefrierkonservierung von Rinderembryonen unter besonderer
Berücksichtigung verschiedener Ausverdünnungsverfahren.
Vet.Med.Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover
- Nolan, R., O`Callaghan, D., Duby, R. T., Lonergan, P., u. Boland, M. P. (1998)
The influence of short-term nutritive changes on follicle growth and embryo
production following superovulation in beef heifers.
Theriogenology 50, 1263-1274
- O`Callaghan, D. u. Boland, M. P. (1999)
Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of
pregnancy in ruminants.
Animal Science 68, 299-314
- Perez-Martinez, J. A. u. Storz, J. (1985)
Chlamydial infections in cattle-part 2.
Modern Veterinary Practice 66, 603-608
- Peter, W., Gaede, W., u. Borgwardt, J. (2002)
Chlamydiennachweis beim Rind; Aussagefähigkeit verschiedener Labormethoden.
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 109, 448-449
- Pollard, D. R., Tyler, S. D., Ng, C. W., u. Rozee, K. R. (1989)
A polymerase chain reaction (PCR) protocol for the specific detection of *Chlamydia*
spp.
Molecular and Cellular Probes 3, 383-389
- Pospischil, A., Thoma, R., Von Bomhard, W., Reitt, K., Cantieni, J., Zimmermann, D.,
u. Polkinghorne, A. (2002)
Abort beim Rind durch *Chlamydia psittaci*.
Schweizer Archiv für Tierheilkunde 144, 467-472
- Preisinger, R., Wichmann, U., Hahn, J., u. Kalm, E. (1990)
Superovulation: Kann man die Ergebnisse verbessern?
Der Tierzüchter 42, 534-535
- Purwantara, B., Callesen, H., u. Greve, T. (1994)
Characteristics of Ovulations in Superovulated Cattle.
Animal Reproduction Science 37, 1-5

- Putney, D. J., Drost, M., u. Thatcher, W. W. (1989)
Influence of summer heat stress on pregnancy rates of lactating dairy cattle following embryo transfer or artificial insemination.
Theriogenology 31, 765-778
- Rayan, D. P., Spoon, R. A., Griffith, M. K., u. Williams, G. L. (1994)
Ovarian follicular recruitment , granulosa cell steroidogenic potential and growth hormone / insulin-like growth factor-I relationship in suckler beef cows consuming high lipid diets: effect of graded differences in body condition maintained during the puerperium.
Domestic Animal Endocrinology 11, 161-174
- Reinders, J. M. C., Vinke, J., Markvoort, G. W. F., u. Oldeniel, J. H. M. (1994)
The efficiency of the MOET program on a donor station.
9e Reunion A.E.T.E., Lyon
- Robertson, L., Cattoni, J. C., Shand, R. I., u. Jeffcoate, I. A. (1993)
A Critical Evaluation of Ultrasonic Monitoring of Superovulation in Cattle.
British Veterinary Journal 149, 477-483
- Rolle, M. u. Mayr, A. (2002)
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 7. Auflage,
- Rommel, P. u. Rehbock, F. (1990)
Vergleichende Untersuchungen zur Superovulation bei Hochleistungskühen.
Archiv für experimentelle Veterinärmedizin 44, 117-125
- Rothermel, C. D., Schachter, J., Lavrich, P., Lipsitz, E. C., u. Francus, T. (1989)
Chlamydia trachomatis induced production of interleukin 1 by human monocytes.
Infection and Immunity 57, 2705-2711
- Roullier, P., Guilbault, L. A., Lussier, J. G., u. Matton, P. (1996)
Changes in morphological appearance and functional capacity of recruited follicles in cows treated with FSH in the presence or absence of dominant follicle.
Theriogenology 46, 1053-1061
- Rowson, L. E. A., Lawson, R. A. S., Moor, R. M., u. Baker, A. A. (1972)
Egg transfer in the cow: Synchronisation requirements.
Journal of Reproduction and Fertility 28, 427-431
- Rurangirwa, F. R., Dilbeck, P. M., Crawford, T. B., McGuire, T. C., u. McElwain, T. C. (1999)
Analysis of the 16S rRNA gene of micro-organism WSU 86-1044 from an aborted bovine foetus reveals that it is a member of the order Chlamydiales: proposal of Waddlia fam. nov., waddlia chondrophila gen. nov., sp. nov.
International Journal of Systematic Bacteriology 49, 577-581

- Sachse, K. u. Gallien, P. (2000)
Molekularbiologische Nachweismethoden ausgewählter Zoonoseerreger.
bgvv-Hefte 02/2000, 29-42
- Sachse, K. u. Großmann, E. (2002)
Chlamydienerkrankungen der Nutz- und Haustiere - Zoonotisches Potential der Erreger und diagnostische Fragen.
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 109(4), 142-148
- Schiefer, H.-G. u. Krauss, H. (1982)
Zellbiologie der Chlamydien.
Laboratory Medicine 51, 51-53
- Schilling, E., Sacher, B., u. Schmidt, D. (1980)
Qualität von Eiern und Embryonen superovulierter Kühe.
Zuchthygiene 15, 30-34
- Schmeer, N. (1988)
Vergleichende Untersuchungen zur IgG1- und IgG2- Immunantwort des Rindes auf die obligat intrazellulären Infektionserreger *Coxiella burnetii* und *Chlamydia psittaci*: Ein Beitrag zur differenzierten Serodiagnose des bovinen Q- Fiebers und der bovinen Chlamydiose.
Vet.Med.Habil.-schr., Gießen
- Schmidt, D. (1970)
Meteorologische Einflüsse auf die Fortpflanzung bei Haustieren.
Der Tierzüchter 22, 188-190
- Schwab, J. (2000)
Der Einsatz von Ultraschall zur Untersuchung von Spenderkühen im Embryotransfer.
Vet.Med.Diss., LMU München
- Seidel, G. E. u. Seidel, S. M. (1991)
Training manual for embryo transfer in cattle.
FAO Animal production and health paper 77,
- Siddiqui, M. A., Shamsuddin, M., Bhuiyan, M. M., Akbar, M. A., u. Kamaruddin, K. M. (2002)
Effect of feeding and body condition score on multiple ovulation and embryo production in zebu cows.
Reproduction in Domestic Animals 37, 37-41
- Simmert, J. (1999)
Vorkommen von mikrobiell bedingten Fortpflanzungsstörungen bei Rindern im nördlichen Baden- Württemberg unter besonderer Berücksichtigung von *Coxiella burnetii* und Bakterien der Gattung *Chlamydia*.
Vet.Med.Diss., LMU München

- Souriau, A. u. Rodolakis, A. (1986)
Rapid detection of *Chlamydia psittaci* in vaginal swabs of aborted ewes and goats by Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA).
Veterinary Microbiology 11, 251-259
- Spitschak, M., Kanitz, W., u. Becker, F. (1995)
Einfluß des wachstumsverhaltens des größten Follikels auf die Ergebnisse der Superovulationsbehandlung.
Tagung der Arbeitsgemeinschaft Embryotransfer Deutschland (AET-d), Kleve
- Sreenan, J. M. (1975)
Successful non-surgical transfer of fertilised cow eggs.
The Veterinary Record 96, 490-491
- Staufenbiel, R., Staufenbiel, B., Lachmann, I., u. Klukas, H. (1991)
Fettstoffwechsel und Fruchtbarkeit bei der Milchkuh.
Der praktische Tierarzt, collegium veterinarium XXII18-25
- Sting, R. (1997)
Chlamydia-psittaci-Infektionen bei Kühen und weiblichen Schafen im nördlichen Baden-Württemberg.
Tierärztliche Umschau 52, 332-339
- Storz, J. u. Kaltenböck, G. (1993)
The *Chlamydiales*. In: WOLDEHIWET, Z., RISTIC, M.: Rickettsial and Chlamydial Diseases of Domestic Animals.
Pergamon Press, Oxford, S.32
- Storz, J. u. Krauss, H. (1985)
Chlamydia. In: BLOBEL, H. u. SCHLIESSER, T.: Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, Bd. V.
Verlag Gustav Fischer, Stuttgart 447-514
- Storz, J., Marriott, M. E., u. Thornley, W. R. (1968)
The dynamics of the blood infectious phase in psittacosis- induced abortions in animals.
The Journal of Infectious Diseases 118, 333-339
- Thamling, C. H. (1980)
Anbinde- und Laufstallhaltung - Abgangsgründe und Rassenunterschiede.
Tierärztliche Umschau 35, 790
- Thibier, M. (2002)
A contrasted Year for the world activity of the animal embryo transfer industry.
I.E.T.S. Newsletter 2002 20 (4), 13-19
- Thibier, M. (2003)
More than half a million bovine embryos transferred in 2002.
I.E.T.S. Newsletter 2003 21 (4), 12-19

- Tischer, M. (2003)
Chlamydieninfektionen in Rinderbeständen.
Michpraxis 4, 168-171
- Tjissen, P. (1985)
Practice and Theory of Enzyme Immunoassays. In: Burdon,R.H.; Van
Knippenberg,P.H.
Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, Elsevier Publishing,
Amsterdam 15, 385-421
- Troppmann, T. A. (2000)
Vergleich zwischen der Embryogewinnung an mehrfach superovulierten
Dauerspenderkühen und der Embryoerzeugung durch in vitro Produktion nach
transvaginaler Follikelpunktion.
Vet.Med.Diss., LMU München
- Tyczka, J. u. Jäger, C. (2002)
Molekulare Typisierung von 76 Chlamydoiphila- Isolaten vom Wiederkäuer mittels
PCR-RFLP.
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 109 (10), 449
- Uhe, C. u. Hehnen, H.-R. (2002)
Klinische Erprobung einer Chlamydienvakzine bei Milchkühen.
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 109, 455-456
- Umbaugh, R. E. (1949)
Superovulation and ovum transfer in cattle.
American Journal of Veterinary Research 10, 295-305
- Voeklel, S. A. u. Hu, Y. X. (1992)
Direct transfer of frozen- thawed bovine embryos.
Theriogenology 37, 23-37
- Voller, A. u. Bidwell, D. (1986)
Enzyme-linked immunosorbent assay.
in: ROSE, N.R., FRIEDMAN, H.,FAHEY, J.L.: Manual of Clinical Laboratory
Immunology, 3.Aufl., Amer.Soc.Microbiolol.99-109
- Wehrend, A., Bleul, U., Jäger, C., u. Bostedt, H. (2000)
Zur Häufigkeit von *Chlamydia-psittaci*-Infektionen bei Rindern in Betrieben mit
Fruchtbarkeitsstörungen: Ergebnisse einer Feldstudie.
Tierärztliche Praxis 28 (G), 80-83
- Wichmann, U. (1990)
Erhebungen über umweltbedingte und genetische Einflüsse auf die Eignung von
Spenderkühen im Rahmen des Embryotransfers.
Vet.Med.Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover

- Wiley, H., Bowen, M., Massey, J., Amoss, M., Blake, R., u. Kraemer, D. (1982)
The Effect of FSH on Sperm Transport in Cattle.
Theriogenology 17, 113
- Willet, E. L., Black, W. G., Casida, L. E., Stone, W. H., u. Buckner, P. J. (1951)
Successful transplantation of a fertilized bovine ovum.
Science 113, 247
- Wilmot, I. u. Rowson, L. E. A. (1973)
Experiments on the low-temperature preservation of cow embryos.
The Veterinary Record 92, 686-690
- Wittenbrink, M. M. (1991)
Nachweis von Antikörpern gegen Chlamydien beim Schwein mit Hilfe eines
Immunofluoreszenz- und eines Enzymimmunitests.
Berlin Münchner Tierärztliche Wochenschrift 104, 270-275
- Wittenbrink, M. M. (2003)
Chlamydieninfektionen als Ursache von Fruchtbarkeitsstörungen beim Rind:
Aktueller Stand.
21. Bayerischer Tierärztetag, München
- Wittenbrink, M. M. u. Bisping, W. (1987)
Bakteriologische Diagnostik des Enzootischen Abortes der Schafe durch Anzüchtung
des Erregers (*Chlamydia psittaci*) in der Zellkultur.
Tierärztliche Umschau 42, 124-133
- Wittenbrink, M. M., Bisping, W., Mrozek, M., u. Horchler, H. (1993a)
Die intestinale *Chlamydia psittaci*-Infektion des Rindes: Häufigkeit sowie technische
Aspekte des kulturellen Erregernachweises.
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 100, 195-198
- Wittenbrink, M. M., Horchler, H., u. Bisping, W. (1988)
The occurrence of *Chlamydia psittaci* in the genital tract and feces of slaughtered
female cattle.
Journal of Veterinary Medicine 35, 237-246
- Wittenbrink, M. M., Kirpal, G., Thiele, D., Fischer, D., Krauss, H., u. Bisping, W.
(1994)
Detection of *Chlamydia psittaci* in vaginal discharge of cows: a necessary
enlargement of bacteriologic diagnosis for the etiologic clarification of fertility
disorders in the female cow.
Journal of Veterinary Medicine 41, 492-503
- Wittenbrink, M. M., Peter, U., u. Bisping, W. (1987)
Untersuchung zum Vorkommen latenter Darminfektionen mit *Chlamydia psittaci* bei
Rindern.
Berlin Münchner Tierärztliche Wochenschrift 100, 377-381

Wittenbrink, M. M., Schoon, H. A., Schoon, D., Mansfeld, R., u. Bisping, W. (1993b)
Endometritis in cattle experimentally induced by *Chlamydia psittaci*.
Journal of Veterinary Medicine 40, 437-450

Wrenzycki, C., Herrmann D., Niemann, H., u. Boland, M. P. (1998)
Einfluß der Fütterung auf die mRNA-Expression verschiedener Gene bei in vivo
gewonnenen Rinderembryonen.
Tagung der Arbeitsgemeinschaft Embryotransfer Deutschland (AET-d)

Younas, M., Fuquay, J. W., Smith, A. E., u. Moore, A. B. (1993)
Estrous and endocrine responses of lactating holsteins to forced ventilation during
summer.
Journal of Dairy Science 76, 430-436

Zehle, H.-H., Körber, R., Gaede, W., u. Peter, U. (2002)
Einsatz einer kommerziellen Vakzine in Rinderbeständen mit
Chlamydienproblematik.
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 109, 456