

Untersuchungen zur Eignung des FASTest® RELAXIN-Tests für den Trächtignachweis beim Hund

J. Schöne¹, Almuth Einspanier², Angela Kern³, Anne-Rose Günzel-Apel¹

Aus dem ¹Institut für Reproduktionsmedizin (geschäftsführende Direktorin: Prof. A.-R. Günzel-Apel) der Tierärztlichen Hochschule Hannover, dem ²Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut (Leiter: Prof. Dr. H. Fuhrmann) der Veterinärmedizinischen Fakultät Universität Leipzig und der ³MegaCor Diagnostik GmbH, Hörbranz, Österreich

Schlüsselwörter:

Hund-Relaxin - Trächtignachweis - Trächtignachstörungen

Key words:

Dog - Relaxin - Pregnancy diagnosis - Pregnancy disorder

Zusammenfassung:

Gegenstand/Problemstellung: In der vorliegenden Studie wurde ein neuer, kommerziell erhältlicher Test (FASTest® RELAXIN-Test, Fa. MegaCor) zur semiquantitativen Relaxinbestimmung im Blut auf seine Eignung für den Trächtignachweis beim Hund untersucht. Darüber hinaus wurde die Stabilität der Relaxinmoleküle in Serumproben überprüft, die 24 und 48 Stunden bei Raumtemperatur (15-25 °C) sowie für mindestens 10 Tage tiefgefroren (-20 °C) gelagert wurden. **Material und Methoden:** Die Ergebnisse des FASTest® RELAXIN-Tests von 33 tragenden und acht nicht tragenden Hündinnen unterschiedlicher Rassen wurden mit sonographischen Befunden und quantitativen Relaxinwerten verglichen. **Ergebnisse:** Für den FASTest® RELAXIN-Test ergab sich eine Sensitivität von 97,83% und eine Spezifität von 100% (Tag 22 bis 57 post ovulationem). Bei den sonographisch für tragend befundenen Hündinnen (inkl. sieben Fälle mit vereinzelt Fruchtresorptionsen, ein Sonderfall mit zahlreichen Fruchtresorptionsen sowie ein Sonderfall mit Resorption aller Früchte) wurden mithilfe eines quantitativen Relaxinassays Relaxinkonzentrationen von 0,34 bis 12,6 ng/ml (Median 1,27 ng/ml) gemessen. Bei den sonographisch für nicht tragend befundenen Hündinnen lagen die Relaxinkonzentrationen zwischen 0,09 und 0,38 ng/ml (Median 0,25 ng/ml). **Schlussfolgerung:** Der FASTest® RELAXIN-Test wird als zuverlässiges Verfahren zum Nachweis oder Ausschluss einer Trächtigkeit beurteilt. Aufgrund der Ergebnisse der Stabilitätsprüfung wird empfohlen, die Relaxinanalyse möglichst schnell, d. h. innerhalb weniger Stunden nach der Serumgewinnung durchzuführen, um einen Zerfall der Relaxinmoleküle durch die Lagerung zwischen 15 und 25 °C zu vermeiden. Kann dies nicht gewährleistet werden, wird zur Prävention des Relaxinabbaus das sofortige Einfrieren und die Aufbewahrung bei -20 °C empfohlen. **Klinische Relevanz:** Die Ergebnisse zeigen, dass Relaxin ein eindeutiger Marker für eine bestehende Gravidität ist, allerdings erhält man keine Informationen über Anzahl und Vitalität der Früchte sowie eventuelle Störungen der Trächtigkeit. Der semiquantitative Nachweis von Relaxin mittels FASTest® RELAXIN-Test kann daher die sonographische Untersuchung, insbesondere bei vorberichtlich sub- oder infertilen Hündinnen, nicht ersetzen.

Summary:

Suitability testing of the FASTest® RELAXIN-Test for pregnancy diagnosis in the dog.

Objective: The present study was designed to examine a new commercial in-clinic-rapid test (FASTest® RELAXIN ad us. vet, Co. MegaCor) for semiquantitative detection of relaxin in the blood concerning its suitability for pregnancy diagnosis in the dog. Furthermore the stability of relaxin molecules was tested in serum samples incubated (stored) for 24 and 48 hours at room temperature (15-25 °C) and at least for 10 days at -20 °C. **Material and methods:** The test results of the FASTest® RELAXIN-Test were compared with ultrasound findings as well as quantitative relaxin values in 33 pregnant and eight non-pregnant bitches of different breeds. **Results:** For the FASTest® RELAXIN-Test a sensitivity of 97.83% and a specificity of 100% were determined (day 22 to 57 post ovulationem). In the pregnant bitches (determined by sonographic findings, incl. seven cases of sporadic embryonic resorptions, one special case with numerous embryonic resorptions and another special case with complete embryonic resorptions) relaxin concentrations determined by a quantitative relaxin assay ranged from 0.34 to 12.6 ng/ml (Median 1.27 ng/ml). In the non-pregnant bitches (determined by sonographic findings) absolute relaxin concentrations ranged from 0.09 to 0.38 ng/ml (Median 0.25 ng/ml). **Conclusion:** The rapid test FASTest® RELAXIN is judged to be a reliable method for determination or exclusion of canine pregnancy. Due to the results of the stability testing it is recommended to proceed the analysis of relaxin as soon as possible, meaning within a few hours after collection of the serum sample at room temperature, in order to prevent a decay of relaxin molecules caused by the storage at room temperature (15-25 °C). If this cannot be guaranteed, storage of samples is recommended at -20 °C. **Clinical relevance:** The results point out that relaxin is a unique marker for an existing gravidity but gives no information about number and vitality of fetuses or on possible pregnancy disorders. Semiquantitative detection of relaxin by means of the FASTest® RELAXIN-Test cannot replace ultrasound examination especially in due to their medical history as sub- or infertile characterized bitches.

Einleitung

Das Polypeptidhormon Relaxin stellt ein wichtiges Hormon für die Gravidität dar (12-14). Es ist involviert in die Proliferation des Endometriums, die Implantation und die Umbauprozesse am Uterus, alles notwendige Voraussetzungen für eine erfolgreiche Gravidität. Zum Ende der Trächtigkeit bewirkt Relaxin die Auflockerung der Zervix und der Beckensymphyse sowie die Erschlaffung der Beckenbänder (11,12). Seine Bedeutung als Graviditätsmarker wird auch durch seinen Syntheseort deutlich, der sich beim Hund (*Canis lupus f. familiaris*) hauptsächlich in der Plazenta findet. Diese plazentare Synthese wird den Synzytiotrophoblasten zugeschrieben (10, 12,16-17).

Nach neuesten Erkenntnissen findet die Implantation der Embryonen beim Hund etwa am Tag 22/23 nach dem LH-Peak statt (4). Dies entspricht Tag 20/21 nach der Ovulation. Synchron zu den darauf folgenden Ab- und Umbauvorgängen am Endometrium (Entwicklung der Placenta endotheliochorialis) werden der Beginn des messbaren Relaxinanstiegs in der dritten oder vierten Woche, maximale Werte in der sechsten bis achten Woche und ein Abfall in der letzten Woche der Gravidität beschrieben. Nicht tragende Hündinnen zeigen im gesamten Zeitraum gleich bleibend niedrige Konzentrationen. Somit handelt es sich bei Relaxin um ein trächtigkeitsspezifisches Hormon (1, 3, 6, 7, 13-15). Ein früher und sicherer Graviditätsnachweis ist bei der Hündin unter tiermedizinischen und züchterischen Aspekten von großem Interesse. Ziel dieser Studie war, einen neuen, kommerziell erhältlichen Relaxin-Assay (FASTest® RELAXIN-Test, Fa. Mega-Cor, Hörbranz) auf seine klinische Tauglichkeit zu überprüfen, diagnostische Grenzen der Relaxinbestimmung aufzuzeigen sowie die Stabilität der Relaxinmoleküle unter verschiedenen Lagerungsbedingungen zu bestimmen.

Tiere, Material und Methoden

Tierkollektiv

In die Untersuchung wurden 41 Hündinnen unterschiedlicher Rassen einbezogen (je vier Deutsche Schäferhunde, Golden Retriever, je drei Border Terrier, Boxer, Rottweiler, je zwei Barsoi, Berner Sennenhunde, Cairn Terrier, Gordon Setter, Mastiffs, Neufundländer, Rhodesian Ridgeback, Sloughi, je ein Beagle, Bouvier, Entlebucher Sennenhund, Irish Setter, Spanischer Wasserhund, Riesenschnauzer, Westhighland White Terrier, Mischling). Das Alter der Tiere rangierte von ein bis acht Jahren, die Körpermasse lag zwischen 7 und 57 kg. Die Hündinnen wurden im Rahmen der tierärztlichen Betreuung des Zuchteinsatzes im Institut für Reproduktionsmedizin der Tierärztlichen Hochschule Hannover an verschiedenen Zeitpunkten nach der Ovulation (Tag 22 bis 57 p. ov. [post ovulationem]) zum sonographischen Trächtigkeitsschwerepunkt bzw. zur sonographischen Trächtigkeitsüberwachung vorgestellt.

Definition des Gestationsalters

Das Gestationsalter wurde als Zeitraum zwischen Ovulation und Tag des Trächtigkeitsschwerepunktes definiert. Der Ovulationszeitpunkt war bei der Mehrzahl der Hündinnen durch vaginoskopische und vaginalzytologische Verlaufskontrollen im Zusammenhang mit der Bestimmung des optimalen Deckzeit-

punktes unter Einbeziehung der quantitativen Progesteronanalyse im peripheren Blut ermittelt worden (8). Die Ovulation ist durch folgende Befunde charakterisiert: Vaginalschleimhaut abquellend, Konturen eckig bis runzelig infolge Sekundärfältelung, blassrosa bis blass, geringgradig feucht bis trocken; Vaginalepithelzellen verhornt, glattrandig, einzeln und plan liegend (Superficialzellen und Schollen), keine Leukozyten; Progesteronkonzentration durchschnittlich 8 ng/ml. Bei den Hündinnen, von denen keine Informationen über den Ovulationszeitpunkt vorlagen, wurde das Gestationsalter anhand typischer sonographischer Charakteristika in Relation zur Ovulation bestimmt (9).

Sonographie

Mit einem 5-MHz-Konvexschallkopf (US-Gerät CS 9000, Fa. Hitachi, Wiesbaden) und einem 7,5-MHz-Linearschallkopf (US-Gerät LOGIQ 500, Fa. GE Medical Systems Deutschland, Solingen) wurden bei Bestehen einer Trächtigkeit die Anzahl der Fruchtkammern, der Entwicklungsstand und die Vitalität der Früchte sowie gegebenenfalls auftretende Fruchtresorptionen transabdominal erfasst und dokumentiert.

Hormonanalysen

Jeweils zwischen 8 und 12 Uhr wurden 54 Blutproben durch Punktion der V. cephalica antebrachii unter Verwendung von Blutserumröhrchen entnommen und bei 3000 rpm für 10 Minuten zentrifugiert. Von 12 Serumproben wurden vier Teilproben (A1-A4) nach unterschiedlichen Lagerungsbedingungen der semiquantitativen Relaxinanalyse mittels FASTest® RELAXIN-Test unterworfen (A1 für max. 1 h bei 15-25 °C; A2 für 24 h bei 15-25 °C; A3 für 48 h bei 15-25 °C; A4 für mindestens 10 Tage bei -20 °C). Ein weiteres Aliquot A5 wurde bei -20 °C eingefroren und der quantitativen Relaxinmessung zugeführt. 42 Serumproben wurden entsprechend A1 und A5 auf ihren Relaxin Gehalt untersucht. Die Lagerung bei -20 °C erfolgte in unbeschichteten Kunststoffröhrchen. Von jeder Serumprobe wurde außerdem zur Überprüfung der Gelbkörperfunktion am Tag der Blutentnahme ein Aliquot für die Progesteronanalyse verwendet.

Semiquantitative Relaxinbestimmung

Der Schnelltest FASTest® RELAXIN wurde im Institut für Reproduktionsmedizin der Tierärztlichen Hochschule Hannover durchgeführt. Er basiert auf einem immunochromatographischen »Sandwich-Prinzip« (»lateral flow«). Eine Testkassette wird kurz vor Gebrauch aus der Verpackung genommen, auf eine ebene Oberfläche gelegt und beschriftet. Zwei Tropfen (ca. 80 µl der Serumprobe werden mit einer zum Testkit gehörigen Einmalpipette in das Probenfenster (A) der Testkassette pipettiert und sofort danach zwei Tropfen einer Pufferlösung zugegeben. Die in der Serumprobe vorhandenen Relaxinmoleküle reagieren mit den an kolloidale Goldpartikel gebundenen monoklonalen Anti-Relaxin-Antikörpern der mobilen Phase unter Bildung von Komplexen. Diese wandern entlang der Testmembran und werden im Bereich der »Testlinie« des Ergebnisfensters (B) von den dort membranfixierten, hochspezifischen monoklonalen Anti-Relaxin-Antikörpern unter Bildung einer violett-purpurfarbenen Testlinie abgefangen. Parallel dazu wandern die sich ebenfalls in der mobilen Phase befindlichen polyklonalen Anti-Kaninchen-Antikörper entlang der Testmembran und werden im Bereich des Kontrollfensters (C) von dort membranfixierten Kaninchen-IgG-Antikörpern unter Bildung einer violett-purpurfarbenen Kontrolllinie gebunden. Diese dient als Indiz für eine korrekt abgelaufene Testdurchführung. Somit ist der Relaxinnachweis positiv, wenn sowohl im Ergebnisfenster (B) als auch im Kontrollfenster (C) eine violett-purpurfarbene Linie sichtbar wird. Ein negatives Ergebnis (Relaxin nicht nachweisbar) besteht, wenn nur im Kontrollfenster eine violett-purpurfarbene Linie erscheint. Ist weder im Ergebnis- noch im Kontrollfenster eine Linie sichtbar, wird der Test für ungültig erklärt und mit einer anderen Testkassette wiederholt.

Im Rahmen dieser Studie wurden die Ergebnis- und Kontrollfenster nach 5, 10, 20 und 30 Minuten in einem eigens hierfür entwickelten Protokoll wie folgt beurteilt: 0 = negativ, keine Linie sichtbar; 1 = Linie schwach sichtbar; 2 = Linie gut sichtbar; 3 = ausgeprägte Linie sichtbar.

Quantitative Relaxinbestimmung

Für die Bestimmung der Relaxinkonzentration im Serum, durchgeführt im Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät Universität Leipzig, fand ein modifizierter Relaxin-Assay Anwendung (5, 6). Dazu wurden 96-well-Platten mit einem sekundären Goat-anti-rabbit-IgG (Santa Cruz Biotechnology Inc.; Santa Cruz, California, USA) beschichtet. Die Serumproben (50 µl) wurden in die »wells« pipettiert und bei Raumtemperatur mit einem kaninen Relaxin-Antikörper (1:800000) inkubiert (Geschenk von Prof. Dr. B. Steinetz). Nach sechsständiger Inkubation erfolgte die Zugabe des biotinylierten Relaxin-tracer (porzines Relaxin, Geschenk von Prof. Dr. O. D. Sherwood) in einer Endkonzentration von 100 fmol/ml für 21 Stunden bei 4 °C. Anschließend wurde mit Meerrettich-Peroxidase gekoppelte Streptavidinlösung (150 ng/ml) zugegeben und für 30 Minuten bei 4 °C im Dunkeln inkubiert. Nach mehreren Waschschritten erfolgte die Farbreaktion mittels Substratlösung (90 mM Sodium Acetate, 4,5 mM Citric Acid, 0,004% H₂O₂, 0,01% Tetramethylbenzidine in 2% Dimethylsulfoxide), die nach 40 Minuten durch die Gabe von 50 µl 0,2 M H₂SO₄ gestoppt und bei 450 nm im Spektrophotometer gemessen wurde. Als Standardkurve diente rekombinantes H₂-Relaxin und porzines Relaxin (freundliche Gabe von Prof. Dr. O. D. Sherwood), das im Serum von ovariohysterektomierten Hündinnen gelöst wurde. Der niedrigste Bestimmungspunkt lag bei 0,1 µg/l. Die Intraassay- und Interassay-Variationskoeffizienten rangierten zwischen 8,2 und 11,6%. Die Kreuzreaktivität des Assay befand sich für Insulin, TGF α und IGF I unter 1%. Für die Dokumentation der Stabilität des Assays wurden Plasmapools von graviden Hündinnen der Rassen Schäferhund, Beagle und Dobermann jeweils mitgeführt, die einen Interassay-Variationskoeffizienten von 7,5% aufwiesen.

Progesteronbestimmung

Die Progesteronkonzentration der Serumproben wurde in der Zentrumsabteilung für Chemische Analytik und Endokrinologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover über einen kompetitiven Immunoassay bestimmt (IMMULITE®-Progesterone, Diagnostic Products Corporation, Bad Nauheim). Der Intraassay-Variationskoeffizient betrug 6,3%, der Interassay-Variationskoeffizient 5,8%.

Statistische Auswertung

Datenhaltung und -auswertung erfolgten auf den Rechnern des Instituts für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Der Grad der statistischen Zusammenhänge zwischen den erhobenen Befundvariablen wurde mit dem Rang-Korrelationskoeffizienten nach Spearman beschrieben. Sensitivität und Spezifität des Tests wurden mit der SAS-Prozedur FREQ errechnet. Folgende Variablen fanden Verwendung: Tage nach Ovulation, Anzahl der Fruchtkammern inklusive Fruchtresorptionen, Anzahl der vitalen Fruchtanlagen, Grad der Ausprägung der Testlinie des FASTest[®] RELAXIN-Tests nach 30 Minuten, Relaxinkonzentration (ng/ml), Progesteronkonzentration (ng/ml).

Im Rahmen der Stabilitätsprüfung wurden die Grade der Ausprägung der Testlinien nach 30 Minuten zu den oben definierten Zeitpunkten der Teilproben A1-A4 mit dem Signed-Rank-Test (SAS-Prozedur UNIVARIATE) verglichen.

Ergebnisse

Mit einer Ausnahme (vierjährige Boxerhündin; Tag 25 p. ov. mindestens fünf vitale Früchte adäquater Größe; *FASTest*® RELAXIN-Test negativ; Relaxin 1,4 ng/ml) zeigte der *FASTest*® RE-LAXIN-Test nach einer Ablesezeit von 30 Minuten in Übereinstimmung mit den sonographischen Befunden und dem quantitativen Relaxinwert eindeutig das Bestehen einer Trächtigkeit an. Alle Relaxinwerte der nicht tragenden Hündinnen lagen unter der Nachweisgrenze des Tests. Somit ergeben sich für den in dieser Arbeit untersuchten Zeitraum (Tag 22 bis 57 p. ov.) eine Sensitivität (d.h. tragende Hündin wurde als tragend erkannt) von 97,83% und eine Spezifität (d.h. nicht tragende Hündin wurde als nicht tragend erkannt) von 100%.

Bei den insgesamt 33 sonographisch für tragend befundenen Hündinnen (inkl. sieben Fälle mit vereinzelt Fruchtresorptionen, ein Sonderfall mit zahlreichen Fruchtresorptionen sowie ein Sonderfall mit Resorption aller Früchte) wurden mithilfe des quantitativen Relaxinassays Relaxinkonzentrationen von 0,34 bis 12,6 ng/ml (Median 1,27 ng/ml) gemessen (Abb. 1). Eine viereinhalb Jahre alte Riesenschnauzerhündin (Sonderfall 1)

zeigte am Tag 30 p. ov. zwei vitale Früchte und fünf fortgeschrittene Resorptionen. Die Testlinie des *FASTest*® RELAXIN-Tests war bei gut sichtbarer Kontrolllinie ebenfalls gut zu erkennen und die quantitativ gemessene Relaxinkonzentration betrug 1,36 ng/ml. Bei einer vier Jahre alten Berner Sennenhündin (Sonderfall 2) ließen sich 27 Tage nach dem letzten Deckakt sonographisch lediglich zwei fortgeschrittene Resorptionen darstellen. Die Testlinie des *FASTest*® RELAXIN-Tests war bei gut sichtbarer Kontrolllinie schwach sichtbar und die quantitativ gemessene Relaxinkonzentration betrug 0,38 ng/ml (Abb. 1). Bei den acht Hündinnen, die nicht aufgenommen hatten, lag die Relaxinkonzentration zwischen 0,09 und 0,38 ng/ml (Median 0,25 ng/ml) (Abb. 1).

Die Progesteronwerte entsprachen den in den verschiedenen Trächtigkeitsstadien zu erwartenden physiologischen Bereichen. Die Korrelationsrechnung erbrachte keine Zusammenhänge zwischen Relaxin und anderen Variablen, die eine Spezifizierung der Trächtigkeitsdiagnostik (z.B. Anzahl und Vitalität der Früchte) ermöglichen.

Gemessen an der innerhalb der ersten Stunde nach der Blutentnahme ermittelten Stabilität der Relaxinmoleküle (Teilprobe

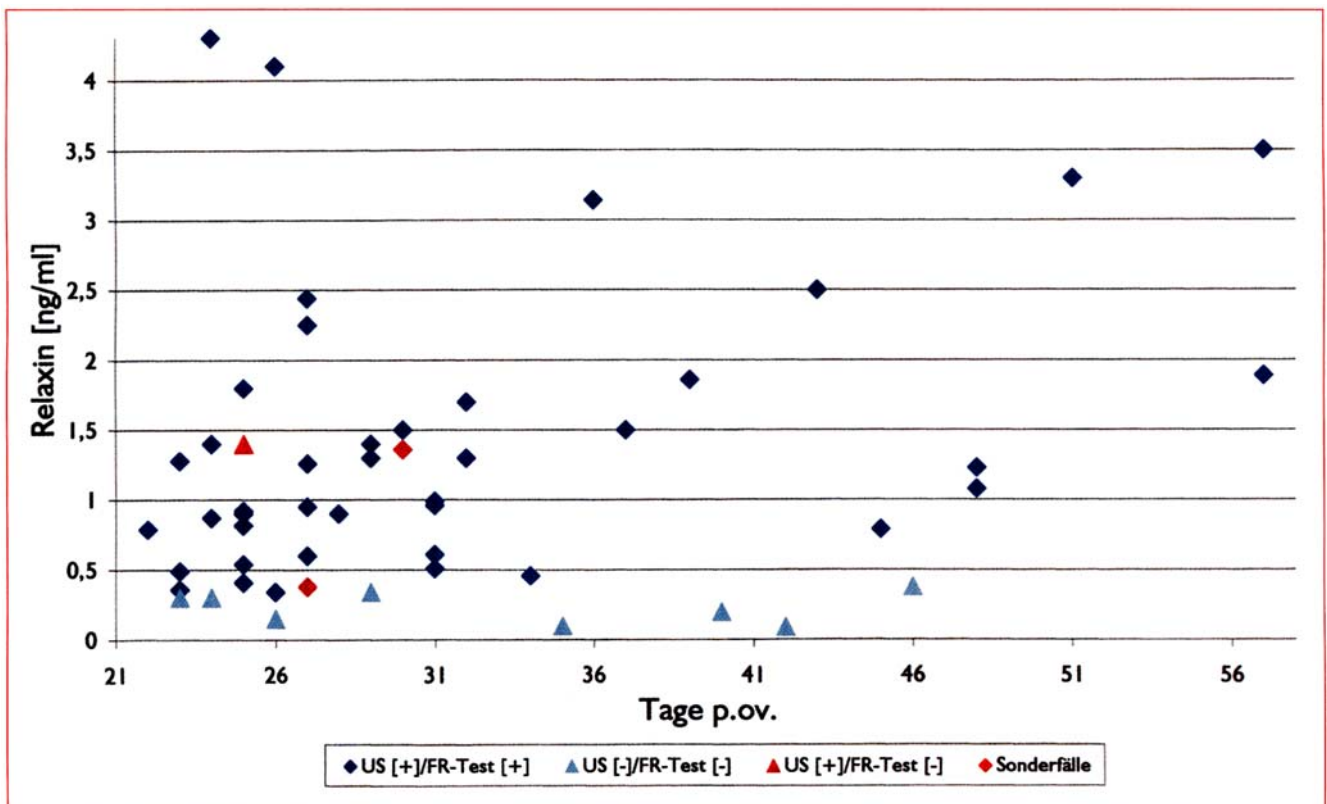


Abb. 1 Ergebnisse der semiquantitativen sowie der quantitativen Relaxinbestimmung mit Bezug auf das Gestationsalter bei 33 sonographisch für tragend befundenen und acht sonographisch für nicht tragend befundenen Hündinnen (Sonographische Trächtigkeitssuntersuchung [US] positiv [+] oder negativ [-], FASTest® RELAXIN-Test [FR-Test] positiv [+] oder negativ [-]). Zwei Wertekonstellationen wurden zugunsten der Übersichtlichkeit nicht dargestellt (d25 p. ov.: US [+], FR-Test [+], Relaxin 7,2 ng/ml; d26 p. ov.: US [+], FR-Test [+], Relaxin 12,6 ng/ml).

A1) nahm die Stabilität nach 24- und 48-stündiger Aufbewahrung bei 15-25 °C signifikant ab (Teilprobe A2 $p = 0,0039$, Teilprobe A3 $p = 0,0020$). Dagegen war in der bei -20 °C eingefrorenen Serumprobe keine Einbuße zu verzeichnen.

Diskussion

Die Ergebnisse dieser Studie weisen in Übereinstimmung mit zahlreichen Autoren (1-3, 6, 7, 13-15) Relaxin als trächtigkeits-spezifisches Hormon bei der Hündin aus. Die semiquantitative Relaxinbestimmung mittels FASTest® RELAXIN-Test ist als geeignetes und aufgrund der ermittelten Sensitivität und Spezifität als zuverlässiges Verfahren zum Trächtignachweis beim Hund zu beurteilen.

Die Stabilitätsprüfung verdeutlicht den Einfluss von Temperatur und Zeit auf den Zerfall der Relaxinmoleküle. Die Blutserumprobe sollte der Relaxinanalyse bei Raumtemperatur daher möglichst schnell, d.h. innerhalb weniger Stunden zugeführt werden. Kann dies nicht gewährleistet werden, wird zur Prävention des Relaxinabbaus das sofortige Einfrieren und die Aufbewahrung bei -20 °C empfohlen.

23 bis 24 Tage p. ov. scheint der Trächtignachweis sicher möglich zu sein. Dieser Zeitpunkt wird von den Autoren auch für den frühen Trächtignachweis mittels Sonographie empfohlen. Aufgrund möglicher individueller Schwankungen sollte bei Testdurchführung \leq Tag 24 p. ov. und negativem Testergebnis eine Wiederholung der semiquantitativen Relaxinbestimmung nach Ablauf einer Woche erfolgen. Die Tageszeit hat keinen Einfluss auf die periphere Relaxinkonzentration (15).

Eine entsprechende Vorgehensweise bietet sich auch im Zusammenhang mit dem Trächtignachweis bzw. -ausschluss bei der fehlgedeckten Hündin an, insbesondere, da in die-

sen Fällen davon auszugehen ist, dass der Tag der Bedeckung nicht zwangsläufig mit dem Tag der Ovulation übereinstimmt.

Die Ursache für das oben beschriebene »falsch negative« Testergebnis kann nicht geklärt werden. Denkbar wäre beispielsweise ein Defekt der Testmembran. Als Ursachen für ein »falsch negatives« Testergebnis unter Praxisbedingungen können eine falsche Probenlagerung (Zerfall der Relaxinmoleküle) oder ein zu frühes Ablesen der Testlinie infrage kommen (empfohlene Ablesezeit 30 Minuten).

Die semiquantitative Bestimmung von Relaxin im Blut mittels FASTest® RELAXIN-Test ist *kein sicherer Hinweis auf eine ungestörte Gravidität* und erlaubt keinen Rückschluss auf die Integrität der Früchte. Dies wird anhand der klinischen und endokrinologischen Befunde der Sonderfälle 1 und 2 belegt. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen erneut, dass ein semiquantitativer Relaxinnachweis aufgrund von erheblichen individuellen Schwankungen keine Informationen über Anzahl und Vitalität der Früchte liefert. Die klinische Aussagekraft ist somit begrenzt. Der FASTest® RELAXIN-Test kann eine sonographische Untersuchung, vor allem bei vorberichtlich sub- oder infertilen Hündinnen, nicht ersetzen.

Fazit für die Praxis

Unter der Voraussetzung einer korrekten Testdurchführung hinsichtlich Zeitpunkt nach Ovulation und Lagerungsbedingungen der Serum-/Plasmaproben ist der Trächtignachweis bzw. -ausschluss beim Hund mittels FASTest® RELAXIN-Test sicher möglich. Der Besitzer sollte jedoch darauf hingewiesen werden, dass es in seltenen Fällen zur Resorption aller Früchte kommen kann. Diese Trächtignachweisstörung lässt sich nur sonographisch diagnostizieren.

Danksagung

Für die freundliche Unterstützung bei der statistischen Auswertung danken wir Herrn Dr. Martin Beyerbach aus dem Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Wir danken Herrn Prof. Dr. Hans-Otto Hoppen, Abteilung für Chemische Analytik und Endokrinologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover, für die Durchführung der quantitativen Progesteronbestimmung.

Literatur

1. Buff S, Fontbonne A, Lopez P, et al. Circulating relaxin concentrations in pregnant and nonpregnant bitches: evaluation of a new enzymeimmunoassay for determination of pregnancy. *J Reprod Fertil Suppl* 2001; 57: 187-91.
2. Bunck C, Froin HR, Günzel-Apel A-R. Erfahrungen mit einem kommerziellen Relaxin-Assay zum Trächtigkeitsnachweis beim Hund. *Kleintierprax* 2002; 41(1): 5-10.
3. Concannon PW, Gimpel T, Newton L, et al. Postimplantation increase in plasma fibrinogen concentration with increase in relaxin concentration in pregnant dogs. *Am J Vet Res* 1996; 57 (9): 1382-5.
4. Concannon PW, Tsutsui T, Shille V. Embryo development, hormonal requirements and maternal responses during canine pregnancy. *J Reprod Fertil Suppl* 2001; 57:169-79.
5. Einspanier A, Nubbemeyer R, Schlote S, et al. Relaxin in the marmosetmonkey: secretion pattern in the ovarian cycle and early pregnancy. *Biol Repr* 1999; 61: 512-20.
6. Einspanier A, Bunck C, Salpigitidou P, et al. Relaxin: ein wichtiger Graviditätsindikator bei der Hündin. *Dtsch Tierärztl Wschr* 2002; 109: 8-12.
7. Goldsmith LT, Lust G, Steinetz BG. Transmission of relaxin from lactating bitches to their offspring via suckling. *Biol Reprod* 1994; 50: 258-65.
8. Günzel-Apel A-R. Läufigkeitskontrolle und Bestimmung des Bedeckungszeitpunktes. In: *Handlexikon der Tierärztlichen Praxis*. Wiesner E, Hrsg. Stuttgart: Enke 1997; 500 a-h.
9. Günzel-Apel A-R, Heinze B, Schäfer D. Bestimmung des Gestationsalters. In: *Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik bei Hund und Katze*. Poulsen Nautrup C, Tobias R, Hrsg. Hannover: Schlütersche 2001; 304-8.
10. Klonisch T. Die Relaxin-Familie im Reproduktionstrakt von Mammaliern. Habilitationsschrift, Medizinische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg 2000.
11. Meinecke B. Reproduktion beim weiblichen Tier. In: *Physiologie der Haustiere*. Engelhardt WV, Breves G, Hrsg. Stuttgart: Enke 2000; 514-37.
12. Sherwood OD. Relaxin. In: *The Physiology of Reproduction*, 2nd ed. Knobil E, Neill J, eds. New York: Raven Press 1994; 861-1009.
13. Steinetz BG, Goldsmith LT, Lust G. Plasma relaxin levels in pregnant and lactating dogs. *Biol Reprod* 1987; 37: 719-25.
14. Steinetz BG, Goldsmith LT, Harvey HJ, et al. Serum relaxin and progesterone concentrations in pregnant, pseudopregnant, and ovariectomized, progestin-treated pregnant bitches: Detection of relaxin as a marker of pregnancy. *Am J Vet Res* 1989; 50 (1): 68-71.
15. Steinetz BG, Goldsmith LT, Hasan SH, et al. Diurnal Variation of serum progesterone, but not relaxin, prolactin, or estradiol-17 β in the pregnant bitch. *Endocrinology* 1990; 127 (3): 1057-63.
16. Stewart DR, Henzel WJ, Vandlen R. Purification and sequence determination of canine relaxin. *J Protein Chem* 1992; 11 (3): 247-53.
17. Tsutsui T, Stewart R. Determination of the source of relaxin immunoreactivity during pregnancy in the dog. *J Vet Med Sci* 1991; 53 (6): 1025-9.

Dr. Joachim Schöne
Institut für Reproduktionsmedizin
der Tierärztlichen Hochschule Hannover
Bünteweg 15
30559 Hannover
E-Mail: joachim.schoene@tiho-hannover.de