

Untersuchung zur Zuverlässigkeit handelsüblicher Progesteron-Schnelltests in der gynäkologischen Diagnostik beim Hund

R. Hospes, Brit Ragna Richter, Anja Riesenbeck, H. Bostedt

Aus der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz (Professur I: Prof. Dr. Dr. h. c. H. Bostedt) der Justus-Liebig-Universität in Gießen

Schlüsselwörter:

Hündin - Gynäkologie - Progesteron-Schnelltest

Key words:

Bitch - Gynaecology- Rapid-progesterone-assay

Zusammenfassung:

Gegenstand und Ziel der vorliegenden klinischen Studie war, die Anwendungsfreundlichkeit und diagnostische Aussagekraft semiquantitativer Progesteronbestimmungsmethoden bei gynäkologischen Fragestellungen der Hündin zu überprüfen. *Probanden und Methoden:* Anhand der Untersuchung von 32 Hündinnen zu 52 unterschiedlichen Untersuchungsterminen wurden die Ergebnisse zweier kommerziell erhältlicher Enzymimmunoassays (Hormonost® = Test 1 und Target® = Test 2) hinsichtlich ihrer Übereinstimmung mit der exfoliativen Vaginalzytologie (n = 25) und den Resultaten einer laborgebundenen Chemilumineszenzmethode zur Progesteronbestimmung (n = 45) verglichen (Prüfreihe 1). In einer zweiten Prüfreihe an weiteren 25 Hündinnen unterschiedlichen Zyklusstandes kamen für den Vergleich von semiquantitativ bestimmten Progesteronwerten mit denen der laborgebundenen Methode andere Chargen der beiden Tests zum Einsatz. *Ergebnisse:* Beide Testverfahren zeigten eine ausreichende Übereinstimmung mit der exfoliativen Vaginalzytologie (Test 1:92%; Test 2:80%). Erhebliche Unterschiede ergaben sich bei der Betrachtung der Messgenauigkeit insgesamt und bei differenzierter Betrachtung in einzelnen Zyklusphasen: Test 1 war in der ersten Prüfreihe mit insgesamt 84% richtigen Zuordnungen der semiquantitativen Ergebnisse zu den Resultaten der Chemilumineszenz mehr als doppelt so genau wie Test 2 (40%). In Prüfreihe 2 mit anderen Chargen der Kits erzielten beide Tests mit nur geringen Unterschieden gute Ergebnisse (Test 1: 96%; Test 2:88%). Die Anwendungsfreundlichkeit war aufgrund der besser gestalteten Anleitung bei Test 2 als vorteilhaft anzusehen. *Schlussfolgerung:* Der Einsatz von Progesteron-Schnelltests stellt ein klinisch relevantes Verfahren in der Gynäkologie des Hundes dar, doch sollte die Beurteilung immer in Kombination mit der exfoliativen Vaginalzytologie erfolgen.

Summary:

Investigations on the reliability of commercial rapid blood progesterone assays in canine gynaecological diagnostics

Objective of the clinical study presented was the evaluation of two current commercially available rapid progesterone assays (Hormonost®; test No. 1 and Target®; test No. 2) for dogs concerning their practicability and accuracy. *Material and methods:* In 32 bitches examined at 52 different dates the semiquantitative progesterone values were compared with the gynaecological Status and vaginal cytology (n = 25) on the one hand and with the progesterone concentration measured by an approved quantitative laboratory-bound chemiluminescence System on the other hand (test-row 1). A second test-row for comparison of semiquantitative and quantitative progesterone concentrations was conducted using new probands (n = 25) and other charges of both tests. *Results:* Both tests showed acceptable accordance with cytological findings in vaginal smears (test 1:92%; test 2:80%). Major differences were observed in the accuracy of the tests in general and by special evaluation of different cycle-phases in this first test-row. A high accordance of the semiquantitative levels and the quantitative concentrations of progesterone was found in 84% of the samples for test 1, but only in 40% for test 2. In the second test-row with other charges of both tests, results improved (test No. 1:96%; test No. 2:88%). The practicability was stated to be better in test 2 due to a more Professional and illustrated instruction booklet. *Conclusion:* Rapid progesterone assays can be considered as valuable and clinical relevant methods of diagnosis in canine gynaecology, but Interpretation of results should always be combined with cytological findings in vaginal smears.

Einleitung

Bei der klinisch-gynäkologischen Untersuchung der Hündin stellt sich die eindeutige Interpretation der Vaginalbefunde häufig als schwierig heraus. Zur Sicherung der Diagnose sind oft-

mals weiterführende Maßnahmen, wie der Einsatz bildgebender Verfahren oder labordiagnostische Untersuchungen, notwendig. Neben der klinisch-gynäkologischen Diagnostik und den weiterführenden Untersuchungen der exfoliativen Vaginalzytologie und der sonographischen Ovardarstellung (5, 6) kommt insbe-

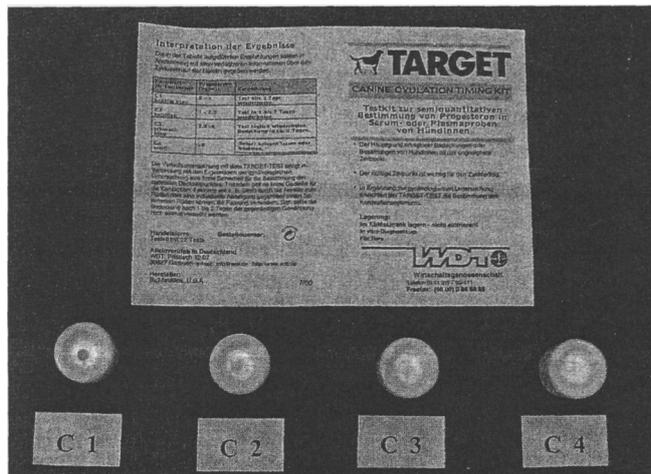


Abb. 1 Testanleitung und Ergebnisse des Tests 2 (Target®, BioMetallics Inc., Princeton, USA; Vertrieb: WDT, Garbsen)

sondere der in praxi durchführbaren Progesteronbestimmung mittels handelsüblicher Schnelltestverfahren auf enzymimmunologischer Grundlage Bedeutung zu (2-4). Von hoher diagnostischer Aussagekraft kann die Hormonbestimmung aus einer peripher entnommenen venösen Blutprobe sein. Im Rahmen der Determination des Zyklusstandes zur Bestimmung des idealen Deckzeitpunktes von Zuchthündinnen, bei der Abklärung ovarialer Dysfunktionen, aber auch im Vorfeld einer geplanten medikamentösen temporären Unterbrechung des Sexualzyklus oder eines Trächtigkeitsabbruchs sowie vor abdominalchirurgischen Eingriffen hat sich die Schnelltestdiagnostik als praktikable Methode erwiesen. Da in der gynäkologischen Praxis der aktuelle Blut-Progesteronwert häufig das letztendlich bestimmende Kriterium zur Festlegung eines zielgerichteten Therapie- oder Maßnahmenplanes darstellt, erschien eine Überprüfung der Anwendungssicherheit und -freundlichkeit kommerziell erhältlicher Progesteron-Schnelltests angezeigt.

Probanden, Material und Methoden

Probanden, Untersuchungsdesign und Blutprobenentnahme

In **Prüfreihe 1** wurden 32 Hündinnen verschiedener Rassen aus dem Patientengut der Klinik in die Untersuchung einbezogen. Zur Bestimmung des Läufigkeitsstatus und des idealen Deckzeitpunktes wurden 11 Zuchthündinnen im Verlauf der Hitze poliklinisch mehrfach vorgestellt. Bei den übrigen 21 Hündinnen handelte es sich um Patienten, bei denen unterschiedliche Gründe für eine eingehende gynäkologische Diagnostik vorlagen, wie beispielsweise Zuchttauglichkeitsuntersuchung, unerwünschte Bedeckung, Läufigkeitsunterdrückung oder Zyklusaberration und andere Gynäkopathien. Insgesamt wurden bei den 32 Patienten 52 gynäkologische Untersuchungen durchgeführt.

Nach eingehender anamnestischer Befragung der Besitzer erfolgte zu jedem Vorstellungstermin eine klinsch-gynäkologische Befunderhebung, die neben der Adspektion des Vulvabereichs regelmäßig eine Vaginoskopie mit einem Spreizspekulum beinhaltete. Zur Beurteilung der exfoliativen Vaginal-epithelzellen wurde im Verlauf der Vaginoskopie mithilfe eines sterilen Wattetupfers ein Abstrich vom Vaginaldach entnommen, auf einen entfetteten Objektträger verbracht (4-6) und nach Lufttrocknung sowie Fixierung mittels einer Schnellmethode (Hemacolor®; Merck, Darmstadt) angefärbt.

Aus der V. cephalica oder der V. saphena wurden mittels einer sterilen V₂A-Kanüle Blutproben in heparinbeschichtete Probenröhrchen entnommen, diese für 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und das Blutplasma parallel mit zwei unterschiedlichen Schnelltestverfahren untersucht.

Bei 45 der 52 Blutproben reichte die gewonnene Menge aus, um einen Anteil dem laborgebundenen Kontrollverfahren einer quantitativen Progesteronbestimmung (automatisiertes Chemilumineszenz-Systems) zuzuführen.

Nach Auswertung der Ergebnisse der Prüfreihe 1 wurde eine **Prüfreihe 2** mit Blutproben von 25 weiteren Hündinnen unterschiedlichen Zyklusstandes unter Verwendung jeweils anderer Chargen der beiden Schnelltests und des automatisierten Chemilumineszenz-Systems durchgeführt.

Testkits und Testdurchführung

Beide angewandten semiquantitativen Schnelltests basieren auf dem Prinzip des Enzymimmunoassays. Die Testergebnisse (verschiedene Blaustufen bis farblos) werden anhand von Vergleichsseren (Standards) und/oder Farbtabelle einer entsprechenden Progesteronkonzentration zugeordnet.

Bei Test 1 (Prüfreihe 1 und 2: Hormonost®, Biolab, München) werden bei jeder Messung zwei Standardseren (Standard 1: Proöstrus; Standard 2: Ovulation) mitgeführt. Zusätzlich stehen zwei Farbtabelle auf der Verpackung des Testkits zur Verfügung. Mit diesem Test können bis zu vier Proben gleichzeitig untersucht werden. Der Test 2 (Prüfreihe 1: Target®, BioMetallics, Princeton, USA, Vertrieb: Albrecht, Aulendorf; Prüfreihe 2: Target®, BioMetallics, Princeton, USA, Vertrieb: WDT, Garbsen) verwendet eine vierteilige Farbskala zum Vergleich mit der Verfärbung auf der Reaktionsoberfläche des für jede Probe einzeln zu beschickenden Testgefäßes (Abb. 1).

Die Testdurchführung wurde anhand der mitgelieferten Ausführungsbestimmungen von in die Methoden eingearbeitetem Laborpersonal oder Tierärzten vorgenommen, die Testinterpretation (Tab. 1) erfolgte ausschließlich durch Tierärzte.

Für die laborgebundene quantitative Bestimmung des Progesteronwertes stand ein automatisiertes Chemilumineszenz-System (ACS:180; Chiron Diagnostics, Fernwald) zur Verfügung.

Hormonost* (Test1)	dunkler/gleich Standard 1	heller als Standard 1, dunkler als Standard 2	gleich Standard 2	heller als Standard 2
Interpretation	keine C.I.-Aktivität, Proöstrus	Beginn C.I.-Aktivität, LH-Peak	Ovulation	Konzeptionszeitraum
Target® (Test 2)	C1: kräftig blau P ₄ : 0-1 ng/ml	C2: hellblau P ₄ : 1-2,5 ng/ml	C3: schwach blau P ₄ : 2,5-5 ng/ml	C4: weiß P ₄ : > 5 ng/ml
Interpretation	Proöstrus	Beginn Progesteron-Anstieg, vor LH-Peak	östrus, nach LH-Peak	post ovulationem

Tab. 1 Interpretation der Farbwerte der Schnelltestverfahren nach Herstellerangaben (C.I.=Corpus luteum; P₄= Progesteron)

Ergebnisse

Anwendungsfreundlichkeit

Die Übersichtlichkeit und der Informationsgehalt der Gebrauchsinformationen stellen maßgebliche Kriterien bezüglich der Anwendungsfreundlichkeit eines Schnelltests dar. Bei beiden geprüften Testverfahren sind die Anleitungen zu einer schnellen und sicheren Testdurchführung, auch für in Labormethoden wenig geübte Personen, ausreichend informativ und übersichtlich gegliedert. Die Anleitung zu Test 1 beleuchtet vornehmlich Aspekte der Durchführung und bietet ausführliche Interpretationszuordnungen zu den möglichen Ergebnissen. Dagegen erläutert die Gebrauchsinformation zu Test 2 in vereinfachter Form die physiologischen Hormonmuster in der Läufigkeit der Hündin unter besonderer Bezugnahme auf die Deckzeitpunktbestimmung. Sie bedient sich in Ergänzung des Textes graphischer Darstellungen der einzelnen Verfahrensschritte, was die Testdurchführung gegenüber Test 1, der ausschließlich in Textform beschrieben wird, wesentlich erleichtert. Bei Test 1 sind der Anhang zur schnellen Erkennung möglicher Fehler und deren Vermeidung sowie die Sicherheitshinweise bezüglich der Anwendung und der Entsorgung benutzter Reagenzien positiv zu bewerten.

Beide Testkits müssen im Kühlschrank aufbewahrt werden. Da die Hormonbestimmung erst erfolgen kann, wenn die Reagenzien Raumtemperatur erreicht haben, ist ein Vorlauf von etwa zwei Stunden einzuplanen.

Die Dauer der reinen Testdurchführung mit den auf Raumtemperatur aufgewärmten Reagenzien beträgt bei beiden Verfahren etwa 15 Minuten. Darüber hinaus liefert Test 1 durch Ablesen der fortschreitenden Enzymreaktion nach weiteren 10 bis 15 Minuten detailliertere Angaben zum Progesteronwert insbesondere bei Proben, die nach erfolgter Ovulation gewonnen wurden.

Vergleich der Schnelltestergebnisse mit denen der exfoliativen Vaginalzytologie

Die Ergebnisse der Progesteron-Schnelltests wurden in 25 Fällen, vornehmlich bei Hündinnen, die zur Deckzeitpunktbestimmung vorgestellt worden waren, mit den Resultaten der lichtmikroskopischen Auswertung der exfoliativen Vaginal epithelzellen

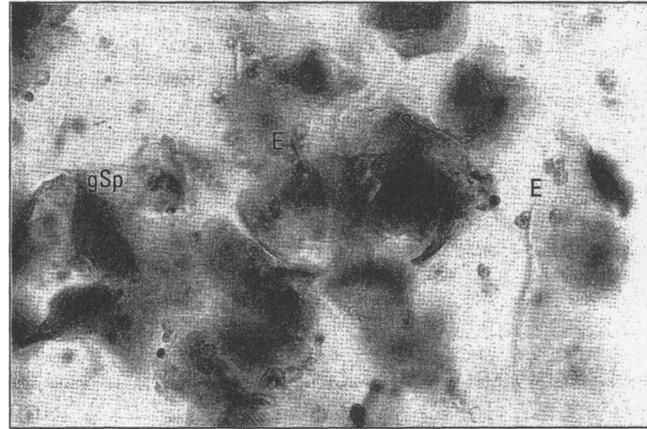


Abb. 2 Exfoliative Vaginalzytologie einer Hündin im späten Proöstrus. Vereinzelt Erythrozyten (E); große Superficialzellen (gSp) mit Zellkernpyknose, teilweise im Übergang in das Schollenstadium (S). Schorr-Färbung, 25fache Vergrößerung.



Abb. 3 Exfoliative Vaginalzytologie einer Hündin im Östrus. Vereinzelt große Superficialzellen (gSp) mit Zellkernpyknose; Schollen (S), teilweise Zusammenlagerung in Nestern (N). Pappenheim-Färbung, 25fache Vergrößerung.

(Abb. 2,3) verglichen. Die Übereinstimmung des vaginalzytologischen Bildes mit dem ermittelten Progesteronwertbereich betrug bei Test 1 92%, bei Test 2 dagegen nur 80%.

Tab. 2 Übereinstimmung der Ergebnisse der Schnelltestverfahren mit den Resultaten der laborgebundenen Chemilumineszenz (Prüfreihe 1; Angaben in Prozent) in unterschiedlichen Zyklusphasen

Kriterium	Progesteron-basisniveau	Initialer Progesteron-anstieg	Ovulations-zeitraum	Lutealphase	Gesamt
Probenanzahl	n = 13	n = 16	n = 3 *Test2:n = 0	Test1: n = 13 *Test2: n = 16	n = 45
Test 1	92,3	62,5	100	100	84
Test 2	**	62,5	*	61,6	40

* Test (Target®, BioMetallics Inc., Princeton, USA; Vertrieb: Albrecht, Aulendorf) sieht keine direkte Differenzierung von »Ovulationszeitraum« und »Lutealphase« vor.

** Test (Target* BioMetallics Inc., Princeton, USA; Vertrieb: Albrecht, Aulendorf) zeigte stets unterschiedliche Färbungen zwischen »hellblau« und »weiß« und somit regelmäßig zu hohe Progesteronwerte an.

Kriterium	Progesteron-basisniveau	Initialer Progesteron-anstieg	Ovulations-zeitraum	Luteal-phase	Gesamt
Probenanzahl	n = 10	n = 6	n = 3 *Test 2: n = 0	Test1: n = 6 Test2: n = 9	n = 25
Test1	100	83,3	100	100	96
Test 2	90	66,6	*	100	88

* Testkit (Target®, BioMetallics Inc., Princeton, USA; Vertrieb: WDT, Garbsen) sieht keine direkte Differenzierung von »Ovulationszeitraum« und »Lutealphase« vor.

Tab. 3 Übereinstimmung der Ergebnisse der Schnelltestverfahren mit den Resultaten der laborgebundenen Chemilumineszenz (Prüfreihe 2; Angaben in Prozent) in unterschiedlichen Zyklusphasen

Vergleich der Schnelltestergebnisse mit denen der Chemilumineszenz

Der Vergleich der Ergebnisse der semiquantitativ-enzymimmunoologisch ermittelten Progesteronwerte mit denen der laborgebundenen Progesteronanalyse in **Prüfreihe 1** fiel überraschend unterschiedlich aus. Die Schnelltestresultate wurden in vier Zyklusphasen (Progesteronbasisniveau, initialer präovulatorischer Progesteronanstieg, Ovulationszeitraum, Lutealphase) den Chemilumineszenzresultaten zugeordnet (Tab. 2). In der Gesamtbetrachtung über alle Zyklusphasen hinweg ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen den Schnelltestverfahren und eindeutige Vorteile des Tests 1 (Hormonost®, Biolab, München), der in insgesamt 84% der Fälle mit der Chemilumineszenz übereinstimmende Wertebereiche erbrachte. Dagegen erreichte Test 2 (Target®, BioMetallics, Princeton, USA, Vertrieb: Albrecht, Aulendorf) nur eine Übereinstimmung von 40%. In der Einzelauswertung der in praxi zwingend notwendig zu unterscheidenden Zyklusabschnitte (1, 7, 8) zeigten beide Tests die Phasen des initialen Progesteronanstiegs und der postovulatorischen Corpus-luteum-Aktivität im Konzeptionszeitraum mit ausreichender Sicherheit an. Die Differenzierung des Ovulationszeitraums aufgrund der Beurteilung der Blaufärbung des Testreagens ist, in Abhängigkeit vom Design des Verfahrens, lediglich bei Test 1 möglich. Test 2 wies deutliche Schwächen in der Detektion des Progesteronbasisniveaus auf: Anstelle einer für Basalwerte von weniger als 1 ng/ml charakteristischen kräftigen Blaufärbung (C1) waren unterschiedlich hellblaue Färbungen (entsprechend C2, C3) bis hin zu Weiß (farblos; entsprechend C4) zu beobachten.

Aufgrund der nicht unerheblichen Abweichungen der mit dem Test 2 in Prüfreihe 1 erzielten Resultate im Vergleich zu den Ergebnissen der laborgebundenen Referenzmethode wurden die Progesteronmessungen aus Blutproben einer neuen Probandengruppe (n = 25) und unter Verwendung anderer Lieferchargen der Schnelltests (Hormonost®, Biolab, München; Target®, BioMetallics, Princeton, USA, Vertrieb: WDT, Garbsen) in **Prüfreihe 2** einer weiteren Überprüfung unterzogen. Die Übereinstimmung der Werte des Tests 1 war als gleich bleibend sehr gut zu bezeichnen. Die Resultate des Tests 2 zeigten eine deutliche Verbesserung in einen ebenfalls als hervorragend zu charakterisierenden Bereich (Tab. 3).

Diskussion

Die geprüften Schnelltestverfahren zur semiquantitativen Bestimmung der Progesteronkonzentration in Blutproben von Hündinnen stellen unter Praxisbedingungen wertvolle Hilfsmittel zur Determination des Läufigkeitsstadiums dar. Die Anwendungsfreundlichkeit ist bei beiden Tests als gut zu bewerten, wobei die Ergänzung der Testanleitung durch instruktive Illustrationen bei Test 2 als vorteilhaft angesehen wird. Auch die Ausführungen zu den endokrinologischen Grundlagen des Zyklus der Hündin und den potenziellen Einsatzgebieten der Testmethode müssen positiv Erwähnung finden.

Hinsichtlich der Übereinstimmung der Ergebnisse der beiden Enzymimmunoassays mit dem »Bio-Assay« der exfoliativen Vaginalzytologie ergab sich für Test 1 eine gute, für Test 2 eine ausreichende Übereinstimmung, sodass in der praktischen Anwendung bei Kombination der Schnelltests mit dem Vaginalabstrich eine annähernd sichere Aussage über den Zyklusstand der untersuchten Hündin möglich ist. Dies gilt für beide enzymimmunoologischen Kits vor allem für die in praxi diagnostisch wichtigsten Phasen des präovulatorischen Progesteronanstiegs und des Ovulationszeitraums, der von Test 1 deutlich angezeigt wird (Färbung wie Standard 2). Während Test 2 im postovulatorischen Zeitabschnitt keine weitere Differenzierung zulässt (C4; Färbung weiß), erlaubt Test 1 durch erneute Ablesung nach 10 bis 15 Minuten die Erfassung von Progesteronkonzentrationen, die das bei der Ovulation bestehende Niveau übersteigen und daher für das Vorhandensein aktiver Gelbkörper sprechen.

Hinsichtlich der Determination basaler Blut-Progesteronwerte im Basalniveau von weniger als 1 ng/ml war der Test 2 in der ersten Prüfreihe (Target®, BioMetallics Inc., Princeton, USA; Vertrieb: Albrecht, Aulendorf) unzuverlässig. In einer zweiten Prüfreihe wurde, nach Änderung der Vertriebsorganisation für Test 2, eine andere Charge des Tests 1 (Hormonost®, Biolab, München) und eine neue Charge des Tests 2 (Target®, BioMetallics Inc., Princeton, USA; Vertrieb: WDT, Garbsen) verwendet. Dabei ergab sich auch für Test 2 eine gute Übereinstimmung der Resultate mit denen der laborgebundenen Chemilumineszenz, bei gleich bleibend guten Ergebnissen des Tests 1. Die wenn auch im ureigensten Interesse und Bestreben der Hersteller minimierte, aber dennoch in der vorliegenden Studie festgestellte Qualitätsschwankung einzelner Chargen desselben Produktes unterstreicht die Bedeutung der exfoliativen Vaginalzytologie,

auf deren Durchführung zur Vermeidung von Fehlinterpretationen grundsätzlich nicht verzichtet werden sollte.

Fazit für die Praxis

Zur semiquantitativen Bestimmung der Progesteronkonzentration in Blutproben von Hündinnen sind, unter Berücksichtigung der genannten Einschränkungen, die beiden überprüften Schnelltests als geeignet zu bezeichnen. Sie stellen eine wertvolle, in praxi durchführbare Ergänzung der klinischen Befunderhebung und der vaginalzytologischen Diagnostik dar, die ihre Bedeutung insbesondere im Rahmen der Betreuung von Zuchthündinnen im ovulationsnahen Zeitraum hat. In Fällen von gynäkologischen oder geburtshilflichen Indikationen (7, 8), bei denen eine exakte Bestimmung des Verlaufs der peripher messbaren Progesteronkonzentration im Sinne einer Profilerstellung notwendig ist, sollte jedoch auf laborgebundene Analyseverfahren wie die Chemilumineszenz zurückgegriffen werden.

Literatur

1. Concannon P, Hansel W, McEntee K. Changes in LH, progesterone and sexual behaviour associated with preovulatory luteinization in the bitch. *BiolReprod* 1977; 17:604-13.
2. England GCW, Allen WE, Porter DJ. A Comparison of radioimmunoassay with quantitative and qualitative enzyme-linked immunoassay for plasma progesterone detection in bitches. *Vet Rec* 1989; 125:107-8.
3. Günzel-Apel A-R, Sieme H, Koppen H-O. Erfahrungen mit einem »schnellen« Progesterontest zur Bestimmung des Bedeckungs- oder Besamungszeitpunktes beim Hund. *Kleintierprax* 1990; 35: 301-8.
4. Laiblin C. Brunstdiagnostik bei der Hündin mit einem Progesteron-Schnelltest (EIA) - eine sinnvolle Ergänzung der Vaginalzytologie. *Tierarzt! Prax* 1991; 19:197-9.
5. Linde C, Karlsson I. The correlation between the cytology of the vaginal smear and the time of ovulation in the bitch. *J Small Anim Pract* 1984; 25: 77-82.
6. Tammer I, Blendinger K, Sobiraj A, Bostedt H. Über den Einsatz der exfoliativen Vaginalzytologie im Rahmen der gynäkologischen Befunderhebung bei der Hündin. *Tierärztl Prax* 1994; 22:199-207.
7. Riesenbeck A. Untersuchungen über die Verfügbarkeit von LH bei ingraviden und graviden Hündinnen und zur Bedeutung des Regelfaktors PGF_{2α} für die Luteolyse im peripartalen Zeitraum. *Diss med vet*, Gießen 1997.
8. Wright PJ. Application of vaginal cytology and plasma progesterone determinations to the management of reproduction in the bitch. *J Small Anim Pract* 1990; 31: 335-40.

PD Dr. Rainer Hospes
 Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie
 und Andrologie der Groß- und Kleintiere
 mit Tierärztlicher Ambulanz
 der Justus-üebig-Universität
 Frankfurter Straße 106
 35392 Gießen
 E-Mail: rainer.hospes@vetmed.uni-giessen.de