

## Diagnostik der Reisekrankheiten Babesiose, Hepatozoonose, Leishmaniose, Dirofilariose und Ehrlichiose des Hundes

### BABESIOSE

	Erreger	Vektor
„Große“ Babesien	<b><i>Babesia canis canis</i></b> ( <b><i>B. canis canis</i></b> )	<i>Dermacentor reticulatus</i> ( <i>D. reticulatus</i> )
	<b><i>B. canis vogeli</i></b>	<i>R. sanguineus</i>
	<b><i>B. canis rossi</i></b>	<i>Haemaphysalis leachi</i> ( <i>H. leachi</i> )
„Kleine“ Babesien	<b><i>B. gibsoni</i></b>	<i>R. sanguineus</i> <i>H. bispinosa</i>

#### Diagnostik

Bei den am häufigsten auftretenden akuten Babesieninfektionen ist die PCR die Nachweismethode der Wahl.

Der Direktnachweis im Blutausstrich ist im positiven Fall ebenso beweisend, aber weniger sensitiv. Der Nachweis von *Babesia*-Antikörpern ist frühestens 10 – 14 Tage p.i. möglich. Bei akuten Infektionen liegen oft noch keine Antikörper vor. Jungtiere unter 8 Monaten entwickeln häufig niedrige Antikörpertiter und sollten frühestens ab einem Alter von 3 Monaten serologisch untersucht werden, da maternale Antikörper vorhanden sein können (protektiv bei Welpen bis zu einem Alter von 2 Monaten).



#### 1. Babesien-Nachweis (DNA) mittels PCR

Es werden dabei „große“ und „kleine“ Babesien erfasst. Eine Unterscheidung der Babesienpezies wird routinemäßig nicht durchgeführt, kann aber im Einzelfall nach positivem PCR-Befund mit anschließender Sequenzanalyse bestimmt werden.

Nehmen Sie hierzu bitte vorab Kontakt mit dem Labor auf (zeitaufwändige Untersuchung)! Die erste Parasitämie tritt ca. 5 - 10 Tage post infectionem auf. Beim chronischen Verlauf wechseln sich Ruhephasen mit parasitärischen Phasen ab. Ein direkter Erregernachweis ist daher nicht immer möglich!

#### 2. Babesien-Direktnachweis

Der Nachweis der intraerythrozytären Merozoiten erfolgt lichtmikroskopisch im Giemsa gefärbten Blutausstrich, welcher idealerweise aus Kapillarblut angefertigt wird. Dabei können große und kleine Babesien weitgehend abgegrenzt werden. Bei *Babesia*

*canis canis*-Infektionen sind häufig nur wenige Erreger im Blut (Abb. 1), so dass der mikroskopische Nachweis sehr schwierig ist. Im Vergleich zum lichtmikroskopischen Nachweis im Blutausstrich ist die PCR deutlich sensitiver.

#### 3. Babesien-Antikörper (Ak)

Der Nachweis von *B. canis*-Antikörpern mittels IFT ist frühestens 10 – 14 Tage p.i. möglich. Sollten Sie einen Nachweis von Antikörpern gegen *B. gibsoni* benötigen (z. B. für Export) nehmen Sie bitte vorab Kontakt mit dem Labor auf.

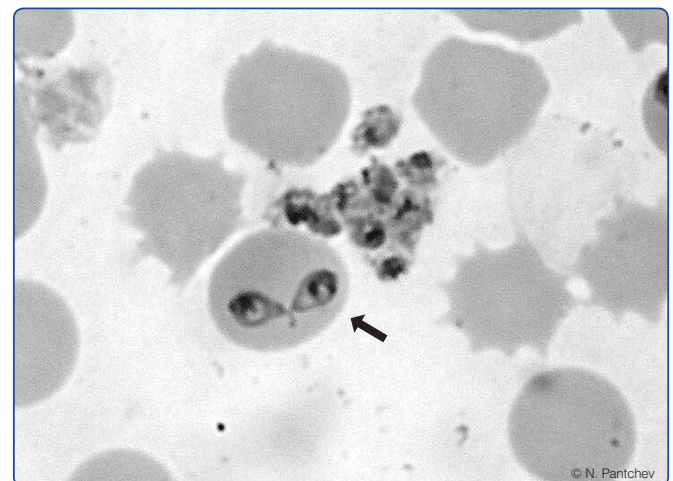


Abb. 1: *Babesia canis canis* – Merozoiten im gefärbten Blutausstrich eines Hundes (1000 x)

#### 4. Ergänzende Laboruntersuchungen

Im Blutbild liegt häufig eine hämolytische Anämie (zunächst regenerativ, normozytär und normochrom, später regenerativ, makrozytär und hypochrom) sowie eine Thrombozytopenie vor. Die Retikulozytenzahl steigt i.d.R. proportional zur Stärke der Anämie an. Bei einer sekundären immunhämolytischen Anämie kommen Sphärozyten und oftmals eine Leukozytose mit Linksverschiebung vor. Der Coombs Test ist häufig positiv, was die Unterscheidung zur autoimmunhämolytischen Anämie zusätzlich erschwert. Die Werte der klinischen Chemie können unverändert sein. Leberenzymwertveränderungen und Azotämie treten je nach Krankheitsbild auf. Bilirubinämie und -urie sowie Hämoglobinurie (bei intravasaler Hämolyse) kommen vor. Die Gesamteiweiß- und Albuminwerte sind oft erniedrigt. Tiere mit einer *Ehrlichia*-Koinfektion zeigen häufig eine deutliche Hypergammaglobulinämie.

# HEPATOZOONOSE

## Diagnostik

### 1. Mikroskopischer Direktnachweis von Hepatozoon

Der mikroskopische Direktnachweis von Hepatozoon-Gamonten im Giemsa oder Diff-Quick® gefärbten Blutausstrich (aus dem „Buffy-Coat“) ist die gängige Nachweismethode. Je schwerwiegender die klinische Erkrankung, desto mehr Erreger lassen sich im Blut nachweisen. Die Ausstriche sollten direkt nach der Blutentnahme angefertigt werden, da die Erreger aus ihren Wirtszellen auswandern. Gamonten (Abb. 2) sind erst ca. 5 Wochen p. i. im Blut nachweisbar. In Gewebebiopsien oder Ausstrichen von Feinnadelaspiraten (Lymphknoten-, Knochenmarks-, Muskelbiopsie) können Meronten auch bei einer akuten Erkrankung mikroskopisch nachgewiesen werden. Der Nachweis gelingt nicht immer und nur ein positives Ergebnis darf als beweisend angesehen werden. Ein negatives Ergebnis kann keinen sicheren Ausschluss bieten.

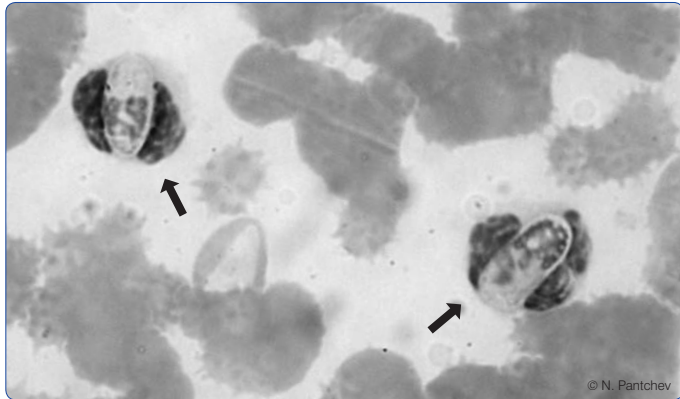


Abb. 2: *Hepatozoon canis* – intrazelluläre Gamonten im Blutausstrich, 1000x

### 2. Serologie

Derzeit nicht als Routinediagnostikum üblich.

### 3. Ergänzende Laboruntersuchungen

Im Blutbild zeigt sich häufig eine milde normozytäre, normochrome, gelegentlich eine regenerative Anämie. Hunde mit starker Parasitämie weisen eine massive Leukozytose auf.

#### Serumeiweißelektrophorese

Das Gesamteiweiß ist bei Hunden mit Hepatozoonose oft erhöht, i. d. R. liegt eine Hypergammaglobulinämie (polyklonale Gammapathie) vor. Albumin ist häufig erniedrigt. Manchmal sind die Kreatinkinase und die alkalische Phosphatase erhöht.

# LEISHMANIOSE

## Diagnostik

### 1. Leishmanien-Antikörper (IFT)

Der Nachweis von Leishmanien-Antikörpern (*L. infantum*) gelingt oft erst Wochen bzw. Monate p.i., wobei asymptomatisch infizierte Tiere häufig keine spezifischen oder grenzwertige bis schwache Antikörpertiter aufweisen (zelluläre Immunität). Bei klinisch erkrankten Tieren sind in den meisten Fällen Antikörper nachweisbar.

### 2. *Leishmania* spp. (PCR)

(DNA-Nachweis speziesübergreifend)

Der direkte Nachweis der Leishmanien ist aus Lymphknoten- oder Knochenmarkspunktaten sowie aus Hautbiopstaten sinnvoll. Der DNA-Nachweis aus Konjunktivalabstrichen ist ebenfalls geeignet, wobei die Sensitivität bei Untersuchung beider Augen steigt. Ein Nachweis aus Blut ist nicht zuverlässig. Falsch negative Ergebnisse kommen vor. Die PCR-Methode empfiehlt sich vor allem bei verdächtigen Tieren, die keine oder nur grenzwertige bis schwache Antikörpertiter zeigen.

### 3. Mikroskopischer Direktnachweis von Leishmanien

Der mikroskopische Direktnachweis von Leishmanien ist deutlich weniger sensitiv als die PCR – im positiven Fall allerdings beweisend für eine Infektion. Im peripheren Blut finden sich selten Leishmanien (Abb. 3). Der mikroskopische Nachweis in Feinnadelaspiraten bzw. Biopsien von Lymphknoten, Milz oder Knochenmark ist sensitiver. Auch aus Hautveränderungen kann ein Direktnachweis durchgeführt werden.

### 4. Ergänzende Laboruntersuchungen

Eine klinisch manifeste Leishmaniose geht mit einigen Blutwertveränderungen einher. Diese können daher sowohl zur Diagnosestellung als auch als prognostische Parameter bestimmt werden. Auch zur Überwachung der Therapie sollten diese Parameter (wiederholt) untersucht werden, da einige der Medikamente nicht unerhebliche Nebenwirkungen hervorrufen können.

#### Serumeiweißelektrophorese

Das Gesamteiweiß ist bei Hunden mit Leishmaniose typischerweise erhöht, i. d. R. liegt eine Hypergammaglobulinämie vor. Albumin hingegen ist häufig erniedrigt (Verlust über die Nieren bei Glomerulonephritis). Die Nierenwerte können erhöht sein (Glomerulonephritis). Bei Hunden mit Azotämie oder Verdacht auf Glomerulonephritis sollte auch eine Urinuntersuchung (Harnstatus, Protein-Kreatinin-Quotient, ggf. SDS-Page) durchgeführt werden. Die Leberenzymwerte, v. a. AP und ALT, sind häufig leicht erhöht. Zur Beurteilung der glomerulären Filtrationsrate kann die exogene Kreatinin-Clearance herangezogen werden. Im Blutbild sind meist eine milde, nicht regenerative Anämie sowie eine Eosinophilie erkennbar. Seltener kommt es zur immunmedierten, regenerativen, hämolytischen Anämie. Weiterhin können eine Thrombozytopenie und eine Leukozytose mit Linksverschiebung oder Leukopenie vorkommen.

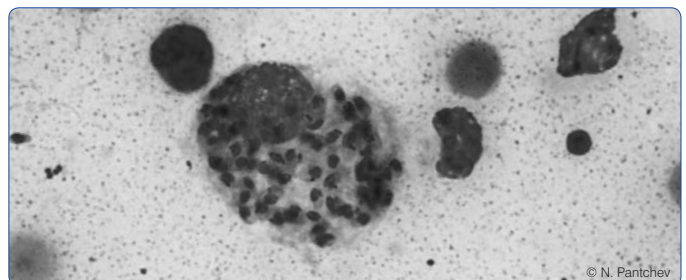


Abb. 3: *Leishmania infantum* – Amastigoten in einem Makrophagen (gefärbter Nasenabstrich eines aus Griechenland importierten Hundes, 1000 x).

## DIROFILARIOSE



Erreger	Vektor
<b><i>Dirofilaria (D.) immitis</i></b>	Stechmücken (Culex, Aedes)

### Diagnostik

#### 1. Mikrofilarien-Direktnachweis

Der Nachweis von Mikrofilarien (Abb. 4) gelingt frühestens 6 Monate p.i. und erfolgt lichtmikroskopisch am besten nach Anreicherung (Knott-Test). Mit diesem Verfahren ist eine Unterscheidung der Mikrofilarien von *Dirofilaria immitis* von denen anderer Arten nicht möglich. Die Differenzierung kann nach positivem Knott-Test mittels PCR erfolgen. Die Blutprobe sollte vorzugsweise am späten Nachmittag oder Abend entnommen werden. Rund die Hälfte der Infektionen verläuft okkult (z. B. durch Subperiodizität, gleichgeschlechtliche Adulte, nichtgravide Weibchen, Immunreaktionen, mikrofilarizide Vorbehandlung). Aus diesem Grund können, trotz vorhandener Infektion mit adulten Parasiten, oft keine Mikrofilarien im peripheren Blut nachgewiesen werden.

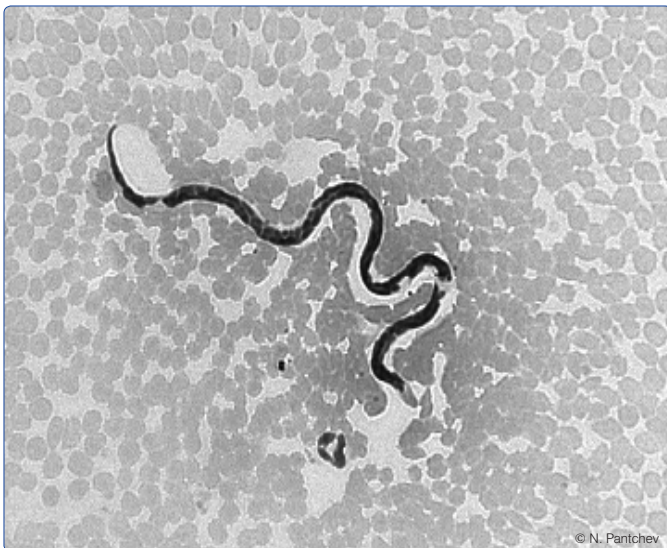


Abb. 4: Mikrofilarie von *Dirofilaria immitis* im gefärbten Blutausschlag eines Hundes (400x)

#### 2. Makrofilarien-Antigen (ELISA)

Der Nachweis von Makrofilarien-Antigen ist frühestens 5 – 6 Monate p.i. möglich. Im Antigentest werden v. a. Uterusantigene weiblicher, gravider Herzwürmer nachgewiesen. Der Test gilt als sicher, wenn mindestens drei gravide Würmer vorhanden sind. Falsch negative Ergebnisse können vorkommen (adultizide Therapie, geringgradiger Befall, abgestorbene Würmer, ektope Lokalisationen, nicht gravide weibliche Würmer, nur männliche Würmer u. a.).

#### 3. SNAP® 3Dx® ELISA-Praxisschnelltest

Mit dem SNAP® 3Dx® kann bereits in der Praxis *Dirofilaria immitis*-Antigen nachgewiesen werden. Der Test kombiniert den Nachweis von *Dirofilaria immitis*-Antigen mit dem Nachweis von *Ehrlichia canis*-Antikörpern (ELISA-Technologie) und Borrelien-Antikörpern (C<sub>6</sub>-ELISA-Technologie).

### Testinterpretation

In einigen Fällen ist der Mikrofilarien-Direktnachweis positiv und der Makrofilarien-Antigennachweis negativ. Dafür kommen folgende Ursachen in Frage:

- Infektion mit *D. immitis*, aber weniger als 3 gravide Würmer
- Hund nach makrofilarizider Therapie ohne mikrofilarizide Therapie
- Larven anderer Nematoden: z. B. *Dipetalonema (Acanthocheilonema reconditum)*, *D. repens*, *Dipetalonema dracunculoides*

## EHRLICHIOSE

Erreger	Vektor
<b><i>E. canis</i></b>	<i>R. sanguineus</i> , <i>D. variabilis</i>
<b><i>E. chaffeensis</i></b>	<i>Amblyomma</i> spp., <i>D. variabilis</i> <i>Haemaphysalis</i> spp., <i>Ixodes</i> spp.
<b><i>E. ewingii</i></b>	<i>Amblyomma americanum</i>

### Diagnostik

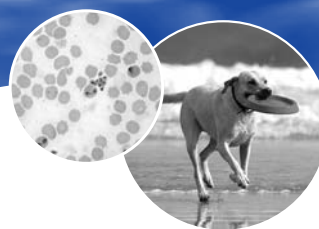
Im akuten Stadium gelingt der Nachweis am besten mittels PCR. Um subklinische Infektionen zu diagnostizieren, eignet sich der Antikörpernachweis. In dieser Infektionsphase kann die Infektion noch eliminiert werden. Chronische Infektionen hingegen sind schwer therapierbar, daher ist es wichtig, bereits subklinisch infizierte Tiere zu erkennen und zu therapieren. Im chronischen Stadium eignet sich der Antikörpernachweis zur Diagnose.



#### 1. Ehrlichia canis – PCR (DNA-Nachweis)

Der direkte Erregernachweis mittels PCR aus EDTA-Blut kann bereits ab dem 4. – 10. Tag p.i. (bevor eine Serokonversion eintritt) durchgeführt werden und ist sensitiver als der lichtmikroskopische Nachweis im Blutausschlag. Die PCR wird hauptsächlich in der akuten Phase der Erkrankung empfohlen, da in späteren Stadien häufig keine Erreger im Blut nachzuweisen sind. Zu einem späteren Zeitpunkt ist der Nachweis mittels PCR aus Milz- oder Knochenmarksbiopsaten sinnvoll. Ein negativer Nachweis schließt die Infektion nicht sicher aus.





## 2. Ehrlichien-Direktnachweis im Blutausstrich

Der direkte Erregernachweis im Blutausstrich ist meist nur während des akuten Krankheitsstadiums lichtmikroskopisch im Giemsa gefärbten Blutausstrich, idealerweise aus Kapillarblut, möglich. Der Direktnachweis ist auch aus Feinnadelaspiraten möglich (Milz, Lunge, Lymphknoten, Knochenmark). Am sensitivsten ist der Nachweis aus Lymphknotenaspiraten.

## 3. Ehrlichia/Anaplasma spp. (PCR)

(DNA-Nachweis speziesübergreifend)

Falls eine Unterscheidung der einzelnen Spezies gewünscht wird, kann anschließend eine Sequenzanalyse des PCR-Amplifikates durchgeführt werden. Setzen Sie sich hierzu bitte vorab mit dem Labor in Verbindung.

## 4. Ehrlichia canis-Antikörper (IFT)

Der Nachweis von *Ehrlichia canis*-Antikörpern ist in der Regel ab 14 Tage p.i. möglich (frühestens nach 7 Tagen) (Abb. 5). Manche Hunde zeigen erst ab 28 Tage p.i. eine Serokonversion. Ein vierfacher Titeranstieg bei der Untersuchung von Serumpaaren im Abstand von 2 – 3 Wochen deutet auf ein akutes Geschehen hin. Da die Titer über Monate erhöht bleiben können, ist der positive Nachweis nicht gleichbedeutend mit einer klinisch manifesten Erkrankung. Kreuzreaktionen mit anderen *Ehrlichia* spp. sind möglich.

## 5. SNAP® 3Dx® ELISA-Praxisschnelltest

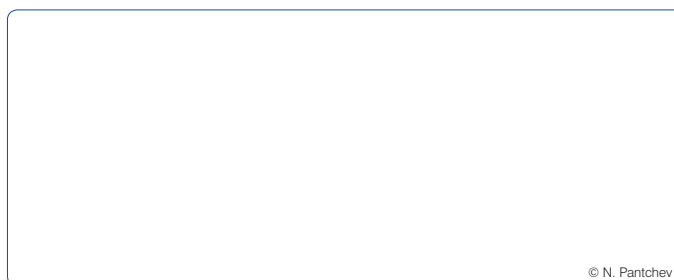
Mit dem SNAP® 3Dx® können bereits in der Praxis *Ehrlichia canis*-Antikörper nachgewiesen werden. Der Test kombiniert den Nachweis von Dirofilarientigenen mit dem Nachweis von *Ehrlichia canis*-Antikörpern (ELISA-Technologie) und *Borrelia*-Antikörpern (C<sub>6</sub>-ELISA-Technologie).

## 6. Ergänzende Laboruntersuchungen

Bei der Ehrlichiose können die folgenden Laborwertveränderungen auftreten:

Blutbild: Anämie, Leukopenie, deutliche Thrombozytopenie, Panzytopenie

Klinische Chemie: häufig Hyperproteinämie, Hyperglobulinämie und Hypoalbuminämie; Erhöhung der AP und ALT



© N. Pantchev

Abb. 5: Fluoreszenz der *Ehrlichia-canis*-Morula in den Makrophagen im positiven IFAT (1000x)

## DIE REISEKRANKHEITEN PROFILE BEI DIAVET Labor AG:

### Reisekrankheiten Profil I

früh

- *Ehrlichia canis* AK
- Leishmanien AK
- *Babesia* spp. AK
- Blutparasiten mikrosk.

### Reisekrankheiten Profil II

spät

- *Ehrlichia canis* AK und DNA-Nachweis PCR
- Leishmanien AK
- Makrofilarien AG (*Dirofilaria immitis*)
- *Babesia* spp. PCR

Autor: Maja Hirsch

Dr. med. vet., FTA Klein- und Heimtiere

Bilder: Nikola Pantchev

Dr. med. vet., FTA für Parasitologie

Literatur auf Anfrage

DIAVET Labor AG  
Schlyffstrasse 10 · Postfach 43  
CH-8806 Bäch SZ  
Telefon 044 786 90 20 · Telefax 044 786 90 30  
info@diavet.ch · www.diavet.ch