

Labordiagnostik Update Leishmaniose



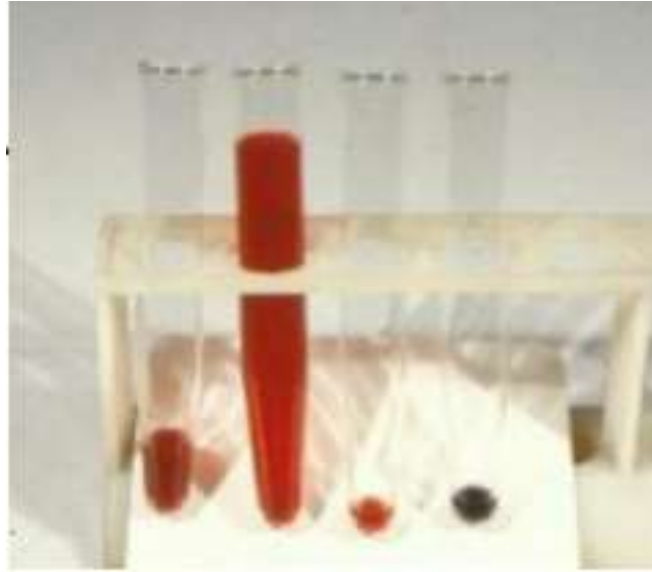
LABOR AM ZUGERSEE

Dr. Daniel Schaarschmidt-Kiener

„Chamer Höck“

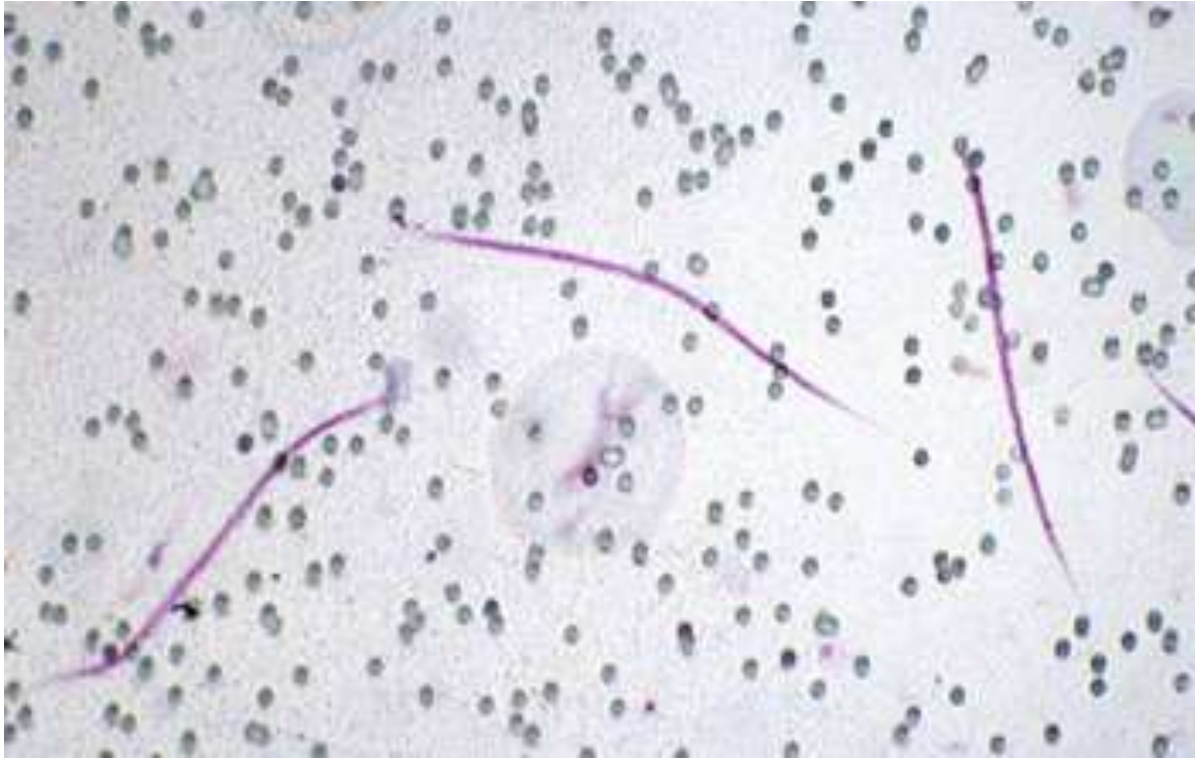
15. Oktober 2015

Simpler Praxistest



KNOTT-Test

KNOTT-Test



Mikrofilarien-Diagnostik

Modifizierter KNOTT-Test

- 1ml EDTA-Blut
- 4ml 2% Formalin
- leicht mischten
- 5min inkubieren
- dann sanft abzentrifugieren
- Überstand abschütten
- mit Methyleneblau färben



→ **Leishmaniosepatienten haben oft ein sehr prominentes Präzipitat**

→ Test sehr unspezifisch und nicht sehr sensitiv

Wann Labordiagnostik?

- Klinischer Verdachtsfall
- Import- oder Reisehünd
- Blutspender

Labordiagnostik

- **Parasitologie**
Kultur, Zytologie
Histologie, Immunhisto
- **Serologie**
Schnelltest, IFAT, ELISA
- **Molekulare Diagnostik**
PCR



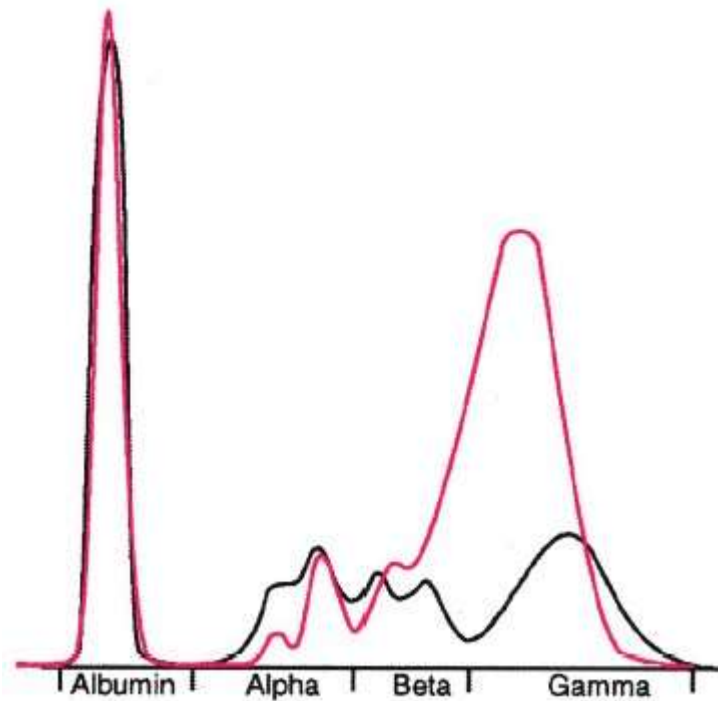
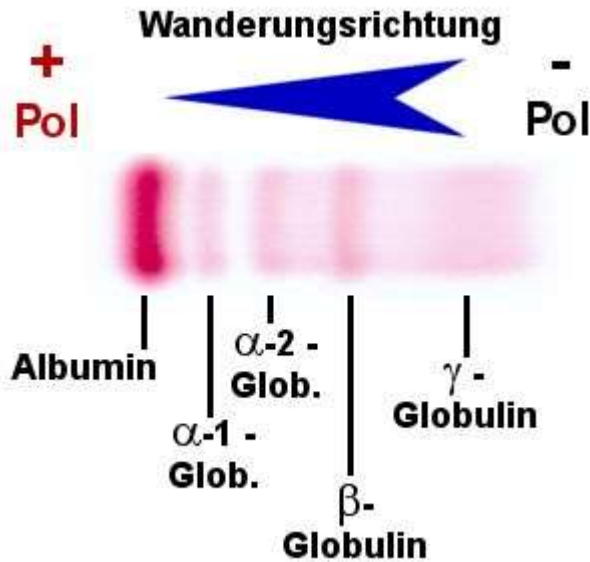
PROFILE	
<input type="checkbox"/>	Reiseinfektion akut 1) S+E+A Blutparasiten, Leishmania-AK, Ehrlichia-PCR <input type="checkbox"/> zusätzl. Babesien-PCR, Dirofilaria-AG
<input type="checkbox"/>	Import-Check 1) S+E+A Blutparasiten, Leishmania-AK, Ehrlichia canis-AK <input type="checkbox"/> zusätzlich Babesien-AK, Mikrofilarien (KNOTT)
<input type="checkbox"/>	Leishmaniose S+E+A ALB, TP, UREA, CREA, Blutbild inkl. Diff., Leish-AK
<input type="checkbox"/>	Einheimische Zeckeninfektion S+E+A Blutparasiten, Borrelien-WB, Anaplasma-PCR
<input type="checkbox"/>	Feline hämotrophe Mycoplasmen E M. haemofelis, Candidatus m. haemominutum, Candidatus m. turicensis (PCR)
<input type="checkbox"/>	Canine hämotrophe Mycoplasmen E M. haemocanis, Candidatus m. haemoparvum (PCR)
<input type="checkbox"/>	FIP-Profil S+E+A Blutbild inkl. Diff., ALB/GLOB-Quot., Titer <input type="checkbox"/> zusätzl. FIV <input type="checkbox"/> zusätzl. FeLV
<input type="checkbox"/>	Profil Viren Katze S/HP/EP FeLV(AG), FIV(AK), FCoV(AK)
<input type="checkbox"/>	Profil Augenabstrich Katze Tu FHV-PCR, Chlamydia-PCR <input type="checkbox"/> zusätzlich Mycoplasma-PCR
<input type="checkbox"/>	Profil Rachenabstrich Tu FHV-PCR, Chlamydia-PCR <input type="checkbox"/> zusätzlich Mycoplasma-PCR <input type="checkbox"/> zusätzlich Calizi-PCR

Typische Laborbefunde

- **Hyperproteinämie**
überschießende Bildung von Immunglobulinen als Folge einer B-Zell-Stimulation
- **Hypalbuminämie**
Proteinverlust infolge einer Niereninsuffizienz oder die erniedrigte Lebersyntheseleistung
- **erniedrigten Albumin/Globulin-Quotienten**

Elektrophorese

- deutliche **polyklonale Hypergammaglobulinämie**

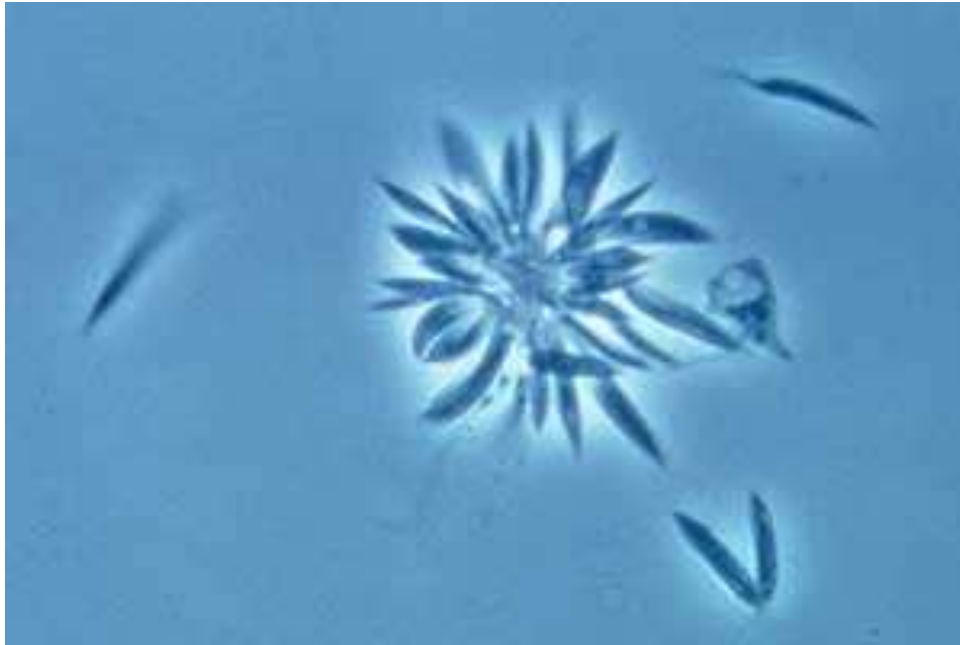




Typische Laborbefunde

- regenerative Anämie
- Thrombozytopenie
- Leukopenie
- Nieren- und Leberenzyme erhöht
- Proteinurie

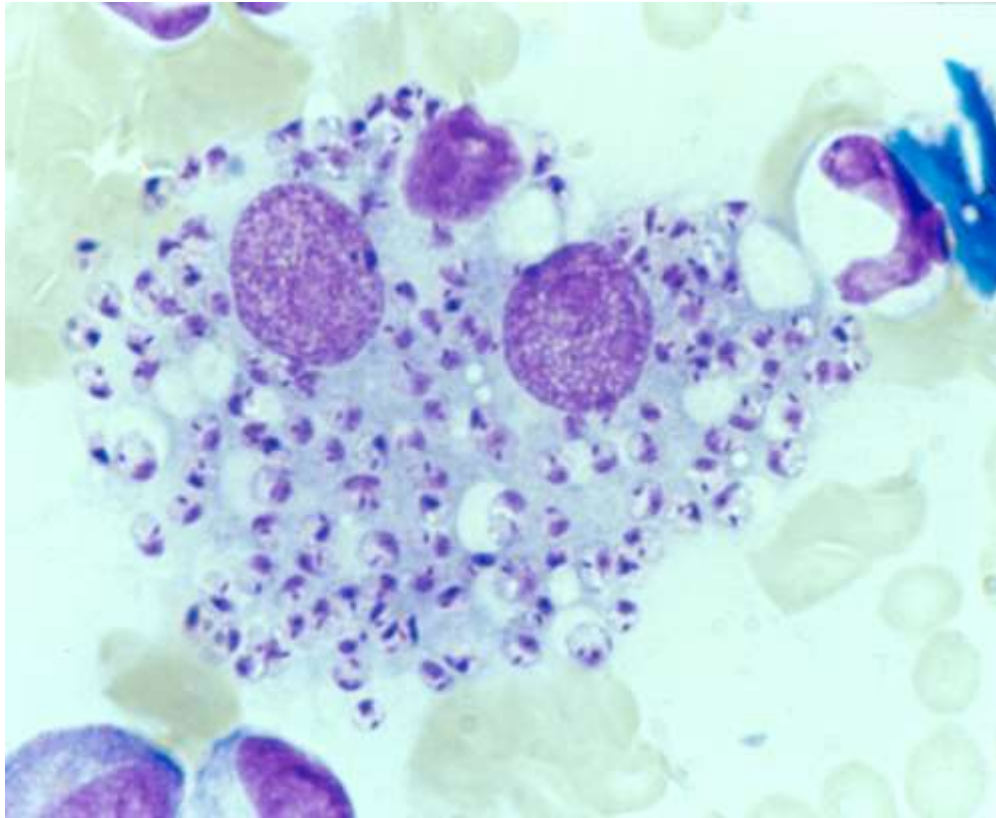
Kultur

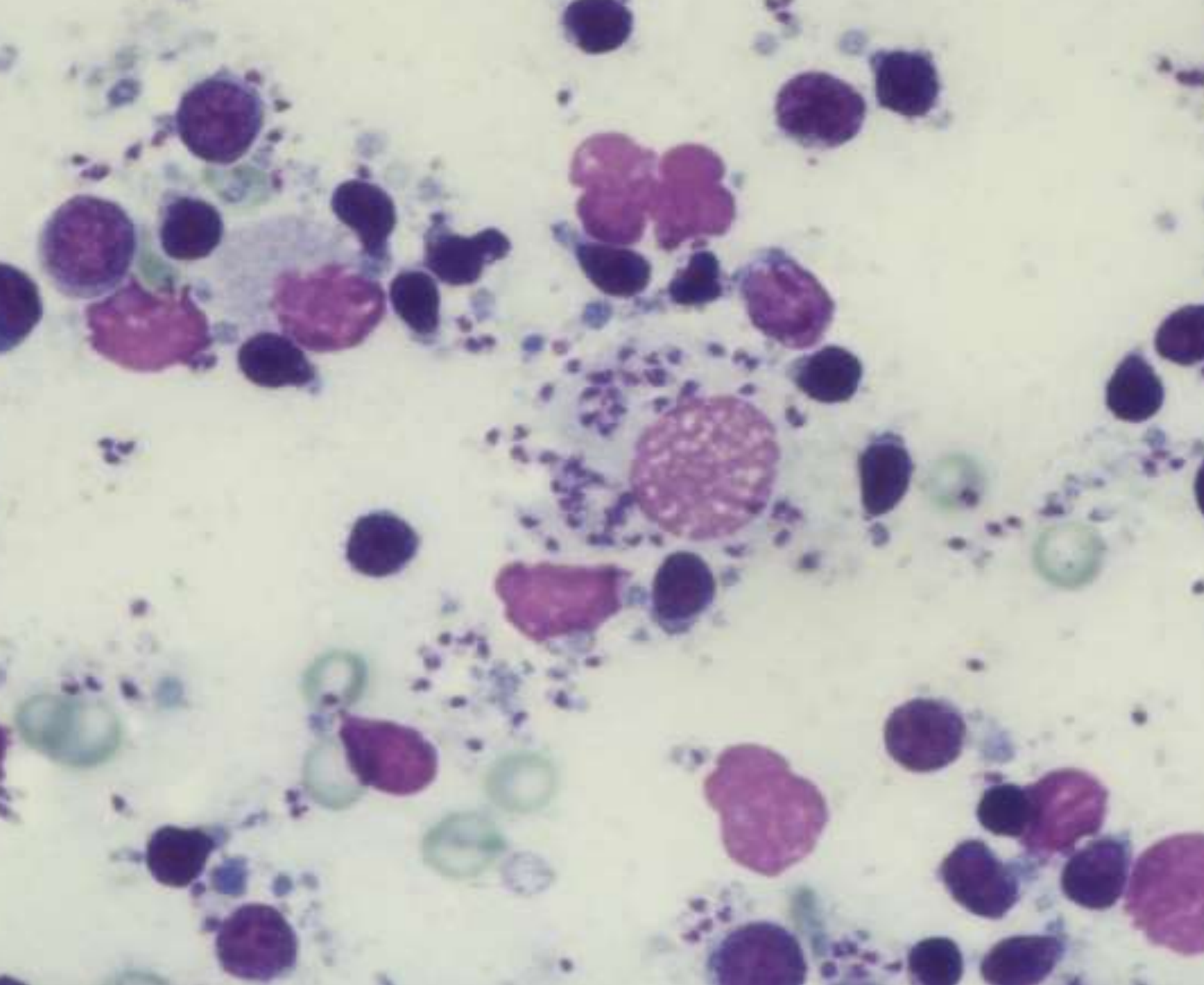


- extrem aufwendig
- dauert lange
- wichtig für Sub-Typisierung
- Nur in wenigen Speziallabors möglich



Zytologie





- KM-Punktat
 - LK-Punktat
 - Hauläsionen: Abklatschpräparat
 - Konjunktivalabstrich
 - Eventuell Histologie mit Immunhistologie
- Hier detektiert man jeweils die amastigoten Stadien

- **Vorteile**

- Direktnachweis

- nicht invasiv

- Ausschluss anderer DD

- direkt in betroffenem Gewebe

- **Nachteile**

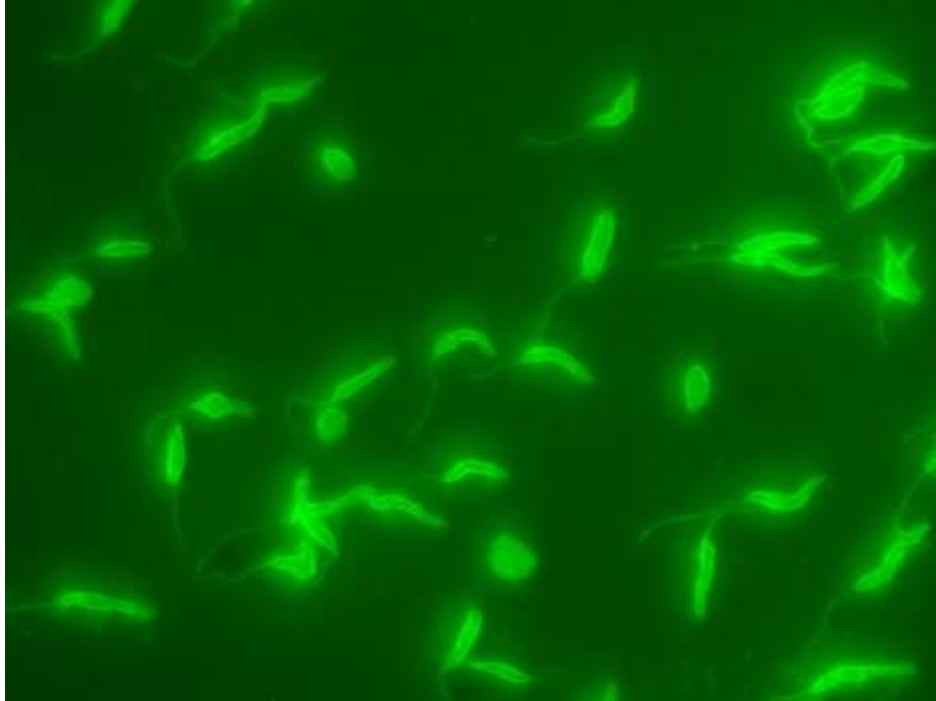
- nicht sehr sensitiv

- oft andere Methoden nötig

- nur von Experten durchführbar

- keine Info über Immunstatus des Patienten

Serologie



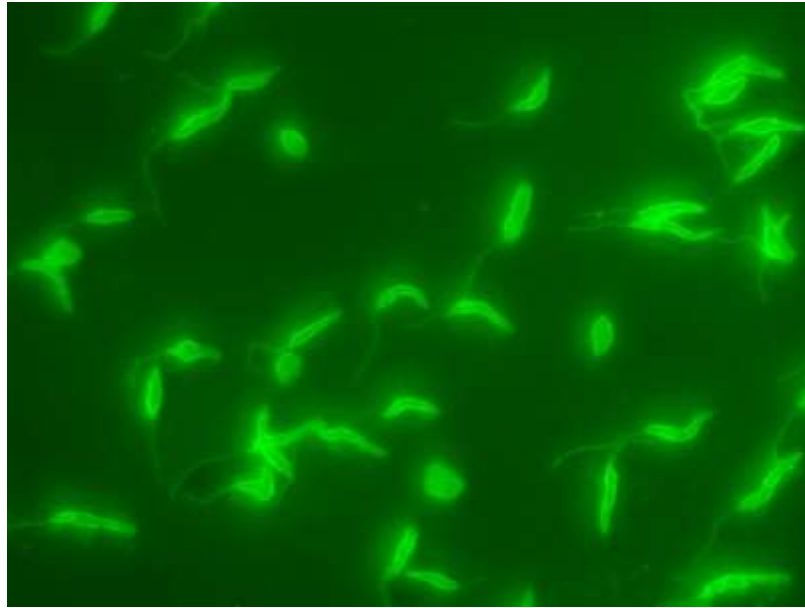
Praxisschnelltest

- **Vorteile**
 - schnell
 - in der Praxis
 - detektiert Tiere mit hohem Titer



- **Nachteile**
 - nicht sehr sensitiv
 - nur ja/nein Ergebnis
 - Gefahr von falsch negativen
 - Positive Tiere müssen bestätigt werden

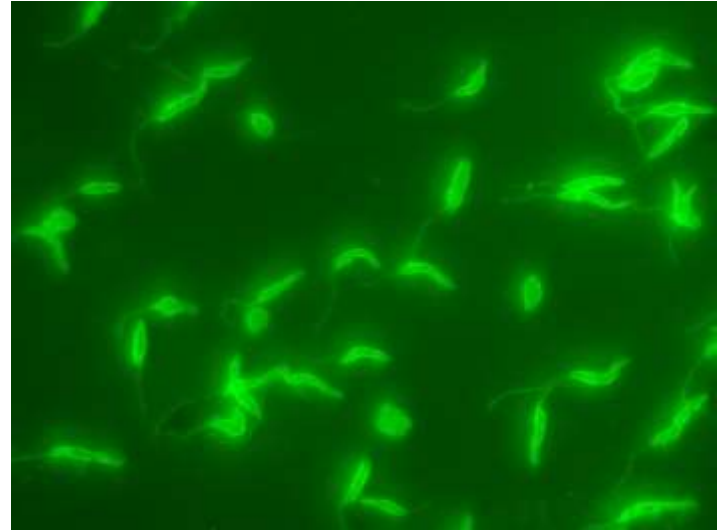
IFAT oder ELISA



Antikörpertiter

- **Vorteile**

- sehr spezifisch
 - man sieht die Zellen



- **Nachteile**

- Interpretation braucht Erfahrung/Fachpersonal
 - aufwendiger (Kosten und Zeit)
 - Handmethode

Zahlenwert (LM-Einheiten)

- **Vorteile**
 - günstig
 - automatisierbar
 - neutrale Bewertung

- **Nachteile**
 - anfällig für Kreuzreaktionen



Ab wann ist Serologie möglich?

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

Impftiter

- Nach der Impfung mit CaniLeish® sind vorübergehend AK nachweisbar, die bei einigen Hunden auch über Monate anhalten können
- Impf- und Infektions-AK sind serologisch derzeit nicht zu unterscheiden

PCR



Serologie und PCR im Vergleich

Serologie

- indirekte Nachweismethode
- „Antikörpertiter“/ELISA-Wert : kein absoluter Wert
 - Untersuchungsmethode
 - Durchführung und interne Bewertung→ Ergebnis und Interpretation Labor-abhängig
- Serokonversion oft erst sehr verzögert
- Kreuzreaktivität
- Impfung

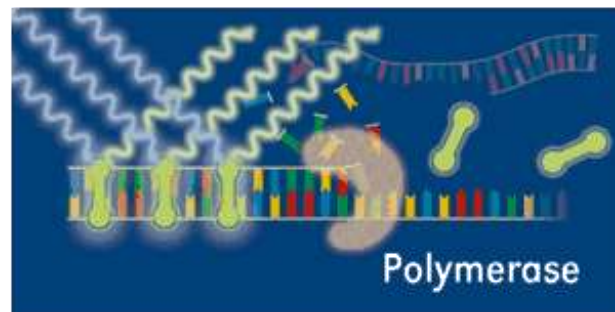
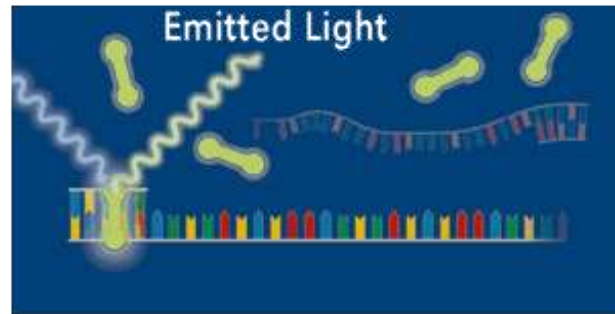
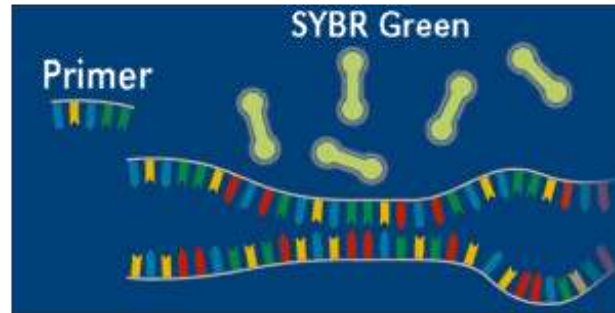
PCR

- direkte Nachweismethode: Erregergenomnachweis
- hohe Spezifität
- hohe Sensitivität
- unabhängig von der Immunantwort
- schnell
- geeignet als Therapiekontrolle

PCR - Grenzen

- **falsch positiv** (Kontaminationsgefahr)
- **falsch negativ** (Hemmstoffe, DNA-Menge, Material)
- Speziallabors notwendig
- geeignetes Probenmaterial
- Nachweis von kleinsten Erregermengen bzw. auch abgestorbene Erreger
- Preis

Light Cycler System

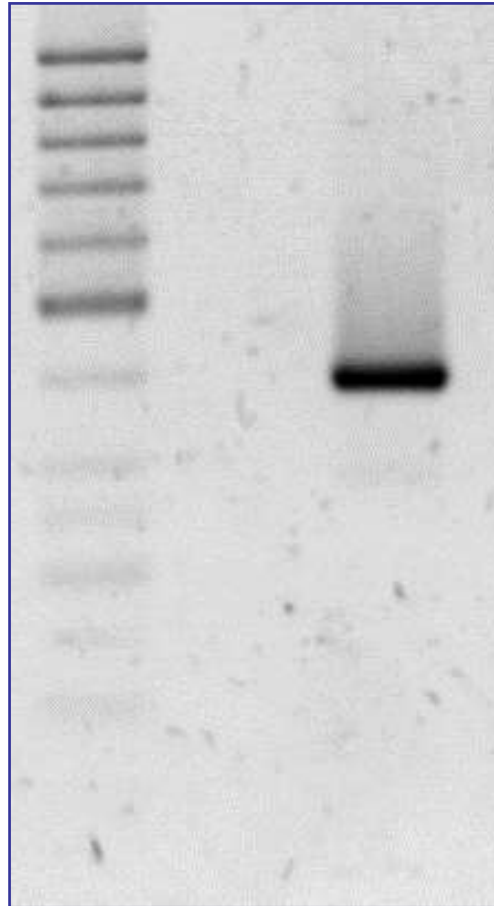


Geschlossenes System



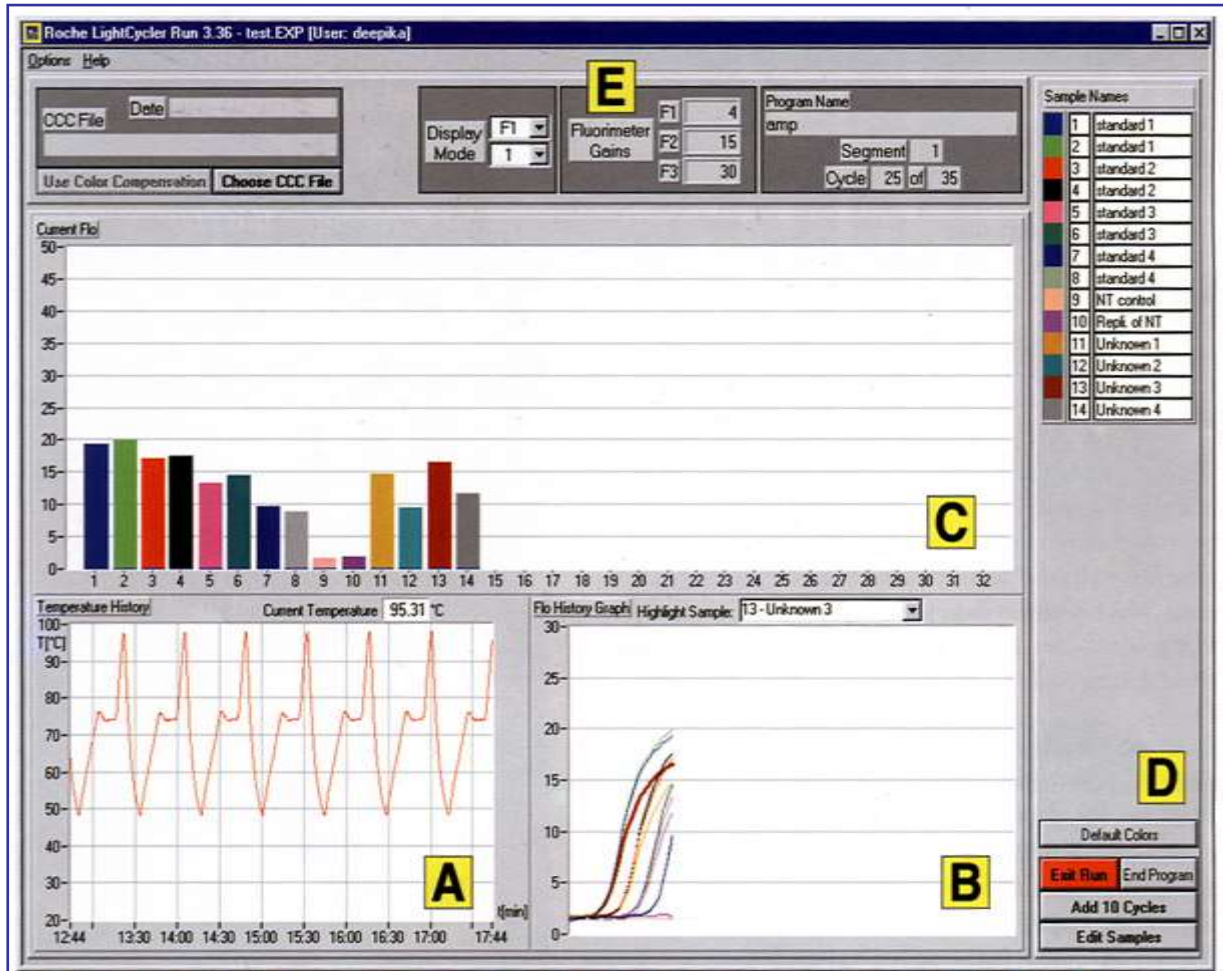
Auswertung - früher

Agarose-
Gelelektrophorese



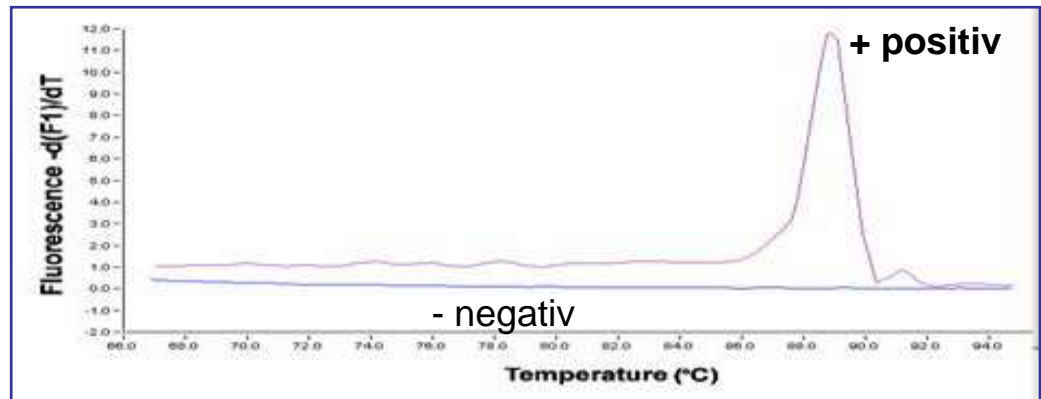
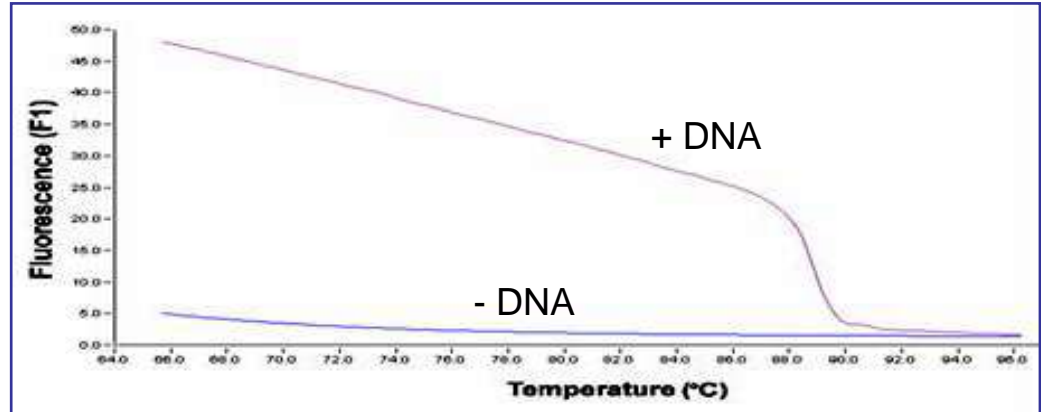
Marker - +
 DNA

Real Time PCR



Auswertung - heute

Schmelzkurven-Analyse



PCR - Grenzen

- ~~falsch positiv (Kontaminationsgefahr)~~
- ~~falsch negativ (Hemmstoffe, DNA-Menge)~~
- Speziallabors notwendig
- geeignetes Probenmaterial
- Nachweis von kleinsten Erregermengen bzw. auch abgestorbene Erreger
- ~~Preis~~

- KM-Punktat
- LK-Punktat
- Milz-Punktat
- Hauläsionen: Abklatschpräparat
- Konjunktivalabstrich

→ EDTA-Blut und Urin machen sehr wenig Sinn!

- Jahr 2005 in Italien gegründete Vereinigung von Experten
- Durch standardisierte Kriterien sollen den praktizierenden Tierärzten die Diagnose und die Behandlung nach neuesten wissenschaftlichen Empfehlungen erleichtert werden

www.leishvet.info

Wann sollte man therapieren?

Klasse	Serologie	klinische Symptome	Labordiagnostische Veränderungen
Klasse 1: milde Erkrankung	negativ bis leicht positiv	milde klinische Symptome wie periphere Lymphknotenschwellung oder papuläre Der- matitis	Keine Kreatinin < 1,4 mg/dl UPC < 0,5
Klasse 2: moderate Erkrankung	leicht bis hoch positiv	klinische Symptome wie in Klasse 1 plus andere Symptome wie: ▶ Hautveränderungen wie exfoliative Dermati- tis, Onychogryphosis, Ulzerationen (Nasen- spiegel, Pfotenballen, Knochenvorsprünge, Übergang Haut-Schleimhaut) ▶ Anorexie ▶ Fieber ▶ Gewichtsverlust ▶ Nasenbluten	Hyperproteinämie Hypalbuminämie Anämie Subklasse A: Kreatinin < 1,4 mg/dl UPC < 0,5 Subklasse B: Kreatinin < 1,4 mg/dl UPC = 0,5–1
Klasse 3: schwere Erkrankung	mittel bis hoch positiv	klinische Symptome wie in Klasse 1 und 2 plus Immunkomplexerkrankungen wie: ▶ Vaskulitis ▶ Arthritis ▶ Uveitis ▶ Glomerulonephritis	Hyperproteinämie Hypalbuminämie Anämie Chronische Niereninsuffizienz Klasse I oder II: Kreatinin 1,4–2 mg/dl und/oder UPC > 1
Klasse 4: sehr schwere Erkrankung	mittel bis hoch positiv	klinische Symptome wie in Klasse 3 plus andere Probleme wie: pulmonale Thromboembolien nephrotisches Syndrom Nierenversagen	Hyperproteinämie Hypalbuminämie Anämie Chronische Niereninsuffizienz Klasse III: Kreatinin 2–5 mg/dl und/oder UPC = 1–5 Chronische Niereninsuffizienz Klasse IV: Kreatinin > 5 mg/dl und/oder UPC > 5 (nephrotisches Syndrom)



- 2006 gegründete Vereinigung europäischer Veterinärparasitologen
- Ziel: fundierte Informationen zur Verfügung zu stellen, um Hunde, Katzen und Menschen vor einem Befall mit Parasiten und dessen Folgen zu schützen

www.esccap.de

Therapiekontrolle

PROFILE	
<input type="checkbox"/>	Reiseinfektion akut 1) S+E+A Blutparasiten, Leishmania-AK, Ehrlichia-PCR <input type="checkbox"/> zusätzl. Babesien-PCR, Dirofilaria-AG
<input type="checkbox"/>	Import-Check 1) S+E+A Blutparasiten, Leishmania-AK, Ehrlichia canis-AK <input type="checkbox"/> zusätzlich Babesien-AK, Mikrofilarien (KNOTT)
<input type="checkbox"/>	Leishmaniose S+E+A ALB, TP, UREA, CREA, Blutbild inkl. Diff., Leish-AK
<input type="checkbox"/>	Einheimische Zeckeninfektion S+E+A Blutparasiten, Borrelien-WB, Anaplasma-PCR
<input type="checkbox"/>	Feline hämotrophe Mycoplasmen E M. haemofelis, Candidatus m. haemominutum, Candidatus m. turicensis (PCR)
<input type="checkbox"/>	Canine hämotrophe Mycoplasmen E M. haemocanis, Candidatus m. haemoparvum (PCR)
<input type="checkbox"/>	FIP-Profil S+E+A Blutbild inkl. Diff., ALB/GLOB-Quot., Titer <input type="checkbox"/> zusätzl. FIV <input type="checkbox"/> zusätzl. FeLV
<input type="checkbox"/>	Profil Viren Katze S/HP/EP FeLV(AG), FIV(AK), FCoV(AK)
<input type="checkbox"/>	Profil Augenabstrich Katze Tu FHV-PCR, Chlamydia-PCR <input type="checkbox"/> zusätzlich Mycoplasma-PCR
<input type="checkbox"/>	Profil Rachenabstrich Tu FHV-PCR, Chlamydia-PCR <input type="checkbox"/> zusätzlich Mycoplasma-PCR <input type="checkbox"/> zusätzlich Calizi-PCR

Leishmaniose bei der Katze

- selten
- oft als Co-Infektion
- Häufig serologisch positiv bei Katzen aus Endemiegebieten

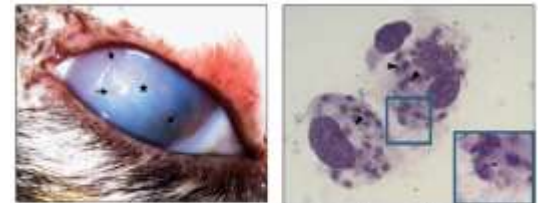


Schweizer Archiv für Tierheilkunde
© 2014 Verlag Hans Huber, Hogrefe AG, Bern

M. Richter et al., Band 156, Heft 6, Juni 2014, 289–294
DOI 10.1024/0036-7287/a000099

Diagnosis and treatment with allopurinol in a cat with leishmaniasis 289

Ocular signs, diagnosis and long-term treatment with allopurinol in a cat with leishmaniasis



M. Richter¹, D. Schaarschmidt-Kiener², C. Krudewig³

¹Eyevet.ch, Zug, ²Labor am Zugersee, Hünenberg, ³Institut für Tierpathologie, Vetsuisse Fakultät, Universität Bern