Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Point-of-Care-Tests zum Nachweis von Parvovirus-Antigen im Kot von Hunden

von Julia Arlette Walter-Weingärtner

aus Schweinfurt

München 2024

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Mitbetreuung durch:

Priv.-Doz. Dr. med. vet. Michèle Bergmann

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

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.
Berichterstatter:	Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann
Korreferent:	Priv.-Doz. Dr. Britta Dobenecker

Tag der Promotion: 10.02.2024

Meiner Oma Elfriede

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG 1

II. PUBLIKATION 1: REVIEW-ARTIKEL 3

III. PUBLIKATION 2: ORIGINAL-PUBLIKATION 33

IV. DISKUSSION 53

V. ZUSAMMENFASSUNG 64

VI. SUMMARY 66

VII. LITERATURVERZEICHNIS 68

VIII. DANKSAGUNG 76

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	Prozent
/	Geteiltzeichen
+	Pluszeichen
≥	Vergleichszeichen: größer gleich
A. phagocytophilum	*Anaplasma phagocytophilum*
A. plays	*Anaplasma platys*
B. burgdorferi	*Borrelia burgdorferi*
CVBD	canine vector-borne diseases Vektor-übertragene-Erkrankungen beim Hund
CPV	canines Parvovirus
D. immitis	*Dirofilaria immitis*
DNA	desoxyribonucleic acid Desoxyribonukleinsäure
E. canis	*Ehrlichia canis*
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay Enzym-gekoppelter Immunadsorptionstest
et al.	et alii und andere
FPV	felines Panleukopenievirus
g	Gramm
L. infantum	*Leishmania infantum*
MGB	minor groove binder
MLV	modifizierte Lebendvakzine(n)
NPW	negativer prädiktiver Wert
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
POC	Point-of-Care
PPW	positiver prädiktiver Wert
spp.	Spezies
WSAVA	World Small Animal Veterinary Association
z. B.	zum Beispiel

I. EINLEITUNG

Hunde können sich mit einer Vielzahl von Krankheitserregern, wie Bakterien, Viren und Parasiten, infizieren. Als eine der häufigsten Infektionskrankheiten gilt die canine Parvovirose, übertragen durch das canine Parvovirus (CPV), die vor allem Welpen und ungeimpfte Tiere betrifft (PARRISH et al., 1988; PARRISH et al., 1991; BUONAVOGLIA et al., 2001; GODDARD und LEISEWITZ, 2010; PROKSCH und HARTMANN, 2015). CPV ist hochansteckend und wird in großen Mengen mit dem Kot infizierter Tiere ausgeschieden (PROKSCH et al., 2015). Die Ansteckung erfolgt direkt durch Kontakt zu infizierten Tieren oder indirekt durch Kontakt zu infektiösem Kot (CARR-SMITH et al., 1997; HOSKINS, 1997; PROKSCH et al., 2015). Erkrankte Hunde zeigen gastrointestinale Symptome, darunter Anorexie, Durchfall und Erbrechen (MACINTIRE und SMITH-CARR, 1997; DECARO et al., 2005b; GODDARD und LEISEWITZ, 2010). Häufig kommt es bei schweren Verlaufsformen zu Komplikationen mit tödlichem Ausgang, z. B. durch einen hypovolämischen Schock, Invaginationen als Folge hypo- und hypermotiler Darmschlingen oder durch Bakterientranslokation aus dem Darm und damit einhergehender Sepsis (GODDARD und LEISEWITZ, 2010; DECARO und BUONAVOGLIA, 2012; SYKES, 2014). Die Prognose für erkrankte Tiere hängt neben der Schwere des Krankheitsverlaufs und den Komplikationen wesentlich vom Therapiemanagement ab (PRITTIE, 2004; KALLI et al., 2010). Ohne Behandlung liegt die Überlebensrate bei 9 %, die von intensiv betreuten Welpen hingegen bei bis zu über 90 % (GLICKMAN et al., 1985; OTTO et al., 1997; OTTO et al., 2001). Je früher eine intensive Therapie eingeleitet wird, desto günstiger ist die Prognose (PRITTIE, 2004). Folglich ist eine zeitnahe Diagnose von entscheidender Bedeutung. Zum einen, um betroffene Tiere möglichst schnell zu therapieren, zum anderen, um sie zu isolieren, bevor wiederum andere empfängliche Tiere infiziert werden können. Als Goldstandard zur Diagnose gilt der direkte Erregernachweis mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) (DECARO et al., 2005c; DESARIO et al., 2005; DECARO et al., 2013). Da diese jedoch nur in kommerziellen Laboratorien durchgeführt werden kann und Ergebnisse erst nach 2-3 Tagen vorliegen, sind sogenannte Point-of-care-Tests (POC-Tests), die Parvovirus-Antigen im Kot von Hunden direkt vor Ort in der Praxis innerhalb weniger Minuten nachweisen können, eine wichtige Alternative.

Einige wenige dieser POC-Tests sind bereits hinsichtlich ihrer Qualität untersucht worden, zum Großteil der Tests liegen jedoch bisher keine Daten vor.

Weitere häufige Infektionskrankheiten beim Hund, die nicht nur mittels aufwändiger Laborverfahren, sondern auch durch POC-Tests diagnostiziert werden können, sind die sogenannten canine vector-borne diseases (CVBD), zu deutsch Vektor-übertragene-Erkrankungen beim Hund. Zu den wichtigsten Erkrankungen in Europa zählen *Dirofilaria* (*D.*) *immitis*, *Anaplasma* (*A.*) *phagcytophilum*, *Anaplasma* (*A.*) *platys*, *Borrelia* (*B.*) *burgdorferi*, *Ehrlichia* (*E.*) *canis* und *Leishmania* (*L.*) *infantum* (NAUCKE, 2007; CHANDRASHEKAR et al., 2010; WOLDEHIWET, 2010; VLKOVA et al., 2011; STILLMAN et al., 2014). Während *Ixodes ricinus* als Vektor von *A. phagocytophilum* und *B. burgdorferi* in Deutschland endemisch ist, sind die Vektoren der übrigen Erkrankungen ursprünglich in südlicheren Ländern beheimatet (SCHWARZ et al., 2009; DUSCHER et al., 2010). Da es in den letzten Jahren in Deutschland zu einem Anstieg dieser teils lebensbedrohlichen Infektionen gekommen ist, werden Tierärzte immer häufiger mit diesen Erkrankungen konfrontiert (MENN et al., 2010). Grund dafür ist auch, dass Hunde ihre Besitzer öfter auf Reisen ins mediterrane Ausland begleiten (GLASER und GOTHE, 1998; MENN et al., 2010; NAUCKE et al., 2011). Außerdem wird eine Vielzahl an Hunden, teilweise mit CVBD infiziert, aus dem Ausland nach Deutschland importiert (METTLER et al., 2005; HAMEL et al., 2011). Durch die klimatischen Veränderungen ist in den nächsten Jahren eine Ausbreitung der Vektoren nordwärts zu erwarten und folglich ein weiterer Anstieg der CVBD.

Daher war es Ziel der ersten Publikation, einen Überblick über die aktuell verfügbaren POC-Tests zum Nachweis von Infektionskrankheiten beim Hund zu geben und deren Einsatzgebiete sowie Limitationen aufzuzeigen.

Ziel der zweiten Publikation war es, 8 POC-Tests zum Nachweis von Parvovirus-Antigen im Kot von Hunden im Vergleich zum Goldstandard, der real-time PCR, hinsichtlich der Sensitivität, Spezifität, positivem (PPW) und negativem (NPW) prädiktivem Wert sowie Gesamtgenauigkeit zu evaluieren.

II. PUBLIKATION 1: REVIEW-ARTIKEL

Übersicht über Einsatzmöglichkeiten von In-house-Tests zum Nachweis von systemischen Infektionskrankheiten beim Hund

Julia Walter-Weingärtner

Kleintierklinik der LMU, Zentrum für klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland

Michèle Bergmann

Kleintierklinik der LMU, Zentrum für klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland

Katrin Hartmann

Kleintierklinik der LMU, Zentrum für klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland

Akzeptiert in der „Tierärztlichen Praxis“ am 27.09.2023

Übersicht über Einsatzmöglichkeiten von *In-house*-Tests zum Nachweis von systemischen Infektionskrankheiten beim Hund

Schlüsselwörter: Kanine, Schnelltest, *Point-of-care*-Test, Antigen, Antikörper

Zusammenfassung

Zum Nachweis von Infektionskrankheiten existieren neben den in kommerziellen Laboratorien durchführbaren Verfahren auch sogenannte *Point-of-care*- (POC-) oder *In-house*-Tests. Diese basieren auf einem *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) oder anderen immunchromatographischen Testprinzipien und liefern binnen weniger Minuten direkt vor Ort ein Testergebnis. Dieser Artikel gibt einen Überblick über die Qualität der zahlreichen POC-Tests verschiedener Hersteller zum Nachweis von Parvovirus-Antigen im Kot, Antigen von *Dirofilaria (D.) immitis* im Blut sowie zum Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia (B.) burgdorferi*, *Anaplasma* (*A.*) spp., *Ehrlichia* (*E.*) spp., *Leptospira (L.)* spp. und *Leishmania (L.) infantum* im Blut (einzeln oder in Kombinationen). Entscheidend für den Nutzen der Tests sind ihre Sensitivität und Spezifität. Auch muss das Vorhandensein von Antikörpern oder der Nachweis von Antigen mit dem Auftreten einer klinischen Erkrankung einhergehen. POC-Tests zum Nachweis von Parvovirus-Antigen im Kot besitzen zwar eine sehr hohe Spezifität, die Sensitivität aller evaluierten Tests ist jedoch sehr niedrig. Die POC-Tests zum Nachweis von *D. immitis* besitzen eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität. Da sie Antigen aus dem Uterus adulter, weiblicher Tiere nachweisen, ist der Test jedoch negativ, wenn keine oder zu wenig adulte, weibliche Dirofilarien vorhanden sind. Der POC-Test zum Nachweis von *B.-burgdorferi*-Antikörpern zeigt nur den Erregerkontakt an und nicht die klinische Erkrankung, da das Auftreten von Antikörpern nur in seltensten Fällen mit einer Erkrankung einhergeht. Ebenso ist der POC-Test zum Nachweis von Antikörpern gegen *A. phagocytophilum* zur Diagnose einer klinischen Anaplasmose ungeeignet, da auch diese Infektion nur selten zur Erkrankung führt und wenn, dann Symptome in der Regel vor Ausbildung der Antikörper auftreten. Zum Nachweis von Antikörpern gegen *E. canis* zeigen die POC-Tests eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität. POC-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *L. infantum* und *Leptospira*-Spezies (spp.) besitzen ebenfalls eine sehr hohe Spezifität und eine hohe Sensitivität. Jedoch kann es bei Letzteren zu positiven Ergebnissen nach einer Impfung kommen, da die Tests nicht zwischen Feld- und Impfantikörpern unterscheiden können.

Overview on application of In-house tests for detection of systemic infectious diseases in dogs

Key words: canine, point-of-care test, antigen, antibody

Abstract

For detection of infectious diseases, several point-of-care (POC) tests are on the market in addition to methods performed in commercial laboratories. These POC tests are based on enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) or other immunchromatographic technologies and present results within few minutes in veterinary practice. This article gives an overview of the application of numerous POC tests of different manufacturers for detection of parvovirus antigen in faeces, *Dirofilaria (D.) immitis* antigen in blood as well as antibodies against *Borrelia* (*B.*) *burgdorferi*, *Anaplasma* (*A.*) spp., *Ehrlichia* (*E.*) spp., *Leptospira* (*L.*) spp. and *Leishmania* (*L.*) *infantum* in blood (single or in different combinations). Sensitivity and specificity of these tests are important for their usefulness in veterinary practice. Furthermore, presence of antibodies or detection of antigen has to correlate with the presence of clinical signs. POC tests for detection of canine parvovirus antigen have a very high specificity, sensitivity of all evaluated POC tests, however, is very low. POC tests for detection of *D. immitis* antigen have a very high sensitivity and specificity. As they detect antigen from the uterus of female adults, test results are negative when only very few female or only male adults are present. POC tests for detection of antibodies against *B. burgdorferi* only indicate contact with *Borrelia* spp. and not clinical Lyme disease, as infection causes clinical signs only extremely rarely. POC tests for detection of antibodies against *A. phagocytophilum* are also not suitable for diagnosis of clinical anaplasmosis. Infections with *A. phagocytophilum* only lead to clinical disease in very rare cases and in these, clinical signs occur before developing antibodies. POC tests for detection of antibodies against *E. canis* have a very high sensitivity as well as specificity. POC tests for detection of antibodies against *L. infantum* and *Leptospira* species (spp.) show a very high specificity and a high sensitivity. However, *Leptospira* spp. antibody-positive results can occur after vaccination, as the POC tests cannot distinguish between field and vaccination strains.

Einleitung

Zahlreiche Erreger, wie Viren, Bakterien und Parasiten, können Hunde infizieren. Gerade durch zunehmenden Tiertourismus und veränderte klimatische Bedingungen nehmen in Deutschland Infektionen bei Hunden zu, die zu den sogenannten „Reisekrankheiten“ zählen (1, 2). Um infizierte Tiere adäquat zu therapieren und eine Infektion anderer empfänglicher Tiere zu verhindern, ist eine zeitnahe und korrekte Diagnose wichtig.

Grundsätzlich gibt es zwei Möglichkeiten zur Diagnose einer Infektionskrankheit; den direkten und den indirekten Erregernachweis. Während der Nachweis des gesamten Erregers oder seiner Bestandteile als direkter Erregernachweis bezeichnet wird, werden beim indirekten Erregernachweis Antikörper nachgewiesen, die vom Wirt nach Erregerkontakt gebildet werden (3). Beide Nachweismöglichkeiten werden in externen Laboratorien für eine Vielzahl von Infektionserregern angeboten; bei Einsendung liegen Ergebnisse jedoch erst mit zeitlicher Verzögerung vor. Gerade bei einer akut lebensbedrohlichen Infektion, wie z. B. Parvovirose oder Leptospirose, kann dies für betroffene Tieren einen erheblichen Nachteil darstellen. Auch bei Tieren, die aufgrund einer Infektion mit *E. canis* eine Thrombozytopenie und damit erhöhte Blutungsneigung zeigen, ist eine zeitnahe Diagnose zur raschen Therapie unerlässlich (4). Als Alternative gibt es *Point-of-care*-Tests (POC-Tests) zur Anwendung in der tierärztlichen Praxis, deren Ergebnisse binnen einiger Minuten ausgewertet werden. Diese POC-Tests basieren entweder auf dem Prinzip eines *Enzyme-Linked Immunosorbent Assays* (ELISA) oder eines ähnlichen immunchromatographischen Verfahrens (*Lateral-flow*-Tests). Es gibt Antikörper- und Antigen-basierte ELISAs, die dementsprechend Antigene und Antikörper nachweisen können. Antikörper oder spezifische Antigene sind im Schnelltest fixiert und binden an Antigen bzw. Antikörper der jeweiligen Probe. Ein zweiter, enzymgebundener Antikörper oder ein zweites, enzymgebundenes Antigen dient als Signalantikörper bzw. Signalantigen, dessen enzymatische Reaktion mit der Probe zu einem Farbumschlag und somit einem sichtbaren Punkt oder einer Linie im Falle eines positiven Testergebnisses führt (5). *Lateral*-flow-Tests beruhen auf einem ELISA-ähnlichen Prinzip. Mithilfe eines Latex- oder Gold-markierten Peptids werden Antikörper oder Antigene der Probe gebunden. Die hierdurch entstandenen Antigen-Antikörper-Komplexe wandern entlang einer Nitrozellulosemembran und werden durch Membran-fixierte Sekundärantikörper im Ergebnisbereich fixiert und im positiven Fall als Bande sichtbar. Wichtige Parameter bei der Beurteilung der POC-Tests stellen die Sensitivität (Anteil der krank getesteten Patienten, die korrekt als solche erkannt werden), die Spezifität (Anteil der gesund getesteten Patienten, die korrekt als solche erkannt werden) sowie der positive prädiktive Wert (Anteil der krank getesteten Patienten, die auch tatsächlich krank sind) als auch der negative prädiktive Wert (Anteil der gesund getesteten Patienten, die auch tatsächlich gesund sind) dar (6).

Dieser Artikel soll eine Übersicht über die aktuell verfügbaren POC-Tests zur Diagnose von Infektionskrankheiten beim Hund geben und deren Einsatzgebiete sowie ihre Limitationen als Hilfestellung für die tierärztliche Praxis darstellen.

1. Nachweis von Antigen caniner Parvoviren im Kot

Die canine Parvovirose ist eine hochkontagiöse Durchfallerkrankung beim Hund, die vor allem bei Welpen auftritt und bei diesen häufig tödlich verläuft (7). Erreger sind die caninen Parvovirus-Subtypen CPV-2a, -2b und -2c (8-10). Eine Infektion erfolgt meist oronasal durch Kontakt zu infizierten Tieren oder deren Kot (11, 12). Um infizierte Hunde möglichst schnell zu isolieren, bevor diese andere empfängliche Tiere infizieren, und den Hunden die notwendige Intensivtherapie zukommen zu lassen, ist eine schnelle und zuverlässige Diagnose unerlässlich.

Als Goldstandard gilt die real-time-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) aus Kot (13-15). Diese kann jedoch nur in spezialisierten Laboren durchgeführt werden, weshalb das Ergebnis in der Regel erst nach 2–3 Tagen vorliegt. Alternativ dazu sind zahlreiche POC-Tests verfügbar, die CPV-2a-, -2b- und -2c-Antigen im Kot binnen weniger Minuten nachweisen können (16). Diese POC-Tests wurden bereits in verschiedenen Studien hinsichtlich ihrer Sensitivität und Spezifität evaluiert (Tabelle 1).

Tabelle 1 Vergleich verschiedener *Point-of-care*-Tests zum Nachweis von Antigen caniner Parvoviren im Kot von Hunden

Table 1 Comparison of different point-of-care tests for detection of canine parvovirus antigen in faeces of dogs

Test/Studie	Sensitivität in %	Spezifität in %	Proben-anzahl	Referenz-methode
Snap® Parvo[1]				
Schmitz et al., 2009	18	100	100	PCR
Decaro et al., 2010	80 (CPV-2a) 78 (CPV-2b) 77 (CPV 2c)	n. a.	201	*real-time*-PCR
Proksch et al., 2015	49	n. a.	80	*real-time*-PCR
Walter-Weingärtner et al., 2021	31	100	150	*real-time*-PCR
Fassisi® Parvo[2]				
Walter-Weingärtner et al., 2021	26	100	150	*real-time*-PCR
Primagnost® Parvo H + K[3]				
Walter-Weingärtner et al., 2021	24	100	150	*real-time*-PCR
FASTest® PARVO Card[4]				
Schmitz et al., 2009	16	100	100	PCR
Walter-Weingärtner et al., 2021	23	100	150	*real-time*-PCR
Vetexpert Rapid Test CPV Ag®[5]				
Walter-Weingärtner et al., 2021	34	100	150	*real-time*-PCR
Anigen Rapid CPV Ag Test Kit®[6]				
Walter-Weingärtner et al., 2021	33	100	150	*real-time*-PCR
ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit[7]				
Walter-Weingärtner et al., 2021	30	100	150	*real-time*-PCR
WITNESS® Parvo[8]				
Schmitz et al., 2009	26	95	100	PCR
Decaro et al., 2013	65	100	150	*real-time*-PCR
Walter-Weingärtner et al., 2021	30	100	150	*real-time*-PCR

[1] IDEXX, Westbrook, USA; [2] Fassisi, Göttingen, Deutschland; [3] Dechra-Albrecht, Aulendorf, Deutschland; [4] Megacor, Lindau, Deutschland; [5] Vetexpert, Wien, Österreich; [6] Bionote, Dongtan, Südkorea, [7] Biogal, Ghaled, Israel; [8] Zoetis, Parsippany, USA

PCR, Polymerase-Kettenreaktion; n. a., nicht angegeben

Die Sensitivität, der in diesem Fall entscheidende Parameter, lag in den Studien nur zwischen 15,8 % und 80,4 % im Vergleich zur PCR (13, 15-18). Eine Studie von Schmitz et al. (2009)

verglich den IDEXX Snap® Parvo, den FASTest® Parvo Strip und den WITNESS® Parvo bei 3 Gruppen von Hunden (Hunde mit akutem hämorrhagischem Durchfall, Hunde mit chronischem Durchfall, Hunde ohne gastrointestinale Symptome) mit der PCR. Alle PCR-positiven Kotproben der Hunde mit chronischem Durchfall oder ohne gastrointestinale Symptome waren in den POC-Tests falsch-negativ (17). In einer Studie von Proksch et al. (2015) zeigte der IDEXX Snap® Parvo bei 51,3 % der PCR-positiven Hunde ein falsch-negatives POC-Testergebnis. Hunde mit falsch-negativen POC-Testergebnissen waren signifikant kürzer erkrankt, setzten signifikant seltener Kot ab und hatten signifikant höhere Antikörper im Serum sowie eine signifikant niedrigere Viruslast im Kot im Vergleich zu Hunden mit korrekt-positivem POC-Testergebnis (19).

Als Grund für die niedrige Sensitivität der einzelnen POC-Tests werden verschiedene Ursachen diskutiert. Zum einen führen Kotproben mit geringen Viruslasten zu falsch-negativen Testergebnissen, was die vergleichsweise niedrige Sensitivität in der Studie von Schmitz et al. (2009) und Walter-Weingärtner et al. (2021) erklärt. Hier wurden nicht nur Kotproben von Hunden mit akuter Durchfallsymptomatik, sondern auch Kotproben chronisch kranker (Schmitz et al. (2009) und klinisch gesunder Hunde (Walter-Weingärtner et al. (2021) mit geringerer Viruslast eingeschlossen, welche mit den Schnelltests nicht erkannt wurden. Folglich eignen sich die POC-Tests nicht als Screeningtests für eine Ausscheidung von Parvoviren bei klinisch gesunden Hunden. Die vergleichsweise hohe Sensitivität in einer Studie von Decaro et al. (2010) lässt sich mit dem Vorselektieren der verwendeten Kotproben erklären, da nur Proben mit einer hohen Viruslast (über 10^5 DNA Kopien/g Kot) in die Untersuchung eingeschlossen wurden (16).

Weiterhin scheint auch der Zeitpunkt der Durchführung des POC-Tests einen Einfluss auf die Sensitivität zu haben. In experimentellen Studien startete die Virusausscheidung über den Kot 3–4 Tage nach Infektion (20, 21), wobei die Viruslast 4–7 Tage nach Infektion am höchsten war (9, 20). Somit ist es möglich, dass in sehr frühen Krankheitsstadien infizierte Tiere lediglich per PCR und nicht per POC-Test ermittelt werden können. Bei solchen Patienten lohnt es sich, den POC-Test nach einigen Tagen zu wiederholen. Eine weitere Ursache für falsch-negative POC-Testergebnisse ist das Vorhandensein von Serum-Antikörpern, die in den Darm übertreten und dort an das Antigen binden, weshalb das Antigen folglich nicht mehr durch die POC-Tests erkannt werden kann (19).

Zu berücksichtigen sind, trotz der sehr hohen Spezifität der POC-Tests, mögliche positive Testergebnisse nach einer Impfung mit modifizierten Lebendimpfstoffen gegen Parvovirose. Jedoch existiert keine Studie, die positive POC-Testergebnisse infolge einer Ausscheidung von Impfvirus belegt. Im Gegenteil zeigten Decaro et al. (2014), dass bis zu 22 Tage nach Impfung zwar positive PCR-Ergebnisse auftraten, der WITNESS® Parvo jedoch bei allen Hunden ein negatives Testergebnis zeigte (22). Eine mögliche Ursache hierfür ist, dass nach

Impfung lediglich geringe Virusmengen ausgeschieden werden, die aufgrund der niedrigen Sensitivität der POC-Tests nicht nachgewiesen werden können (19, 22). Zur eindeutigen Diagnosestellung ist in solchen Fällen die Sequenzierung zur Unterscheidung von Impf- und Feldvirus notwendig.

In Summe erweisen sich die POC-Tests zum Nachweis von Parvovirus-Antigen als sinnvolle Alternative zur PCR. Ein positives Schnelltestergebnis kann eine Infektion sehr zuverlässig nachweisen. Aufgrund der geringen Sensitivität der POC-Tests sollte bei verdächtigen Tieren mit einem negativen POC-Testergebnis und bei Tieren mit chronischem Durchfall aber in jedem Fall eine PCR zur Bestätigung der Diagnose und Vermeidung einer Ansteckung anderer Tiere durchgeführt werden.

2. Nachweis von *Dirofilaria-immitis*-Antigen im Blut

D. immitis ist ein Parasit, der durch Stechmücken übertragen wird und bei Hunden die schwerwiegende Herzwurmerkrankung verursachen kann (23). In Europa ist er in südlichen (Italien, Spanien, Portugal, südliche Regionen Frankreichs, Griechenland und der Türkei) sowie in östlichen Ländern (Rumänien, Bulgarien, Ungarn, Serbien, Kroatien, Tschechien und Albanien) endemisch (24-36).

Der Nachweis von *D. immitis* erfolgt als direkter Erregernachweis entweder durch das Detektieren von Mikrofilarien mikroskopisch direkt in Blutausstrichen oder nach Anreicherung mittels Knott- oder Filtermethode, mittels *real-time*-PCR, mittels Antigennachweis in kommerziellen Laboratorien oder aber als POC-Tests (37). Allerdings sind, je nach Studie, bei 11–48 % der infizierten Hunde keine Mikrofilarien im Blut nachweisbar (okkulte Infektion) (38-40).

Der Nachweis mittels POC-Test basiert auf der Detektion von Antigen aus dem Uterus adulter Weibchen mittels ELISA oder *Lateral-flow*-Tests (41, 42). Den POC-Tests wurde in zahlreichen Studien sowohl eine exzellente Sensitivität als auch Spezifität bescheinigt (Tabelle 2) (23, 43-46). In einer Studie von Henry et al. (2018) wurden 5 POC-Tests (Anigen Rapid One Step® [Bionote]), SNAP® 4Dx Plus Test Kit [IDEXX], WITNESS® Heartworm Canine Heartworm Antigen Test Kit [Zoetis], VetScan® Canine Heartworm Rapid Test [Abaxis] und der Solo Step® CH Canine Heartworm Antigen Test [Heska]) hinsichtlich Sensitivität und Spezifität bei unterschiedlichen Wurmlasten verglichen (39). Bereits ab einer Wurmlast von 1 adulten Weibchen besaßen alle 5 Schnelltests eine Sensitivität von mindestens 94 %, bei einer Wurmlast von mindestens 6 adulten Weibchen lag die Sensitivität bei 98 % und höher (39). Um die Anzahl an falsch-negativen POC-Testergebnissen zu reduzieren, können die Proben vor der Analyse einer Hitzebehandlung unterzogen werden. Hierdurch können komplexgebundene Antigene gelöst und folglich detektiert werden (47).

Tabelle 2 Vergleich kommerzieller *Point-of-care*-Tests zum Nachweis von *Dirofilaria-immitis*-Antigen im Vergleich zu Sektion und in Laboratorien durchgeführtem *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* im Blut von Hunden

Table 2 Comparison of commercially available point-of-care tests for detection of *Dirofilaria immitis* antigen compared to necropsy and laboratory enzyme-linked immunosorbent assay in blood of dogs

Test/Studie	Sensitivität in %	Spezifität in %	Probenanzahl	Referenzmethode
SNAP® 4 DX Plus[1]				
Stillmann et al., 2014	99	99	360	ELISA/Sektion[5]
Chandrashekar et al., 2010	99	100	355	ELISA/Sektion[5]
SNAP® RT[1]				
Starkey et al., 2017	91	99	150	ELISA
Atkins et al., 2003	84	97	240	Sektion
VetScan CHAT®[2]				
Atkins et al., 2003	78	97	240	Sektion
Solo Step CH®[3]				
Atkins et al., 2003	79	97	240	Sektion
Witness® Heartworm Antigen test Kit[4]				
Starkey et al., 2017	97	96	150	ELISA

[1] IDEXX, Westbrook, USA; [2] Abaxis, Union City, USA; [3] Heska, Loveland, USA; [4] Zoetis, Parsippany, USA; [5] als Referenzmethode für negative Proben: ELISA, als Referenzmethode für positive Proben: Sektion

ELISA, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Folglich liefern die POC-Tests sehr zuverlässige Ergebnisse zum Nachweis einer Infektion mit *D. immitis*. Mit negativen Testergebnissen muss lediglich gerechnet werden, wenn nur männliche Adulte, eine zu geringe Anzahl von weiblichen Adulten oder nur frühe Dirofilarienstadien (in den ersten 5 Monaten nach einer Infektion) vorhanden sind (48). In diesem Fall sollte bei Verdacht der POC-Test nach 56 Monaten wiederholt werden.

3. Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi* im Blut

Infektionen mit Bakterien der Gruppe *B. burgdorferi* sensu latu, die durch *Ixodes*-Zecken übertragen werden, kommen beim Hund häufig vor, verlaufen allerdings fast immer symptomlos (43).

Zur Diagnose einer Borrelien-Infektion stehen zahlreiche direkte und indirekte Nachweisverfahren zur Verfügung, wobei der Western Blot zum Nachweis von Antikörpern als Goldstandard gilt (49-51). Direkte Verfahren, wie Erregerkultur und PCR, sind wenig aussagekräftig, da die Bakterienlast gerade im Blut häufig nur sehr gering ist (51, 52). Neben dem Western Blot stehen als Antikörper-basierte Nachweisverfahren noch der Immunofluoreszenztest (IFT) sowie diverse ELISAs, auch als POC-Tests, zur Verfügung. Nachteile des IFT stellen die mangelnde Standardisierung des Testverfahrens, die Kreuzreaktivität mit anderen Antikörpern, z. B. gegen *Leptospira* spp., und die fehlende Möglichkeit der Unterscheidung zwischen Feld- und Impfantikörpern dar (53, 54). Herkömmliche ELISA-basierte Verfahren (auch als POC-Tests) können ebenfalls nicht zwischen Feld- und Impfantikörpern unterscheiden. Außerdem treten bei diesen Testverfahren noch Wochen bis Monate nach einer antibiotischen Therapie positive Testergebnisse auf (52). Ein positiver Antikörpertest zeigt somit generell nur den Kontakt zu *Borrelia* spp. an und diagnostiziert nicht die Erkrankung (55).

Seit einiger Zeit gibt es POC-Tests auf Basis eines ELISAs zum Nachweis von Antikörpern gegen das spezifische Peptid C_6 im Blut (IDEXX SNAP® 4 DX, IDEXX SNAP® 4 DX Plus). Dieses Peptid ist eine von 6 nicht variablen Regionen innerhalb der zentralen Domäne des VlsE-Proteins der Borrelien und löst eine starke Immunantwort beim Hund aus (56). Ein entscheidender Vorteil des C_6-ELISA ist die fehlende Kreuzreaktion mit Antikörpern gegen andere Spirochäten, wie z. B. Leptospiren (57). Weiterhin kommt es zu keiner Kreuzreaktion mit Impfantikörpern, da C_6-Antikörper nur bei einer Feldinfektion mit Borrelien gebildet werden (58). Somit liefert dieser POC-Test auch bei gegen Borreliose geimpften Hunden zuverlässige Ergebnisse. C_6-Antikörper werden bereits 3 Wochen nach Exposition gebildet und fallen im Gegensatz zu anderen Antikörpern nach einer Therapie binnen 3 Wochen wieder ab (57, 59), weshalb dieser POC-Test auch zur Therapieverlaufskontrolle genutzt werden kann. Da der chronischen, klinischen Symptomatik einer Infektion mit *Borrelia* spp. die Bildung von Antikörpern immer vorangeht (54), schließt ein negatives C_6-ELISA-POC-Testergebnis eine klinische Borreliose definitiv aus. Somit ist der C_6-ELISA-POC-Test zum Ausschluss einer klinischen Borreliose geeignet, jedoch nicht zur Diagnose der Krankheit, da eine Infektion meist asymptomatisch verläuft. In zahlreichen Studien wurde die Aussagekraft des C_6-ELISA-POC-Tests SNAP® 4 DX Plus (IDEXX) zum Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia* spp. evaluiert (Tabelle 3) (23, 43).

Tabelle 3 Vergleich verschiedener *Point-of-care-Tests* zum Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi* im Blut von Hunden

Table 3 Comparison of different point-of-care tests for the detection of *Borrelia burgdorferi* antibodies in blood of dogs

Test/Studie	Sensitivität in %	Spezifität in %	Proben-anzahl	Referenz-methode
SNAP® 4 DX[1]				
Stillmann et al., 2014	97	99	375	IFT
Barth et al., 2014	84	99	200	WB
Goldstein et al., 2014	99	96	464	WB
Chandrashekar et al., 2010	99	100	404	IFT
AcuPlex® 4[2]				
Goldstein et al., 2014	79	73	464	WB

[1] IDEXX, Westbrook, USA; [2] Antech, Fountain Valley, USA
IFT, Immunofluoreszenztest; WB, Westernblot

Im Vergleich zu einem anderen POC-Test, dem AcuPlex® 4 (Antech Diagnostics) zum Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi*, zeigte der IDEXX SNAP® 4 DX in einer Studie von Goldstein et al. (2014) sowohl eine höhere Sensitivität als auch eine höhere Spezifität (60). In einer europäischen Studie von Barth et al. (2014) lagen die Sensitivität und die Spezifität des IDEXX SNAP® 4 DX verglichen mit dem Western Blot etwas niedriger als in den vorherigen amerikanischen Studien (51). Eine denkbare Ursache hierfür ist das Vorhandensein unterschiedlicher *Borrelia*-Stämme in Amerika und Europa. Während in Amerika nur *B. burgdorferi* sensu strictu vorkommen, gibt es in Europa vorwiegend andere Stämme (u. a. *B. garinii, B. afzelii*). Möglicherweise werden Antikörper gegen diese Stämme durch den POC-Test nicht so sicher detektiert (51).

4. Nachweis von Antikörpern gegen *Anaplasma* spp. im Blut

Hunde können von verschiedenen *Anaplasma* spp. infiziert werden, wie *A. phagocytophilum* und *A. platys*. *A. phagocytophilum*, übertragen durch *Ixodes*-Zecken, ist endemisch in Deutschland und infiziert vor allem die neutrophilen Granulozyten (61, 62). *A. platys*, übertragen durch *Rhipicephalus sanguineus*, tritt hingegen in Europa nur in südlichen Ländern, wie Frankreich, Italien, Griechenland und Spanien, auf und befällt die Thrombozyten (62-67).

Hierdurch kann es zur caninen cyclischen Thrombozytopenie mit einer einhergehenden schweren Blutungsneigung kommen (68, 69). Die meisten Tiere jedoch entwickeln nach Exposition mit *Anaplasma* spp. keine klinischen Symptome. So besitzen sehr viele Tiere Antikörper gegen *Anaplasma* spp. ohne zu erkranken. Dennoch gibt es selten Fälle von Hunden mit klinischer Symptomatik (68, 70-72). Warum nur wenige Hunde erkranken, ist noch nicht vollständig geklärt. Es wird diskutiert, ob durch genetische Variationen einige Erregerstämme von *A. phagocytophilum* pathogener sind als andere (73). *A. platys* ist pathogener als *A. phagocytophilum*, aber auch hier existieren Stämme mit unterschiedlicher Pathogenität, die daher auch unterschiedlich ausgeprägte klinische Symptome verursachen können (66, 70).

Eine Diagnose kann sowohl mittels direktem oder indirektem Erregernachweis gestellt werden. Die PCR aus Blut als direktes Nachweisverfahren gilt als sensitiv und spezifisch (74, 75). Sie ist in der Lage, den Erreger bereits in sehr frühen Stadien der Infektion nachzuweisen; bei experimentell mit *A. phagocytophilum* infizierten Hunden gelang dies bereits 2 Tage nach Infektion (76). Weiterhin kann eine akute Anaplasmeninfektion durch *Morulae* im Blutausstrich 4–14 Tage nach Infektion nachgewiesen werden (77). Da *Morulae* jedoch nicht bei allen Infektionen mit *Anaplasma* spp. vorkommen, gelten sie nur im positiven Fall als beweisend. Auch kann durch den Nachweis von *Morulae* nicht zwischen einer Infektion mit *Anaplasma* spp. und anderen Rickettsien unterschieden werden (73, 74).

Der indirekte Erregernachweis hat große Nachteile. Klinische Symptome treten, wenn sie vorkommen, bereits in der akuten Phase der Infektion nach einer Inkubationszeit von 1–2 Wochen auf (74). In einer experimentellen Studie wurden Antikörper gegen *A. phagocytophilum* mittels IFT 10–14 Tage und mittels eines POC-Tests (IDEXX SNAP® 4 DX) erst 17–30 Tage nach Infektion detektiert (76). Folglich haben Hunde zum Zeitpunkt klinischer Symptome in der Regel noch keine nachweisbaren Antikörper. Dies führt zu negativen Testergebnissen in Antikörpertests bei klinisch erkrankten Hunden (73, 78). Dasselbe Problem liegt auch bei Infektionen mit *A. platys* vor (79).

Zur *In-house*-Diagnostik stehen zahlreiche POC-Tests zur Verfügung, evaluiert wurden bisher nur der IDEXX Snap® 4DX und der 4DX Plus, die Antikörper gegen das Hauptoberflächenprotein p44 von Anaplasmen nachweisen (80). Aufgrund der Kreuzreaktivität können mit dem 4 DX Plus zusätzlich zum Nachweis von Antikörpern gegen *A. phagocytophilum* auch Antikörper gegen *A. platys* detektiert werden (23). Die Sensitivität und Spezifität des IDEXX Snap® 4 DX wurde bereits in verschiedenen Studien evaluiert; die des Snap® 4 DX Plus in einer Studie (23, 43, 60, 81). (Tabelle 4)

Tabelle 4 Vergleich des IDEXX SNAP® 4 DX und 4 DX Plus zum Nachweis von *Anaplasma-phagocytophilum-* und *-platys*-Antikörpern im Blut von Hunden mit der Polymerase-Kettenreaktion und Immunofluoreszenztest

Table 4 Comparison of IDEXX SNAP® 4 DX and 4 DX Plus for the detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma platys* antibodies in blood of dogs with polymerase chain reaction and immunofluorescence assay

Test/Studie	Sensitivität in %	Spezifität in %	Probenanzahl	Referenzmethode
SNAP® 4 DX[1] Anaplasma phagocytophilum				
Barth et al., 2014	100	57	200	PCR
Chandrashekar et al., 2010	99	100	455	IFT
SNAP® 4 DX Plus[1] Anaplasma phagocytophilum				
Stillmann et al., 2014	93	99	386	IFT
Goldstein et al., 2014	92	89	464	IFT
SNAP® 4 DX Plus[1] Anaplasma platys				
Stillmann et al., 2014	89	99	373	IFT

[1] IDEXX, Westbrook, USA

IFT, Immunofluoreszenztest; PCR, Polymerase-Kettenreaktion

In den Studien von Chandrashekar et al. (2010), Stillmann et al. (2014) und Goldstein et al. (2014) wurde der IFT als Referenzmethode verwendet. Die Sensitivitäten der POC-Tests sind zwar verglichen mit dem IFT sehr hoch, allerdings besteht auch bei dem IFT als Referenzmethode das oben beschriebene Problem des Auftretens klinischer Symptome vor Antikörperbildung und somit vor Detektierbarkeit durch beide Testverfahren. In einer Studie von Barth et al. (2014) wurde der IDEXX SNAP® 4 DX zum Nachweis von *A. phagocytophilum* mit der PCR als Referenzmethode verglichen (81). Die Sensitivität des SNAP® 4 DX betrug hier zwar 100 % im Vergleich zur PCR, jedoch waren in dieser Studie insgesamt nur 4 Hunde PCR-positiv. Hier zeigen sich ebenfalls sehr gut die Limitationen der indirekten Verfahren und somit auch der POC-Tests bezüglich der Spezifität. Zahlreiche Hunde zeigten positive Ergebnisse im IDEXX SNAP® 4 DX, obwohl sie PCR-negativ und klinisch gesund waren (81). Eine mögliche Erklärung hierfür ist ein länger vorausgegangener Kontakt zu *A. phagocytophilum* und das Auftreten persistierender Antikörper. Wie lange Antikörper nach einer Infektion im Blut zirkulieren, ist bisher noch nicht geklärt. Nach experimentellen

Infektionen mit *A. phagocytophilum* wurden Antikörper noch nach 6 Monaten (bis zum Studienende) nachgewiesen (82), bei natürlich infizierten Hunden über einen Zeitraum von einem Jahr (78).

Verbunden mit der ohnehin nur geringen Anzahl an Hunden, die nach einer Infektion klinische Symptome einer Anaplasmose zeigen, kann ein positiver POC-Test also keinesfalls als Beleg einer Erkrankung angesehen werden. Aufgrund des oben beschriebenen akuten Auftretens von klinischen Symptomen noch vor Antikörperbildung kann ein negativer POC-Test eine Infektion sowohl mit *A. phagocytophilum* als auch mit *A. platys* nicht ausschließen. Daher sind die POC-Tests nicht geeignet zum Ausschluss einer Anaplasmose. Zum Nachweis einer Infektion mit *A. phagocytophilum* sind sie ebenfalls nicht geeignet. Da eine Infektion mit *A. platys* jedoch häufiger und dann mit schwereren Symptomen einhergehen kann, sollte ein positives POC-Testergebnis für *A. platys* weiter abgeklärt werden.

5. Nachweis von Antikörpern gegen *Ehrlichia canis* im Blut

E. canis ist ein obligat intrazelluläres Bakterium, das durch *Rhipicephalus-sanguineus*-Zecken übertragen wird (23, 43). In Europa ist *Rhipicephalus sanguineus* südwärts von Zentralfrankreich in allen Mittelmeerländern einschließlich Portugal verbreitet (83). Nach einer Inkubationszeit von 2–4 Wochen kann die Infektion mit *E. canis* mit einem akuten und einem chronischen Stadium verlaufen (4, 84). Im chronischen Stadium können sich schwere klinische Symptome erst spät (nach Monaten bis Jahren) manifestieren (4, 84). Als direkte Nachweismethoden stehen die PCR sowie der Nachweis von *Morulae* zur Verfügung; beide Verfahren gelten im positiven Fall als beweisend. *Morulae* können jedoch nur in 4 % der Blutausstriche infizierter Hunde gefunden werden (85). Die PCR gilt als sehr sensitive Methode. Jedoch kann die PCR nur in spezialisierten Laboratorien durchgeführt werden und ein Ergebnis liegt erst nach einigen Tagen vor.

Als Goldstandard des Antikörpernachweises gilt der IFT (86). Antikörper gegen *E. canis* können frühestens 7 Tage nach Infektion detektiert werden, wobei einige Hunde auch 28 Tage nach Infektion noch Antikörper-negativ sind (86, 87). Ein Nachteil ist, dass bis zu einem Jahr trotz einer erfolgreichen Therapie noch Antikörper nachgewiesen werden können (88). Außerdem kann es zu Kreuzreaktionen mit anderen Rickettsien kommen (89), und der IFT kann, wie die PCR, nur in kommerziellen Laboratorien durchgeführt werden.

Zur Anwendung in der Praxis stehen zahlreiche ELISA-basierte POC-Tests zum Nachweis von Antikörpern zur Verfügung. Eine Sonderstellung nehmen die IDEXX® SNAP-Tests ein, die Antikörper gegen die äußeren Membranproteine p30 und p31 von *E. canis* detektieren (IDEXX® Snap 3 DX, 4 DX und 4 DX Plus). Der IDEXX® Snap 4DX Plus weist im Gegensatz zum 4DX nicht nur Antikörper gegen *E. canis*, sondern auch zusätzlich Antikörper gegen das

Membranprotein p28 von *E. ewingii* nach (43, 90-92). Die Qualität diverser POC-Tests wurde in zahlreichen Studien untersucht (Tabelle 5) (23, 43, 93-95).

Tabelle 5 Vergleich kommerzieller *Point-of-care*-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *Ehrlichia canis* im Vergleich zum Immunofluorezenztest im Blut von Hunden

Table 5 Comparison of commercially available point-of-care tests for detection of *Ehrlichia canis* antibodies compared to immmunofluorecence assay in blood of dogs

Test/Studie	Sensitivität in %	Spezifität in %	Probenanzahl	Referenzmethode
VetScan® FLEX4 Rapid Test[1]				
Liu et al., 2018	61	100	154	IFT
SNAP® 3DX[2]				
Harrus et al., 2002	71	100	67	IFT
Bélanger et al., 2002	79	100	97	IFT
SNAP® 4 DX[2]				
Chandrashekar et al., 2010	96	100	340	IFT
SNAP® 4DX Plus[2]				
Liu et al., 2018	97	94	154	IFT
Stillmann et al., 2014	98	92	369	IFT

[1] Abaxis, Union City, USA; [2] Idexx, Westbrook, USA
IFT, Immunofluoreszenztest

POC-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *E. canis* sind sinnvolle Alternativen zu anderen, deutlich zeitaufwendigeren Testverfahren, gerade um bei kritischen Patienten schnell eine kausale Therapie verabreichen zu können. Allerdings bestätigt ein positives POC-Testergebnis den Kontakt mit dem Erreger, nicht aber die klinische Manifestation. Da klinisch apparente Infektionen aber häufiger auftreten als beispielsweise bei einer Infektion mit *Anaplasma phagocytophilum* oder *Borrelia* spp., korreliert der Nachweis von Antikörpern deutlich besser mit dem Auftreten von klinischen Symptomen. Aufgrund der lange bestehenden Antikörpertiter eigenen sich die POC-Tests, wie andere *E. canis*-Antikörpertests auch, nicht zur Kontrolle eines Therapieerfolgs (88).

6. Nachweis von Antikörpern gegen *Leishmania infantum* im Blut

Die canine Leishmaniose wird in Europa durch den obligat-intrazellulären einzelligen Erreger *Leishmania infantum* verursacht und durch Sandmücken der Gattung *Phlebotomus* spp. übertragen (96, 97). Die Leishmaniose ist in den Ländern des Mittelmeerraumes Zypern, Griechenland, Albanien, Kroatien, Italien, Malta, Frankreich und Portugal endemisch (98-105). Aufgrund veränderter klimatischer Bedingungen kommt es zu einer vermehrten Ausbreitung von Leishmanien sowie ihrer Vektoren in nördlichere Regionen Europas (106, 107). In Deutschland treten inzwischen Sandmücken der Gattung *Phlebotomus* spp. auf und auch einzelne autochtone Fälle von caniner Leishmaniose sind beschrieben (108-110). Eine Infektion mit *L. infantum* kann schwerwiegend bis tödlich verlaufen (111). Häufig kommt es auch zu persistierenden subklinischen Infektionen (112).

Als Nachweis von *L.-infantum*-Infektionen gibt es zum einen die PCR als direkten Erregernachweis, die jedoch zeitaufwendig ist und nur in spezialisierten Laboratorien durchgeführt werden kann (111). Zum anderen gibt es für den Antikörpernachweis den IFT, Labor-ELISA sowie POC-Tests. Allerdings bilden infizierte Tiere Antikörper oft erst nach 3 Monaten, in einzelnen Fällen erst 1–3 Jahre nach einer natürlichen Infektion aus (113, 114). Einige infizierte Tiere bilden nie Antikörper (112, 114). Zur Durchführung direkt in der Praxis stehen POC-Tests zum Nachweis von Antikörpern im Blut zur Verfügung. Zahlreiche dieser POC-Tests wurden bereits evaluiert (Tabelle 6) (96, 115-119).

Tabelle 6 Vergleich kommerzieller *Point-of-care*-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *Leishmania infantum* im Vergleich zu Immunofluorezenztest und Labor-basiertem *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* im Blut von Hunden

Table 6 Comparison of commercially available point-of-care tests for detection of antibodies against *Leishmania infantum* compared to immmunofluorecence assay and laboratory enzyme-linked immunosorbent assay in blood of dogs

Test/Studie	Sensitivität in %	Spezifität in %	Proben-anzahl	Referenz-methode
FASTest LEISH® [1]				
Villanueva-Saz et al., 2019	100	99	244	ELISA + IFT
Villanueva-Saz et al., 2022	100	98	150	ELISA + IFT
Uranotest Leishmania® [2]				
Villanueva-Saz et al., 2022	96	100	150	ELISA + IFT
Uranotest Leishmania 2.0® [2]				
Villanueva-Saz et al., 2022	97	98	150	ELISA + IFT
Speed Leish K® [3]				
Villanueva-Saz et al., 2022	97	98	150	ELISA + IFT
Solano-Gallego et al., 2014	64	100	203	ELISA
Ferroglio et al., 2013	96	100	250	IFT
WITNESS Leishmania® [4]				
Villanueva-Saz et al., 2022	84	95	150	ELISA + IFT
Rodriguez-Cortés et al., 2013	58	100	60	ELISA + PCR
DFV Test Leishmania® [5]				
Villanueva-Saz et al., 2022	59	100	150	ELISA + IFT
Snap® Canine *Leishmania* Antibody Test kit[6]				
Athanasiou et al., 2014	89	100	109	IFT
Rodriguez-Cortés et. Al., 2013	66	100	60	ELISA + PCR
Ferroglio et al., 2007	91 (IFT) 93 (WB)	99 (IFT) 98 (WB)	234	IFT + WB
ImmunoRun Antibody Detection kit®[7]				
Athanasiou et al., 2014	86	100	109	IFT
INGEZIM® LEISHMACROM[8]				
Rodriguez-Cortés et al., 2013	75	100	60	ELISA + PCR

[1] Megacor, Lindau, Deutschland; [2] Uranovet, Barcelona, Spanien; [3] BIO VETO TEST, La Seyne sur Mer, Frankreich; [4] Zoetis, Parsippany, USA; [5] Divasa, Barcelona, Spanien; [6] IDEXX, Westbrook, USA; [7] Biogal, Kibbuz Ghaled, Israel; [8] Eurofins Technologies, Madrid, Spanien
ELISA, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IFT, Immunofluorezenztest; PCR, Polymerase-Kettenreaktion; WB, Western Blot

Generell stellen die POC-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *Leishmania infantum* eine zeitsparende Alternative zu anderen Nachweisverfahren dar. Der einzige aktuell in Deutschland verfügbare Impfstoff, LetiFend® (Leti Pharma, Madrid, Spanien), basierend auf rekombinantem Protein, interferiert gemäß einer aktuellen Studie nicht mit den in dieser Studie evaluierten POC-Tests (Kalazar Detect™, SNAP® Leishmania, Speedleish K™, Witness® Leishmania und Uranotest Leishmania); folglich kommt es nach einer Impfung mit diesem Impfstoff nicht zu positiven POC-Testergebnissen (120). Aufgrund der niedrigen Sensitivität einiger POC-Tests und der Tatsache, dass nicht alle infizierten Tiere Antikörper ausbilden, kann ein negatives POC-Testergebnis eine Leishmaniose nicht ausschließen und verdächtige Tiere sollten mittels PCR und/oder nach einer gewissen Zeit erneut mittels ELISA oder IFT auf Antikörper getestet werden.

7. Nachweis von Antikörpern gegen *Leptospira* spp. im Blut

Die Leptospirose beim Hund kann durch etwa 300 verschiedene pathogene Serovare der Bakterien *Leptospira interrogans* und *Leptospira kirschneri* ausgelöst werden (121). Die Erkrankung kann asymptomatisch verlaufen, manchmal treten aber auch schwerwiegende, teils tödliche, Verlaufsformen mit Leber-, Nieren- und Lungenbeteiligung auf (122, 123).

Eine Diagnose kann durch direkte Nachweismethoden, wie Kultur aus Blut, Urin oder Organmaterial und PCR aus Blut, Urin, Sperma, Liquor oder Organmaterial erfolgen (124-128). Die Kultur gilt als sehr aufwendig und besitzt nur eine niedrige Sensitivität (128), die PCR ist nur am Anfang der Infektion und vor Therapiestart positiv. Als indirekte Nachweisverfahren stehen in spezialisierten Laboratorien neben dem Mikroagglutinationstest (MAT) als Goldstandard auch ELISA-basierte Verfahren zur Verfügung (129, 130). Eine Unterscheidung von Antikörpern infolge einer vorangegangenen Impfung und Antikörpern aufgrund einer Infektion selbst ist mittels MAT kaum möglich (131). Folglich ist das einmalige Vorhandensein von Antikörpern nicht aussagekräftig, weshalb zur Diagnose einer akuten Infektion ein vierfacher Titeranstieg innerhalb von 1–3 Wochen notwendig ist (132), da Antikörpertiter nach einer länger zurückliegenden Impfung oder einer chronischen Infektion sich in der Regel nicht verändern (130). Da Leptospirose eine Zoonose ist, ist aber eine zeitnahe und zuverlässige Diagnose essentiell (133).

Als POC-Tests zur Anwendung direkt in der Praxis sind einige ELISA- oder Immunchromatographie-basierte Testverfahren kommerziell erhältlich (134, 135). Die POC-Tests können entweder IgG- (ImmunoComb® der Firma Biogal, Kibbutz Galed, Israel), IgM- (WITNESS® Lepto der Firma Zoetis, Berlin, Deutschland; Primagnost® Lepto H der Firma Dechra, Aulendorf, Deutschland; FASTest® LEPTOSPIRA IgM der Firma Megacor, Lindau, Deutschland; Test-it ™ device der Firma Royal Tropical Institute/Life Assay Diagnostics, Cape Town, South Africa) oder IgG- und IgM-Antikörper (SNAP® Lepto der Firma IDEXX, Westbrook, USA) nachweisen. IgM-Antikörper werden bereits innerhalb der ersten Woche

nach einer Infektion gebildet, erreichen ihr Plateau ca. 2 Wochen nach der Infektion und sinken danach wieder, wohingegen IgG-Antikörper erst 2 Wochen nach der Infektion ansteigen, ihr Maximum ca. 4 Wochen nach Infektion erreichen und über viele Monate bestehen bleiben (136, 137). Somit eignen sich besonders POC-Tests zum Nachweis von IgM-Antikörpern zur Diagnose einer akuten Leptospirose. Die Sensitivität und Spezifität einiger POC-Tests wurden bereits in verschiedenen Studien untersucht (Tabelle 7) (138-142). Auch die POC-Tests können nicht zwischen Antikörpern infolge einer Infektion und Impfantikörpern unterscheiden. Der WITNESS® Lepto war nach einer Impfung gegen Leptospirose 4 Wochen nach Impfung bei 64 % der Hunde und 12 Wochen nach Impfung noch bei 24 % der Hunde positiv; 26 Wochen nach einer Impfung gegen Leptospirose waren alle untersuchten Proben negativ (138). Diese Interferenz ist auch aufgrund der empfohlenen kurzen Intervalle für Wiederholungsimpfungen (1x pro Jahr) bei Hunden mit klinischen Symptomen immer wieder problematisch (130).

Tabelle 7 Vergleich verschiedener *Point-of-care*-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *Leptospira* spp. im Blut von Hunden

Table 7 Comparison of different point-of-care tests for detection of antibodies against *Leptospira* spp. in blood of dogs

Test/Studie	Sensitivität in %	Spezifität in %	Proben-anzahl	Referenz-methode
WITNESS® Lepto[1]				
Kodjo et al., 2016	98	88	135	MAT
Lizer et al., 2017	76	98	37/15[5]	MAT + PCR
Gloor et al., 2017	76	100	69	MAT + PCR + Spirochätennachweis
Troìa et al. 2018	79	98	98	MAT + PCR
SNAP® Lepto[2]				
Troìa et al. 2018	87	75	98	MAT + PCR
Test-it ™ device[3]				
Abdoel et al., 2011	100	95	130	IgM/IgG-spezifischer ELISA
Gloor et al., 2017	82	91	118	MAT + PCR + Spirochätennachweis
ImmunoComb®[4]				
Dey et al., 2007	96	94	137	MAT

[1] Zoetis, Parsippany, USA; [2] IDEXX, Westbrook, USA; [3] Lifeassay Diagnostics, Kapstadt, Südafrika; [4] Biogal, Ghaled, Israel; [5] 37 Proben zu Ermittlung der Sensitivität, 15 Proben zur Ermittlung der Spezifität

IgM/IgG, Immunglobulin M/G; ELISA, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; MAT, Mikroagglutinationstest; PCR, Polymerase-Kettenreaktion

Auch wenn die POC-Tests nicht in der Lage sind, zwischen Impf- und Feldantikörpern zu unterscheiden und keinen Hinweis auf das infizierende Serovar geben, eignen sie sich aufgrund ihrer raschen Durchführbarkeit und ihrer hohen Sensitivität sowie Spezifität bei Tieren, bei denen die Impfung länger zurück liegt, gut zur Diagnose einer Leptospirose. Bei positiven POC-Testergebnissen ist immer die Impfhistorie des Tieres zu beachten. Tiere mit klinischen Symptomen und negativem POC-Testergebnis sollten einige Tage später erneut oder mit einer anderen Methode getestet werden.

Fazit für die Praxis

POC-Tests sind eine zeit- und kostensparende Alternative zu den herkömmlichen Tests in kommerziellen Laboratorien. Hinsichtlich ihrer Qualität und ihrer Nutzung unterscheiden sie sich je nach Infektionserreger jedoch deutlich (Tabelle 8).

Tabelle 8 Vor- und Nachteile verschiedener *Point-of-Care*-Tests zum Nachweis systemischer Infektionskrankheiten für den Einsatz in der Praxis

Table 8 Advantages and disadvantages of different point-of-care tests for detection of systemic infectious diseases for use in clinical practice

POC-Test zum Nachweis von	**Vorteile**	**Nachteile**
Parvovirus (Antigen im Kot)	sehr hohe Spezifität	geringe Sensitivität, daher im negativen Fall nicht aussagekräftig
Dirofilaria immitis (Antigen im Blut)	sehr hohe Sensitivität sehr hohe Spezifität	negative Ergebnisse bei Infektionen ausschließlich mit männlichen oder jungen *Dirofilaria*-Stadien (< 5 Monate)
Borrelia burgdorferi (Antikörper im Blut)	geeignet zum Ausschluss Borreliose	ungeeignet zur Diagnose Borreliose
Anaplasma phagocytophilum (Antikörper im Blut)	-	ungeeignet zur Diagnose oder zum Ausschluss Anaplasmose, nicht zu empfehlen
Ehrlichia canis (Antikörper im Blut)	sehr hohe Sensitivität sehr hohe Spezifität	-
Leishmania infantum (Antikörper im Blut)	sehr hohe Sensitivität sehr hohe Spezifität	keine Bildung von Antikörpern bei einigen infizierten Tieren
***Leptospira* spp.** (Antikörper im Blut)	hohe Sensitivität hohe Spezifität	positive Ergebnisse kurz nach Impfung gegen Leptospirose

Interessenkonflikt

Die Autoren bestätigen, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Beelitz P, Pfister K. Diagnostik und Therapie von Reisekrankheiten beim Hund. Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere 2004; 32: 158-165. DOI: 10.1055/s-0037-1622411
2. Knipper A. Neue gefährliche Parasiten werden in Deutschland heimisch. team spiegel 2006; 13: 7-8. DOI: 10.1055/s-0029-1237189
3. Selbitz H-J, Truyen U, Valentin-Weigand P. Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions-und Seuchenlehre. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2015. DOI: 10.1055/b-002-5219
4. Little SE. Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2010; 40: 1121-1140. DOI: 10.1016/j.cvsm.2010.07.004
5. O'Connor TP. SNAP assay technology. Top Companion Anim Med 2015; 30: 132-138. DOI: 10.1053/j.tcam.2015.12.002
6. Chu K. An introduction to sensitivity, specificity, predictive values and likelihood ratios. Emerg Med 1999; 11: 175-181. DOI: 10.1046/j.1442-2026.1999.00041.x
7. McCandlish IA, Thompson H, Fisher E et al. Canine parvovirus infection. In Pract 1981; 3: 5-14. DOI: 10.1136/inpract.3.3.5
8. Parrish CR, Aquadro CF, Strassheim M et al. Rapid antigenic-type replacement and DNA sequence evolution of canine parvovirus. J Virol 1991; 65: 6544-6552. DOI: 10.1128/jvi.65.12.6544-6552.1991
9. Goddard A, Leisewitz AL. Canine parvovirus. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2010; 40: 1041-1053. DOI: 10.1016/j.cvsm.2010.07.007
10. Buonavoglia C, Martella V, Pratelli A et al. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. J Gen Virol 2001; 82: 3021-3025. DOI: 10.1099/0022-1317-82-12-3021
11. Hoskins JD. Update on canine parvoviral enteritis. Vet Med 1997; 92: 694-709.
12. Decaro N, Buonavoglia C. Canine parvovirus—a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. Vet Microbiol 2012; 155: 1-12. DOI: 10.1016/j.vetmic.2011.09.007
13. Desario C, Decaro N, Campolo M et al. Canine parvovirus infection: which diagnostic test for virus? J Virol Methods 2005; 126: 179-185. DOI: 10.1016/j.jviromet.2005.02.006
14. Decaro N, Elia G, Martella V et al. A real-time PCR assay for rapid detection and quantitation of canine parvovirus type 2 in the feces of dogs. Vet Microbiol 2005; 105: 19-28. DOI: 10.1016/j.vetmic.2004.09.018
15. Decaro N, Desario C, Billi M et al. Evaluation of an in-clinic assay for the diagnosis of canine parvovirus. Vet J 2013; 198: 504-507. DOI: 10.1016/j.tvjl.2013.08.032
16. Decaro N, Desario C, Beall MJ et al. Detection of canine parvovirus type 2c by a commercially available in-house rapid test. Vet J 2010; 184: 373-375. DOI: 10.1016/j.tvjl.2009.04.006
17. Schmitz S, Coenen C, Matthias K et al. Comparison of three rapid commercial canine parvovirus antigen detection tests with electron microscopy and polymerase chain reaction. J Vet Diagn Invest 2009; 21: 344-345. DOI: 10.1177%2F104063870902100306

18. Walter-Weingärtner J, Bergmann M, Weber K et al. Comparison of Eight Commercially Available Faecal Point-of-Care Tests for Detection of Canine Parvovirus Antigen. Viruses 2021; 13: 2080. DOI: 10.3390/v13102080
19. Proksch A, Unterer S, Speck S et al. Influence of clinical and laboratory variables on faecal antigen ELISA results in dogs with canine parvovirus infection. Vet J 2015; 204: 304-308. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.03.009
20. Macartney L, McCandlish I, Thompson H et al. Canine parvovirus enteritis 2: Pathogenesis. Vet Rec 1984; 115: 453-460. DOI: 10.1136/vr.115.18.453
21. Meunier P, Cooper B, Appel M et al. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: the importance of viremia. Vet Pathol 1985; 22: 60-71. DOI: 10.1177%2F030098588502200110
22. Decaro N, Crescenzo G, Desario C et al. Long-term viremia and fecal shedding in pups after modified-live canine parvovirus vaccination. Vaccine 2014; 32: 3850-3853. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.04.050
23. Chandrashekar R, Mainville CA, Beall MJ et al. Performance of a commercially available in-clinic ELISA for the detection of antibodies against *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* and *Dirofilaria immitis* antigen in dogs. Am J Vet Res 2010; 71: 1443-1450. DOI: 10.2460/ajvr.71.12.1443
24. Otranto D, Capelli G, Genchi C. Changing distribution patterns of canine vector borne diseases in Italy: leishmaniosis vs. dirofilariosis. Parasit Vectors 2009; 2: 1-8. DOI: 10.1186/1756-3305-2-S1-S2
25. Morchón R, Moya I, González-Miguel J et al. Zoonotic *Dirofilaria immitis* infections in a province of Northern Spain. Epidemiol Infect 2010; 138: 380-383. DOI: 10.1017/S0950268809990434
26. Vieira AL, Vieira MJ, Oliveira JM et al. Prevalence of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs of central Portugal. Parasite 2014; 21. DOI: 10.1051/parasite/2014003
27. Pantchev N, Norden N, Lorentzen L et al. Current surveys on the prevalence and distribution of *Dirofilaria* spp. in dogs in Germany. Parasitol Res 2009; 105: 63-74. DOI: 10.1007/s00436-009-1497-7
28. Lefkaditis M, Koukeri S, Cozma V. An endemic area of *Dirofilaria immitis* seropositive dogs at the eastern foothills of Mt Olympus, Northern Greece. Helminthologia 2010; 47: 3-7. DOI: 10.2478/s11687-010-0001-3
29. Simsek S, Utuk A, Koroglu E et al. Serological and molecular studies on *Dirofilaria immitis* in dogs from Turkey. J Helminthol 2008; 82: 181-186. DOI: 10.1017/S0022149X0896079X
30. CiucÄƒ L, Musella V, Miron LD et al. Geographic distribution of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in stray dogs of eastern Romania. Geospat Health 2016; 11. DOI: 10.4081/gh.2016.499
31. Panayotova-Pencheva M, Mirchev R, Trifonova A. *Dirofilaria immitis* infection in carnivores from Bulgaria: 2012–2013 update. Bulg J Vet Med 2016; 19: 153-162. DOI: 10.15547/bjvm.918
32. Jacsó O, Mándoki M, Majoros G et al. First autochthonous *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) infection in a dog in Hungary. Helminthologia 2009; 46: 159-161. DOI: 10.2478/s11687-009-0030-y
33. Tasić A, Rossi L, Tasić S et al. Survey of canine dirofilariasis in Vojvodina, Serbia. Parasitol Res 2008; 103: 1297-1302. DOI: 10.1007/s00436-008-1132-z

34. Mrljak V, Kuleš J, Mihaljević Ž et al. Prevalence and geographic distribution of vector-borne pathogens in apparently healthy dogs in Croatia. Vector Borne Zoonotic Dis 2017; 17: 398-408. DOI: 10.1089/vbz.2016.1990
35. Svobodová Z, Svobodová V, Genchi C et al. The first report of authochthonous dirofilariosis in dogs in the Czech Republic. Helminthologia 2006; 43: 242-245. DOI: 10.2478/s11687-006-0046-5
36. Hamel D, Silaghi C, Knaus M et al. Detection of *Babesia canis* subspecies and other arthropod-borne diseases in dogs from Tirana, Albania. Wien Klin Wochenschr 2009; 121: 42-45. DOI: 10.1007/s00508-009-1234-3
37. Panarese R, Iatta R, Mendoza-Roldan JA et al. Comparison of diagnostic tools for the detection of *Dirofilaria immitis* infection in dogs. Pathogens 2020; 9: 499. DOI: 10.3390/pathogens9060499
38. Courtney CH, Zeng Q-Y. Relationship between microfilaria count and sensitivity of the direct smear for diagnosis of canine dirofilariosis. Vet Parasitol 2001; 94: 199-204. DOI: 10.1016/S0304-4017(00)00377-0
39. Henry LG, Brunson KJ, Walden HS et al. Comparison of six commercial antigen kits for detection of *Dirofilaria immitis* infections in canines with necropsy-confirmed heartworm status. Vet Parasitol 2018; 254: 178-182. DOI: 10.1016/j.vetpar.2018.02.037
40. Trancoso TAL, Lima NdC, Barbosa AS et al. Detection of *Dirofilaria immitis* using microscopic, serological and molecular techniques among dogs in Cabo Frio, RJ, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet 2020; 29. DOI: 10.1590/S1984-29612020009
41. Venco L, Manzocchi S, Genchi M et al. Heat treatment and false-positive heartworm antigen testing in ex vivo parasites and dogs naturally infected by *Dirofilaria repens* and *Angiostrongylus vasorum*. Parasit Vectors 2017; 10: 129-134. DOI: 10.1186/s13071-017-2444-6
42. Courtney CH, Zeng Q-Y. Comparison of heartworm antigen test kit performance in dogs having low heartworm burdens. Vet Parasitol 2001; 96: 317-322. DOI: 10.1016/S0304-4017(01)00374-0
43. Stillman BA, Monn M, Liu J et al. Performance of a commercially available in-clinic ELISA for detection of antibodies against *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys, Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Ehrlichia ewingii* and *Dirofilaria immitis* antigen in dogs. J Am Vet Med Assoc 2014; 245: 80-86. DOI: 10.2460/javma.245.1.80
44. Rohrbach B, Patton S. Effects of diagnostic test accuracy and treatment efficacy on the occurrence of suspected failure of heartworm prophylaxis in dogs. J Vet Intern Med 2013; 27: 791-797. DOI: 10.1111/jvim.12092
45. Atkins CE. Comparison of results of three commercial heartworm antigen test kits in dogs with low heartworm burdens. J Am Vet Med Assoc 2003; 222: 1221-1223. DOI: 10.2460/javma.2003.222.1221
46. Starkey LA, Bowles JV, Payton ME et al. Comparative evaluation of commercially available point-of-care heartworm antigen tests using well-characterized canine plasma samples. Parasit Vectors 2017; 10: 145-149. DOI: 10.1186/s13071-017-2447-3
47. Little SE, Munzing C, Heise SR et al. Pre-treatment with heat facilitates detection of antigen of *Dirofilaria immitis* in canine samples. Vet Parasitol 2014; 203: 250-252.
48. McCall JW, Genchi C, Kramer LH et al. Heartworm disease in animals and humans. Adv Parasitol 2008; 66: 193-285. DOI: 10.1016/S0065-308X(08)00204-2

49. Dressler F, Whalen JA, Reinhardt BN et al. Western blotting in the serodiagnosis of Lyme disease. J Infect Dis 1993; 167: 392-400. DOI: 10.1093/infdis/167.2.392
50. Engstrom SM, Shoop E, Johnson RC. Immunoblot interpretation criteria for serodiagnosis of early Lyme disease. J Clin Microbiol 1995; 33: 419-427. DOI: 10.1128/jcm.33.2.419-427.1995
51. Barth C, Straubinger RK, Krupka I et al. Comparison of different diagnostic assays for the detection of *Borrelia burgdorferi*-specific antibodies in dogs. Vet Clin Pathol 2014; 43: 496-504. DOI: 10.1111/vcp.12213
52. Krupka I, Straubinger RK. Lyme borreliosis in dogs and cats: background, diagnosis, treatment and prevention of infections with *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2010; 40: 1103-1119. DOI: 10.1016/j.cvsm.2010.07.011
53. Aguero-Rosenfeld ME, Wang G, Schwartz I et al. Diagnosis of Lyme borreliosis. Clin Microbiol Rev 2005; 18: 484-509. DOI: 10.1128/CMR.18.3.484-509.2005
54. Littman MP, Goldstein RE, Labato MA et al. ACVIM small animal consensus statement on Lyme disease in dogs: diagnosis, treatment, and prevention. J Vet Intern Med 2006; 20: 422-434. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2006.tb02880.x
55. Levy S, Magnarelli L. Relationship between development of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs and the subsequent development of limb/joint borreliosis. J Am Vet Med Assoc 1992; 200: 344-347.
56. Liang FT, Philipp MT. Analysis of antibody response to invariable regions of VlsE, the variable surface antigen of *Borrelia burgdorferi*. Infect Immun 1999; 67: 6702-6706. DOI: 10.1128/IAI.67.12.6702-6706.1999
57. Liang FT, Jacobson RH, Straubinger RK et al. Characterization of a Borrelia burgdorferi VlsE invariable region useful in canine Lyme disease serodiagnosis by enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol 2000; 38: 4160-4166. DOI: 10.1128/JCM.38.11.4160-4166.2000
58. O'Connor TP, Esty KJ, Hanscom JL et al. Dogs vaccinated with common Lyme disease vaccines do not respond to IR6, the conserved immunodominant region of the VlsE surface protein of *Borrelia burgdorferi*. Clin Vaccine Immunol 2004; 11: 458-462. DOI: 10.1128/CDLI.11.3.458-462.2004
59. Philipp MT, Bowers LC, Fawcett PT et al. Antibody response to IR6, a conserved immunodominant region of the VlsE lipoprotein, wanes rapidly after antibiotic treatment of *Borrelia burgdorferi* infection in experimental animals and in humans. J Infect Dis 2001; 184: 870-878. DOI: 10.1086/323392
60. RE G, Beall M, Alleman A. Performance Comparison of SNAP® 4Dx® Plus and AccuPlex® 4 for the Detection of Antibodies to *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum*. Int J Appl Res Vet Med 2014; 12. DOI: 10.1016/j.vetpar.2020.109176
61. Dumler JS, Barbet AF, Bekker C et al. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and'HGE agent'as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. Int J Syst Evol Microbiol 2001; 51: 2145-2165. DOI: 10.1099/00207713-51-6-2145
62. Woldehiwet Z. The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. Vet Parasitol 2010; 167: 108-122. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.09.013

63. Cohn LA. Ehrlichiosis and related infections. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2003; 33: 863-884. DOI: 10.1016/S0195-5616(03)00031-7
64. Beaufils J, Inokuma H, Martin Granel J et al. *Anaplasma platys* (*Ehrlichia platys*) infection in a dog in France: description of the case, and characterization of the agent. Rev Med Vet (Toulouse) 2002; 153: 85-90.
65. Sparagano OA, De Vos AP, Paoletti B et al. Molecular detection of *Anaplasma platys* in dogs using polymerase chain reaction and reverse line blot hybridization. J Vet Diagn Invest 2003; 15: 527-534. DOI: 10.1177/104063870301500604
66. Kontos V, Papadopoulos O, French T. Natural and experimental canine infections with a Greek strain of *Ehrlichia platys*. Vet Clin Pathol 1991; 20: 101-105. DOI: 10.1111/j.1939-165X.1991.tb00867.x
67. Sainz A, Amusategui I, Tesouro M. *Ehrlichia platys* infection and disease in dogs in Spain. J Vet Diagn Invest 1999; 11: 382-384. DOI: 10.1177/104063879901100419
68. Harvey JW, Simpson CF, Gaskin JM. Cyclic thrombocytopenia induced by a Rickettsia-like agent in dogs. J Infect Dis 1978; 137: 182-188. DOI: 10.1093/infdis/137.2.182
69. Gaunt S, Beall M, Stillman B et al. Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. Parasit Vectors 2010; 3: 1-10. DOI: 10.1186/1756-3305-3-33
70. Aguirre E, Tesouro M, Ruiz L et al. Genetic characterization of *Anaplasma* (*Ehrlichia*) *platys* in dogs in Spain. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 2006; 53: 197-200. DOI: 10.1111/j.1439-0450.2006.00937.x
71. Beall MJ, Chandrashekar R, Eberts MD et al. Serological and molecular prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Ehrlichia* species in dogs from Minnesota. Vector Borne Zoonotic Dis 2008; 8: 455-464. DOI: 10.1089/vbz.2007.0236
72. Foley JE, Foley P, Madigan JE. Spatial distribution of seropositivity to the causative agent of granulocytic ehrlichiosis in dogs in California. Am J Vet Res 2001; 62: 1599-1605. DOI: 10.2460/ajvr.2001.62.1599
73. Carrade D, Foley JE, Borjesson DL et al. Canine granulocytic anaplasmosis: a review. J Vet Intern Med 2009; 23: 1129-1141. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2009.0384.x
74. Eberts MD, Vissotto de Paiva Diniz PP, Beall MJ et al. Typical and atypical manifestations of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs. J Am Anim Hosp Assoc 2011; 47: e86-e94. DOI: 10.5326/JAAHA-MS-5578
75. Martin AR, Brown GK, Dunstan RH et al. *Anaplasma platys*: an improved PCR for its detection in dogs. Exp Parasitol 2005; 109: 176-180. DOI: 10.1016/j.exppara.2004.11.007
76. Scorpio DG, Dumler JS, Barat NC et al. Comparative strain analysis of *Anaplasma phagocytophilum* infection and clinical outcomes in a canine model of granulocytic anaplasmosis. Vector Borne Zoonotic Dis 2011; 11: 223-229. DOI: 10.1089/vbz.2009.0262
77. Egenvall A, Bjöersdorff A, Lilliehöök L et al. Early manifestations of granulocytic ehrlichiosis in dogs inoculated experimentally with a Swedish *Ehrlichia* species isolate. Vet Rec 1998; 143: 412-417. DOI: 10.1136/vr.143.15.412
78. Poitout FM, Shinozaki JK, Stockwell PJ et al. Genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum* infecting dogs in Western Washington State. J Clin Microbiol 2005; 43: 796-801. DOI: 10.1128/JCM.43.2.796-801.2005
79. Lara B, Conan A, Thrall MA et al. Serologic and molecular diagnosis of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* infection in dogs in an endemic region. Pathogens 2020; 9: 488.

80. Zhi N, Ohashi N, Tajima T et al. Transcript heterogeneity of the p44 multigene family in a human granulocytic ehrlichiosis agent transmitted by ticks. Infect Immun 2002; 70: 1175-1184. DOI: 10.1128/IAI.70.3.1175-1184.2002
81. Barth C, Straubinger RK, Müller E et al. Comparison of different diagnostic tools for the detection of *Anaplasma phagocytophilum* in dogs. Vet Clin Pathol 2014; 43: 180-184. DOI: 10.1111/vcp.12213
82. Egenvall A, Lilliehöök I, Karlstam E et al. Detection of granulocytic *Ehrlichia* species DNA by PCR in persistently infected dogs. Vet Rec 2000; 146: 186-190. DOI: 10.1136/vr.146.7.186
83. Naucke T. Vektor-übertragene Erkrankungen-Borreliose, Babesiose & Co-Relevanz für die deutsche Kleintierpraxis. kleintier konkret 2007; 10: 4-8. DOI: 10.1055/s-2007-967140
84. Mylonakis ME, Koutinas AF, Breitschwerdt EB et al. Chronic canine ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a retrospective study of 19 natural cases. J Am Anim Hosp Assoc 2004; 40: 174-184. DOI: 10.5326/0400174
85. Woody BJ, Hoskins JD. Ehrlichial diseases of dogs. Vet Clin North Am Small Anim Pract 1991; 21: 75-98. DOI: 10.1016/S0195-5616(91)50009-7
86. Ristic M, Huxsoll DL, Weisiger RM et al. Serological diagnosis of tropical canine pancytopenia by indirect immunofluorescence. Infect Immun 1972; 6: 226-231. DOI: 10.1128/iai.6.3.226-231.1972
87. Buhles Jr WC, Huxsoll DL, Ristic M. Tropical canine pancytopenia: Clinical, hematologic, and serologic response of dogs to *Ehrlichia canis* infection, tetracycline therapy, and challenge inoculation. J Infect Dis 1974; 130: 357-367. DOI: 10.1093/infdis/130.4.357
88. Bartsch RC, Greene RT. Post-therapy antibody titers in dogs with ehrlichiosis: follow-up study on 68 patients treated primarily with tetracycline and/or doxycycline. J Vet Intern Med 1996; 10: 271-274. DOI: 10.1111/j.1939-1676.1996.tb02061.x
89. Waner T, Harrus S, Jongejan F et al. Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. Vet Parasitol 2001; 95: 1-15. DOI: 10.1016/S0304-4017(00)00407-6
90. O'Connor TP, Saucier JM, Daniluk D et al. Evaluation of peptide-and recombinant protein-based assays for detection of anti-*Ehrlichia ewingii* antibodies in experimentally and naturally infected dogs. Am J Vet Res 2010; 71: 1195-1200. DOI: 10.2460/ajvr.71.10.1195
91. Chandrashekar R, Daniluk D, Moffitt S et al. Serologic diagnosis of equine borreliosis: Evaluation of an in-clinic enzyme-linked immunosorbent assay (SNAP (R) 4Dx (R)). Int J Appl Res Vet Med 2008; 6: 145-150.
92. Beall MJ, Alleman AR, Breitschwerdt EB et al. Seroprevalence of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia ewingii* in dogs in North America. Parasit Vectors 2012; 5: 1-11. DOI: 10.1186/1756-3305-5-29
93. Harrus S, Alleman AR, Bark H et al. Comparison of three enzyme-linked immunosorbant assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with *Ehrlichia canis*. Vet Microbiol 2002; 86: 361-368. DOI: 10.1016/S0378-1135(02)00022-6
94. Liu J, Drexel J, Andrews B et al. Comparative evaluation of 2 in-clinic assays for vector-borne disease testing in dogs. Top Companion Anim Med 2018; 33: 114-118. DOI: 10.1053/j.tcam.2018.09.003

95. Bélanger M, Sorenson HL, France MK et al. Comparison of serological detection methods for diagnosis of *Ehrlichia canis* infections in dogs. J Clin Microbiol 2002; 40: 3506-3508. DOI: 10.1128/JCM.40.9.3506-3508.2002
96. Villanueva-Saz S, Martínez M, Ramirez JD et al. Evaluation of five different rapid immunochromatographic tests for canine leishmaniosis in Spain. Acta Trop 2022; 229: 106371. DOI: 10.1016/j.actatropica.2022.106371
97. Vlkova M, Rohousova I, Drahota J et al. Canine antibody response to *Phlebotomus perniciosus* bites negatively correlates with the risk of *Leishmania infantum* transmission. PLoS Negl Trop Dis 2011; 5: e1344. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001344
98. Živičnjak T, Martinković F, Marinculić A et al. A seroepidemiologic survey of canine visceral leishmaniosis among apparently healthy dogs in Croatia. Vet Parasitol 2005; 131: 35-43. DOI: 10.1016/j.vetpar.2005.04.036
99. Marty P, Izri A, Ozon C et al. A century of leishmaniasis in Alpes-Maritimes, France. Ann Trop Med Parasitol 2007; 101: 563-574. DOI: 10.1179/136485907X229121
100. Lazri T, Duscher G, Edelhofer R et al. Infektionen mit arthropodenübertragenen Parasiten bei Hunden im Kosovo und in Albanien unter besonderer Berücksichtigung der Leishmanieninfektionen. Wien Klin Wochenschr 2008; 120: 54-58. DOI: 10.1007/s00508-008-1076-4
101. Mazeris A, Soteriadou K, Dedet JP et al. Leishmaniases and the Cyprus paradox. Am J Trop Med Hyg 2010; 82: 441. DOI: 10.4269/ajtmh.2010.09-0282
102. Cortes S, Vaz Y, Neves R et al. Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. Vet Parasitol 2012; 189: 189-196. DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.04.028
103. Lombardo G, Pennisi MG, Lupo T et al. Detection of *Leishmania infantum* DNA by real-time PCR in canine oral and conjunctival swabs and comparison with other diagnostic techniques. Vet Parasitol 2012; 184: 10-17. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.08.010
104. Miró G, Montoya A, Roura X et al. Seropositivity rates for agents of canine vector-borne diseases in Spain: a multicentre study. Parasit Vectors 2013; 6: 1-9. DOI: 10.1186/1756-3305-6-117
105. Ntais P, Sifaki-Pistola D, Christodoulou V et al. Leishmaniases in Greece. Am J Trop Med Hyg 2013; 89: 906. DOI: 10.4269/ajtmh.13-0070
106. Ready P. Leishmaniasis emergence in Europe. Euro Surveill 2010; 15: 19505. DOI: 10.2807/ese.15.10.19505-en
107. Maroli M, Rossi L, Baldelli R et al. The northward spread of leishmaniasis in Italy: evidence from retrospective and ongoing studies on the canine reservoir and phlebotomine vectors. Trop Med Int Health 2008; 13: 256-264. DOI: 10.1111/j.1365-3156.2007.01998.x
108. Naucke T, Pesson B. Presence of *Phlebotomus* (*Transphlebotomus*) *mascittii Grassi*, 1908 (Diptera: *Psychodidae*) in Germany. Parasitol Res 2000; 86: 335-336. DOI: 10.1007/s004360050053
109. Naucke T, Schmitt C. Is leishmaniasis becoming endemic in Germany? Int J Med Microbiol 2004; 293: 179. DOI: 10.1016/s1433-1128(04)80036-6
110. Naucke T, Menn B, Massberg D et al. Sandflies and leishmaniasis in Germany. Parasitol Res 2008; 103: 65-68. DOI: 10.1007/s00436-008-1052-y
111. Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. Vet Parasitol 2009; 165: 1-18. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.05.022

112. Solano-Gallego L, Morell P, Arboix M et al. Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. J Clin Microbiol 2001; 39: 560-563. DOI: 10.1128/JCM.39.2.560-563.2001
113. Quinnell R, Courtenay O, Garcez L et al. IgG subclass responses in a longitudinal study of canine visceral leishmaniasis. Vet Immunol Immunopathol 2003; 91: 161-168. DOI: 10.1016/S0165-2427(02)00311-2
114. Solano-Gallego L, Llull J, Ramis A et al. Longitudinal study of dogs living in an area of Spain highly endemic for leishmaniasis by serologic analysis and the leishmanin skin test. Am J Trop Med Hyg 2005; 72: 815-818. DOI: 10.4269/ajtmh.2005.72.815
115. Athanasiou LV, Petanides TA, Chatzis MK et al. Comparison of two commercial rapid in-clinic serological tests for detection of antibodies against *Leishmania* spp. in dogs. J Vet Diagn Invest 2014; 26: 286-290. DOI: 10.1177/1040638714523614
116. Ferroglio E, Zanet S, Mignone W et al. Evaluation of a rapid device for serological diagnosis of *Leishmania infantum* infection in dogs as an alternative to immunofluorescence assay and Western blotting. Clin Vaccine Immunol 2013; 20: 657-659. DOI: 10.1128/CVI.00719-12
117. Rodríguez-Cortés A, Ojeda A, Todolí F et al. Performance of commercially available serological diagnostic tests to detect *Leishmania infantum* infection on experimentally infected dogs. Vet Parasitol 2013; 191: 363-366. DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.09.009
118. Villanueva-Saz S, Basurco A, Martín V et al. Comparison of a qualitative immunochromatographic test with two quantitative serological assays for the detection of antibodies to *Leishmania infantum* in dogs. Acta Vet Scand 2019; 61: 1-6. DOI: 10.1186/s13028-019-0473-1
119. Solano-Gallego L, Villanueva-Saz S, Carbonell M et al. Serological diagnosis of canine leishmaniosis: comparison of three commercial ELISA tests (Leiscan®, ID Screen® and Leishmania 96®), a rapid test (Speed Leish K®) and an in-house IFAT. Parasit Vectors 2014; 7: 1-10. DOI: 10.1186/1756-3305-7-111
120. Iniesta V, Fernández-Cotrina J, Solano-Gallego L et al. Vaccination with LetiFend®, a novel canine leishmaniosis vaccine, does not interfere with serological diagnostic tests. In: Proceedings of the X Southern European Veterinary Conference/51º Congreso Nacional Avepa. 2016: 20-22.
121. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 296-326. DOI: 10.1128/CMR.14.2.296-326.2001
122. Llewellyn J-R, Krupka-Dyachenko I, Rettinger AL et al. Urinary shedding of leptospires and presence of Leptospira antibodies in healthy dogs from Upper Bavaria. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 2016; 129: 251-257.
123. Greene CE. Infectious Diseases of the Dog and Cat, 4th edn., St Louis. Missouri: Elsevier 2012.
124. Brown P, Gravekamp C, Carrington D et al. Evaluation of the polymerase chain reaction for early diagnosis of leptospirosis. J Med Microbiol 1995; 43: 110-114. DOI: 10.1099/00222615-43-2-110
125. Masri SA, Nguyen PT, Gale SP et al. A polymerase chain reaction assay for the detection of *Leptospira* spp. in bovine semen. Can J Vet Res 1997; 61: 15.
126. Merien F, Amouriaux P, Perolat P et al. Polymerase chain reaction for detection of *Leptospira* spp. in clinical samples. J Clin Microbiol 1992; 30: 2219-2224. DOI: 10.1128/jcm.30.9.2219-2224.1992

127. Savio M, Rossi C, Fusi P et al. Detection and identification of *Leptospira interrogans* serovars by PCR coupled with restriction endonuclease analysis of amplified DNA. J Clin Microbiol 1994; 32: 935-941. DOI: 10.1128/jcm.32.4.935-941.1994
128. Merien F, Baranton G, Perolat P. Comparison of polymerase chain reaction with microagglutination test and culture for diagnosis of leptospirosis. J Infect Dis 1995; 172: 281-285. DOI: 10.1093/infdis/172.1.281
129. Dey S, Mohan CM, Kumar TS et al. Recombinant LipL32 antigen-based single serum dilution ELISA for detection of canine leptospirosis. Vet Microbiol 2004; 103: 99-106. DOI: 10.1016/j.vetmic.2004.07.018
130. Sykes J, Hartmann K, Lunn K et al. 2010 ACVIM small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention. J Vet Intern Med 2011; 25: 1-13. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2010.0654.x
131. Bolin CA. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. Semin Vet Med Surg Small Anim 1996; 11: 166-171. DOI: 10.1016/s1096-2867(96)80029-6
132. Reagan KL, Sykes JE. Diagnosis of canine leptospirosis. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2019; 49: 719-731. DOI: 10.1016/j.cvsm.2019.02.008
133. Levett PN. Leptospirosis: a forgotten zoonosis? Clin Appl Immunol Rev 2004; 4: 435-448. DOI: 10.1016/j.cair.2004.08.001
134. Fraune CK, Schweighauser A, Francey T. Evaluation of the diagnostic value of serologic microagglutination testing and a polymerase chain reaction assay for diagnosis of acute leptospirosis in dogs in a referral center. J Am Vet Med Assoc 2013; 242: 1373-1380. DOI: 10.2460/javma.242.10.1373
135. Lizer J, Velineni S, Weber A et al. Evaluation of 3 serological tests for early detection of *leptospira*-specific antibodies in experimentally infected dogs. J Vet Intern Med 2018; 32: 201-207. DOI: 10.1111/jvim.14865
136. Langston CE, Heuter KJ. Leptospirosis: A re-emerging zoonotic disease. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2003; 33: 791-807. DOI: 10.1016/S0195-5616(03)00026-3
137. Hartman E, Van Houten M, Frik J et al. Humoral immune response of dogs after vaccination against leptospirosis measured by an IgM-and IgG-specific ELISA. Vet Immunol Immunopathol 1984; 7: 245-254. DOI: 10.1016/0165-2427(84)90083-7
138. Lizer J, Grahlmann M, Hapke H et al. Evaluation of a rapid IgM detection test for diagnosis of acute leptospirosis in dogs. Vet Rec 2017; 180: 517-517. DOI: 10.1136/vr.104134
139. Kodjo A, Calleja C, Loenser M et al. A rapid in-clinic test detects acute leptospirosis in dogs with high sensitivity and specificity. Biomed research international 2016; 2016. DOI: 10.1155/2016/3760191
140. Abdoel TH, Houwers DJ, van Dongen AM et al. Rapid test for the serodiagnosis of acute canine leptospirosis. Vet Microbiol 2011; 150: 211-213. DOI: 10.1016/j.vetmic.2011.01.015
141. Troìa R, Balboni A, Zamagni S et al. Prospective evaluation of rapid point-of-care tests for the diagnosis of acute leptospirosis in dogs. Vet J 2018; 237: 37-42. DOI: 10.1016/j.tvjl.2018.05.010
142. Gloor CI, Schweighauser A, Francey T et al. Diagnostic Value of two commercial chromatographic “patient-side” tests in the diagnosis of acute canine leptospirosis. J Small Anim Pract 2017; 58: 154-161. DOI: 10.1111/jsap.12628

III. PUBLIKATION 2: ORIGINAL-PUBLIKATION

Comparison of Eight Commercially Available Faecal Point-of-Care Tests for Detection of Canine Parvovirus Antigen

Julia Walter-Weingärtner

Clinic of Small Animal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinaerstrasse 13, 80539 Munich, Germany

Michèle Bergmann

Clinic of Small Animal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinaerstrasse 13, 80539 Munich, Germany

Karin Weber

Clinic of Small Animal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinaerstrasse 13, 80539 Munich, Germany

Uwe Truyen

Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, An den Tierkliniken 1, 04103 Leipzig, Germany

Cosmin Muresan

Faculty of Veterinary Medicine, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Str. Calea Manastur 3–5, 400372 Cluj Napoca, Romania

Katrin Hartmann

Clinic of Small Animal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinaerstrasse 13, 80539 Munich, Germany

Akzeptiert in “Viruses” am 09.10.2021

viruses

MDPI

Article

Comparison of Eight Commercially Available Faecal Point-of-Care Tests for Detection of Canine Parvovirus Antigen

Julia Walter-Weingärtner [1,*], Michèle Bergmann [1], Karin Weber [1], Uwe Truyen [2], Cosmin Muresan [3] and Katrin Hartmann [1]

[1] Clinic of Small Animal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Veterinaerstrasse 13, 80539 Munich, Germany; N.Bergmann@medizinische-kleintierklinik.de (M.B.); karin.weber@lmu.de (K.W.); hartmann@lmu.de (K.H.)

[2] Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, An den Tierkliniken 1, 04103 Leipzig, Germany; truyen@vetmed.uni-leipzig.de

[3] Faculty of Veterinary Medicine, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Str. Calea Manastur 3–5, 400372 Cluj Napoca, Romania; cosmin.muresan@usamvcluj.ro

* Correspondence: j.walter@medizinische-kleintierklinik.de; Tel.: +49-89-218-026-50

Abstract: A real-time polymerase chain reaction (qPCR) is considered the gold standard for the laboratory diagnosis of canine parvovirus (CPV) infection but can only be performed in specialized laboratories. Several point-of-care tests (POCT), detecting CPV antigens in faeces within minutes, are commercially available. The aim of this study was to evaluate eight POCT in comparison with qPCR. Faecal samples of 150 dogs from three groups (H: 50 client-owned, healthy dogs, not vaccinated within the last four weeks; S: 50 shelter dogs, healthy, not vaccinated within the last four weeks; p = 50 dogs with clinical signs of CPV infection) were tested with eight POCT and qPCR. Practicability, sensitivity, specificity, positive (PPV) and negative predictive values (NPV), as well as overall accuracy were determined. To assess the differences between and agreement among POCT, McNemar's test and Cohen's Kappa statistic were performed. Specificity and PPV were 100.0% in all POCT. Sensitivity varied from 22.9–34.3% overall and from 32.7–49.0% in group P. VetexpertRapidTestCPVAg® had the highest sensitivity (34.3% overall, 49.0% group P) and differed significantly from the 3 POCT with the lowest sensitivities (Fassisi®Parvo (27.7% overall, 36.7% group P), Primagnost®ParvoH+K (24.3% overall, 34.7% group P), FASTest®PARVOCard (22.9% overall, 32.7% group P)). The agreement among all POCT was at least substantial (kappa >0.80). A positive POCT result confirmed the infection with CPV in unvaccinated dogs, whereas a negative POCT result did not definitely exclude CPV infection due to the low sensitivity of all POCT.

Keywords: CPV; parvovirosis; diagnosis; POCT; in-house test; sensitivity; specificity

check for updates

Citation: Walter-Weingärtner, J.; Bergmann, M.; Weber, K.; Truyen, U.; Muresan, C.; Hartmann, K. Comparison of Eight Commercially Available Faecal Point-of-Care Tests for Detection of Canine Parvovirus Antigen. *Viruses* **2021**, *13*, 2080. https://doi.org/10.3390/v13102080

Academic Editor: Tohru Suzuki

Received: 31 August 2021
Accepted: 9 October 2021
Published: 15 October 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

Canine parvovirus (CPV) is a common enteric virus in dogs. It emerged from the feline panleukopenia-like virus (FPV-like), CPV-2, in the 1970s, causing an acute haemorrhagic enteritis [1–3]. In the following years, the original type CPV-2 was replaced by two antigenic variants: CPV-2a and CPV-2b [2,4,5]. In 2000, a third antigenic type, CPV-2c, was identified which also spread worldwide in the meantime [6,7]. In this paper, the term CPV is used for all canine field and vaccination parvovirus strains (CPV-2a, CPV-2b and CPV-2c). CPV is highly contagious [8] and causes an often fatal disease, especially in puppies. Clinical signs and laboratory findings include diarrhea and vomiting [9], dehydration, as well as leukopenia [10]. Complications, such as bacterial translocation with consecutive septicemia, systemic inflammatory response syndrome (SIRS), hypercoagulability and multiorgan disfunction, can occur, causing high mortality rates in untreated dogs [10,11].

In order to isolate infected patients and to provide an immediate adequate therapy for dogs with this life-threatening infection, a rapid diagnosis is essential. Thus, reliable

diagnostic methods to detect CPV infection are highly important. A polymerase chain reaction (PCR) shows the highest sensitivity compared to traditional methods, such as haemagglutination or virus isolation [12]. A quantitative real-time (q)PCR is considered the gold standard to diagnose CPV infection [12–14]. However, qPCR can only be performed in specialized laboratories which delays the diagnosis.

As infected dogs shed high amounts of CPV in their faeces [15], several point-of-care tests (POCT) are commercially available for the detection of the CPV antigen in-house. These POCT are based on an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) or immunomigration technology and detect CPV antigen in faeces within a few minutes.

For test performance, sensitivity is the most important parameter in this scenario to identify and isolate all the affected dogs before infecting other contact animals. Recent studies showed a high specificity of some of these POCT with over 95.1% [14,16], but sensitivity was low, varying between 15.8% and 80.4% compared to the gold standard qPCR [12,14,16,17]. However, only a few POCT (IDEXX SNAP® Parvo, FASTest® parvo strip, and Witness® parvo card) were evaluated in independent studies so far and studies comparing the tests have yet to be performed.

Therefore, the aim of the present study was to evaluate eight commercially available POCT for the detection of the CPV antigen in the faeces of dogs in comparison with the reference standard qPCR. Practicability, sensitivity, specificity, positive (PPV) and negative predictive values (NPV), as well as overall accuracy, were evaluated.

2. Materials and Methods

2.1. Faecal Samples

A total of 150 faecal samples from three groups of dogs were included in the study. Ages of the dogs (see Table S1 in the Supplementary Materials) were from 4 weeks up to 13 years (median age of 3 years). Group H included 50 healthy, client-owned dogs (age: 1–13 years, median: 5 years). Dogs were only included in this group if there were no abnormalities in physical examination and history and the dogs had not been vaccinated against CPV within the last 4 weeks. Group S consisted of 50 shelter dogs (age: 7 months–12 years, median: 7 years), that were also healthy in their physical examinations and not vaccinated against CPV within the last 4 weeks. These dogs were considered to have a high risk of CPV infection because of high population density and stress. Group P included 50 dogs (age: 4 weeks–2 years, median: 3 months) which were presented to veterinary hospitals with suspicion of CPV infection. The dogs of group P had to meet at least 3 of the following criteria: diarrhea, vomiting, bad general condition, fever, neutropenia and/or incomplete vaccination status according to the WSAVA vaccination guidelines [18]. Vaccination status was known for 28 dogs of group P. Three dogs were vaccinated against CPV within the last 4 weeks, 25 dogs were not vaccinated against CPV within the last 4 weeks. For the remaining 22 dogs, vaccination status was unknown. Vaccination status of the dogs of group P is presented in Table S1 in the Supplementary Materials. All faecal samples were stored at −80 °C until further processing. The study protocol for this study was approved by the ethical committee of the Centre for Veterinary Clinical Medicine, LMU Munich, Germany (reference number 53-09-09-2015).

2.2. Real-Time PCR, Faecal CPV Load

DNA from faecal samples was extracted using the QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen) according to the manufacturers' recommendations. QPCR for detection and quantification of faecal CPV DNA was performed as described by Streck and colleagues (2013) [19] by a person blinded to the results of the POCT. All samples were run in duplicates. To compare results, the number of DNA copies/template was converted to the number of copies/g faeces, based on the individual sample weight.

2.3. Virus Culture

Virus cultures were performed for all qPCR-positive faecal samples. Two hundred milligram of faeces were suspended in 2.0 mL phosphate-buffered saline (pH 7.2), centrifuged at 3000× *g* for five minutes and the supernatant was filtered through a 0.22 µm syringe filter. One hundred microlitres of these filter suspensions were used to inoculate Crandell Rees feline kidney cells maintained in Dulbecco's medium (Biochrom) supplemented with 5% fetal calf serum (Sigma Aldrich), 1% non-essential amino acids (Biochrom) and 1% penicillin-streptomycin (Biochrom). Cultures were incubated at 37 °C, 5% CO_2. After seven days of incubation, each culture was subcultured.

2.4. Point-of-Care Tests

All faecal samples were analyzed with the eight POCT detecting CPV antigen (details in Table 1) by the same author (J.W.-W.) who was blinded to the results of the qPCR. Samples were only tested once with each of the POCT.

Table 1. Eight point-of-care tests for the detection of canine parvovirus in faeces and the respective manufacturers' instructions.

POCT	Product	Manufacturer	Storage Requirements	Usage	Duration of Test Performance	Test Material	Reagent Tray	Price per Test in Germany (Excl. VAT)
POCT-A	Snap® Parvo	IDEXX (Westbrook, USA)	+2–25 °C	After warming up to room temperature	8 min	Faeces	Cotton swab	EUR 13.08
POCT-B	Fassisi® Parvo	Fassisi (Göttingen, Germany)	+2–30 °C	After warming up to room temperature	10 min	Faeces	Cotton swab	EUR 4.20
POCT-C	Primagnost® Parvo H + K	Dechra (Aulendorf, Germany)	+15–25 °C	At room temperature	5 min	Faeces	Plastic spiral stick	EUR 6.51
POCT-D	FASTest® PARVO Card	Megacor (Lindau, Germany)	+15–25 °C	At room temperature	5 min	Faeces	Plastic spiral stick	EUR 5.42
POCT-E	Vetexpert Rapid Test CPV Ag®	Vetexpert (Vienna, Austria)	+2–30 °C	After warming up to room temperature	5–10 min	Faeces	Cotton swab	EUR 5.36
POCT-F	Anigen Rapid CPV Ag Test Kit®	Bionote (Dongtan, South Korea)	+2–30 °C	After warming up to room temperature	10 min	Faeces	Cotton swab	EUR 4.45
POCT-G	ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit	Biogal (Galed, Israel)	+2–30 °C	After warming up to room temperature	5–10 min	Faeces	Cotton swab	EUR 6.39
POCT-H	WITNESS® Parvo	Zoetis (Parsippany, USA)	+2–25 °C	After warming up to room temperature	5 min	Faeces	Cotton swab	EUR 10.83

POCT, point-of-care tests, VAT, value added tax, EUR, euro.

POCT were performed according to the manufacturers' instructions. Testing delivered results after 5–10 min.

The IDEXX SNAP® Parvo is an ELISA, in which a conjugate (an enzyme-labeled antibody) forms an immune complex with the antigen in the sample and matrix-bound antibodies. Subsequently, a washing step removes unbound debris and unreacted conjugate. Finally, a substrate-based enzymatic reaction generates a blue point in case of a positive test result [20]. All other POCT are lateral flow immunoassays, using immunomigration technologies. In this technology, the antigen in the sample reacts with mobile, monoclonal anti-CPV antibodies conjugated with gold particles. After migration along a nitrocellulose membrane, the antigen antibody complexes are captured by fixed anti-CPV monoclonal antibodies creating a test line in case of a positive result.

2.5. Data Analysis

Test results of the eight POCT were compared with results of the qPCR. Practicability, difficulties in test result interpretation, sensitivity (true positive rate), specificity (true negative rate), negative predictive value (NPV) (proportion of predicted negatives that were true negatives), positive predictive value (PPV) (proportion of predicted positives that were true positives) and overall accuracy (OA) (probability that a dog will be correctly classified by the tests; sum of true positives plus true negatives divided by the total number of dogs tested) were calculated and used for comparison of test performances. Sensitivity was considered as most important parameter. The differences between the POCT performance were tested for statistical significance using Cochran's Q omnibus test at the group level. In case of significant results, pairwise comparison was performed using McNemar's test to determine significant differences in sensitivity of the POCT. Cohen's Kappa statistic was performed to assess agreement of the results among the POCT. Values < 0 indicated poor agreement, 0.00–0.20 slight, 0.21–0.40 fair, 0.41–0.60 moderate, 0.61–0.80 substantial, and 0.81–1.00 almost perfect agreement [21]. Logistic regression was performed to assess the detection probability of each POCT as a function of the virus load. Log transform was applied to the number of virus copies prior to regression analysis. The regression results were presented along with the decision threshold of virus copies/g faeces corresponding to a 50% detection probability. Error bounds with 95% confidence were calculated based on the fit statistics. Virus loads in qPCR-positive samples were statistically compared between loads in the virus culture-positive and loads in virus culture-negative using Mann–Whitney U Test. Results were being considered significant for $p < 0.05$. All statistical analyses were performed with Matlab (R2020b, MathWorks, Natick, MA, USA).

3. Results

3.1. Detection of CPV by Real-Time PCR

In total, 46.6% (70/150) of all faecal samples showed positive qPCR results. In group H (healthy dogs), 24.0% (12/50), in group S (shelter dogs), 18.0% (9/50), and in group P (dogs suspected to have parvovirosis), 98.0% (49/50) of faecal samples were qPCR-positive. The mean CPV virus load was 2.4×10^6 copies/g faeces and 2.7×10^6 copies/g faeces for all qPCR-positive dogs in group H and S, respectively, and 5.3×10^{13} for all qPCR-positive dogs in group P.

3.2. Practicability of the Point-of-Care Tests

All eight POCT were easy to perform. In two POCT (Primagnost® Parvo H + K and FASTest® PARVO Card), faecal samples had to be collected using plastic spiral sticks that had to be introduced several times at various points in the faeces. The cotton swabs of the other tests had to be inserted only one time. There was no difference in the practicability of the tests. There were, however, some differences in the interpretation. The control fields of all POCT could always be clearly detected. Primagnost® Parvo H + K (POCT-C) and FASTest® PARVO Card (POCT-D) showed clear positive and negative results in all samples tested. However, the interpretation of some positive results in the other POCT was difficult due to very light test bands or points (Table 2): One WITNESS® Parvo (POCT-H), two IDEXX Snap® Parvo (POCT-A), two ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit (POCT-G) tests results, three Fassisi® Parvo (POCT-B) test results, four Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E) test results, and five Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F) test results were difficult to interpret.

3.3. Sensitivity, Specificity and Predictive Values of CPV by Point-of-Care Tests

The results of the sensitivity, specificity, predictive values and overall accuracy tested by the eight POCT compared to qPCR are shown in Tables 2 and 3.

Table 2. Performance parameters of the eight point-of-care tests to detect canine parvovirus antigen in faeces when considering all 150 samples: tests which were difficult to interpret, sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, as well as overall accuracy, were calculated using real-time polymerase chain reaction as gold standard.

Tests	POCT-A	POCT-B	POCT-C	POCT-D	POCT-E	POCT-F	POCT-G	POCT-H
Tests difficult to interpret % (number of tests/total)	1.3 (2/150)	2.0 (3/150)	0.0 (0/150)	0.0 (0/150)	2.7 (4/150)	3.3 (5/150)	1.3 (2/150)	0.7 (1/150)
Sensitivity % (95% CI)	31.4 (24.2–39.5)	25.7 (19.1–33.5)	24.3 (17.8–32.0)	22.9 (16.6–30.5)	34.3 (26.9–42.5)	32.9 (25.5–41.0)	30.0 (22.9–38.1)	30.0 (22.9–38.1)
Specificity % (95% CI)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)
Positive predictive value % (95% CI)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)	100.0 (96.9–100)
Negative predictive value % (95% CI)	62.5 (54.2–70.2)	60.6 (52.3–68.4)	60.2 (51.8–68.0)	59.7 (51.4–67.5)	63.5 (55.2–71.1)	63.0 (54.7–70.6)	62.0 (53.7–69.7)	62.0 (53.7–69.7)
Overall accuracy % (95% CI)	68.0 (59.8–75.3)	65.3 (57.1–72.8)	64.7 (56.4–72.2)	64.0 (55.7–71.6)	69.3 (61.2–76.5)	68.7 (60.5–75.9)	67.3 (59.1–74.7)	67.3 (59.1–74.7)

qPCR, real-time polymerase chain reaction, POCT, point-of-care test, CI, confidence interval.

Table 3. Results of eight canine parvovirus point-of-care tests of 150 faecal samples in comparison with real-time polymerase chain reaction as gold standard.

	POCT-A Negative	**POCT-A Positive**		**POCT-B Negative**	**POCT-B Positive**
qPCR-negative ***n*= 80**	80 true negative	0 false positive	**qPCR-negative** ***n*= 80**	80 true negative	0 false positive
qPCR-positive ***n*= 70**	48 false negative	22 true postive	**qPCR-positive** ***n*= 70**	52 false negative	18 true postive
Total	128	22	**Total**	132	18
	POCT-CNegative	**POCT-CPostive**		**POCT-DNegative**	**POCT-DPositive**
qPCR-negative ***n*= 80**	80 true negative	0 false positive	**qPCR-negative** ***n*= 80**	80 true negative	0 false positive
qPCR-positive ***n*= 70**	53 false negative	17 true postive	**qPCR-positive** ***n*= 70**	54 false negative	16 true postive
Total	133	17	**Total**	134	16
	POCT-ENegative	**POCT-EPositive**		**POCT-FNegative**	**POCT-FPostive**
qPCR-negative ***n*= 80**	80 true negative	0 false positive	**qPCR-negative** ***n*= 80**	80 true negative	0 false positive
qPCR-positive ***n*= 70**	46 false negative	24 true postive	**qPCR-positive** ***n*= 70**	47 false negative	23 true postive
Total	126	24	**Total**	127	23
	POCT-GNegative	**POCT-GPositive**		**POCT-HNegative**	**POCT-HPositive**
qPCR-negative ***n*= 80**	80 true negative	0 false positive	**qPCR-negative** ***n*= 80**	80 true negative	0 false positive
qPCR-positive ***n*= 70**	49 false negative	21 true postive	**qPCR-positive** ***n*= 70**	49 false negative	21 true postive
Total	129	21	**Total**	129	21

qPCR, real-time polymerase chain reaction, POCT, point-of-care test.

The specificity was excellent for all eight POCT (100.0% in all tests), as was the PPV (100.0% in all tests). There were no false positive results.

The Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E) and Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F) had the highest sensitivity (34.3% and 32.9%, respectively) and highest NPV (63.5% and 63.0%, respectively). The Primagnost® Parvo H + K (POCT-C) and FASTest® PARVO Card (POCT-D) showed the lowest sensitivity (24.3% and 22.9%, respectively) and lowest NPV (60.2% and 59.7%, respectively).

The sensitivity and specificity of the POCT results within the three groups (healthy dogs, shelter dogs, CPV infection suspected dogs) are shown in Table 4. As none of the dogs of group H and S were tested positive in any of the POCT, all qPCR-positive faecal samples of group H, as well as all qPCR-positive faecal samples of group S were false negative in every POCT. In group P, the sensitivity of the POCT varied between 32.7% (FASTest® PARVO Card (POCT-D)) and 49.0% (Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E)).

Table 4. Sensitivity and specificity of eight canine parvovirus point-of-care tests to detect canine parvovirus antigen in faeces in comparison with real-time polymerase chain reaction as gold standard for three groups (each 50 dogs).

	Tests	POCT-A	POCT-B	POCT-C	POCT-D	POCT-E	POCT-F	POCT-G	POCT-H
Group H real-time PCR-positive: 24.0% (12/50) mean virus load: 2.4×10^6	Sensitivity %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	Specificity %	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Group S real-time PCR-positive: 18.0% (9/50) mean virus load: 2.7×10^6	Sensitivity %	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	Specificity %	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Group P real-time PCR-positive: 98.0% (49/50) mean virus load: 5.3×10^{13}	Sensitivity %	44.9	36.7	34.7	32.7	49.0	46.9	42.9	42.9
	Specificity %	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

POCT, point-of-care test, qPCR, real-time polymerase chain reaction; Group H: healthy, client-owned dogs, not vaccinated against canine parvovirus during the last four weeks. Group S: healthy shelter dogs, not vaccinated against canine parvovirus during the last four weeks. Group P: dogs suspected to be infected with canine parvovirus.

3.4. Comparison of the Point-of-Care Tests

The differences among the POCT were found to be significant in group comparisons ($p = 0.0003$). The significant differences in sensitivities (shown in Table 5) were detected between the Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E) and Fassisi® Parvo (POCT-B) (McNemar's p-value: 0.04), as well as between the Primagnost® Parvo H + K (POCT-C) (McNemar's p-value: 0.02) and FASTest® PARVO Card (POCT-D) (McNemar's p-value: 0.01). The sensitivity of the Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F) was significantly different from that of the Primagnost® Parvo H + K (POCT-C) (McNemar's p-value: 0.04) and FASTest® PARVO Card (POCT-D) (McNemar's p-value: 0.02). The IDEXX Snap® Parvo (POCT-A) and FASTest® PARVO Card (POCT-D) were also found to differ significantly in sensitivity (McNemar's p-value: 0.04).

The agreement of the POCT results is shown in Table 5. For the Fassisi® Parvo (POCT-B) and Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F); the Primagnost® Parvo H + K (POCT-C) and Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E), as well as the FASTest® PARVO Card (POCT-D) and Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F) the agreement was substantial. For all other POCT, the agreement was almost perfect with Kappa values higher of than 0.80. The overall consistency of the POCT results in pairwise comparison of the eight evaluated test kits varied between 94.7% and 99.3%.

3.5. Detection Probability and Virus Culture

A regression analysis showed a significant dependence on the detection probability of the eight POCT on the virus load with p values < 0.001. A decision threshold (in the number of virus copies/g faeces) for every POCT was calculated. The threshold identified the necessary amount of virus copies/g faeces to reach a detection probability of 50% (50% correctly identified positive faecal samples). Decision thresholds varied between 1.406×10^{12} virus copies/g faeces for the POCT with the highest sensitivity (Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E)) and 1.931×10^{13} for the POCT with the lowest sensitivity (FASTest® PARVO Card (POCT-D)). The curves of all POCT with decision thresholds are shown in Figure 1.

Table 5. Results of McNemar's statistic to determine differences in sensitivity of the eight point-of-care tests detecting canine parvovirus antigen in faeces with overall consistency and kappa coefficent of the point-of-care test results in direct comparison.

						Overall Consistency in % Kappa Coefficent (κ)					
	Sensitivity in %		**POC-A**	**POC-B**	**POC-C**	**POC-D**	**POC-E**	**POC-F**	**POC-G**	**POC-H**
Mc Nemar's p-value for pairwise comparison of sensitivities	31.4	POC-A		96.00 κ = 0.83	96.67 κ = 0.85	96.00 κ = 0.82	98.67 κ = 0.95	99.33 κ = 0.97	99.33 κ = 0.97	98.00 κ = 0.92
	25.7	POC-B	0.22		96.67 κ = 0.84	97.33 κ = 0.87	96.00 κ = 0.83	95.33 κ = 0.80	96.67 κ = 0.85	96.67 κ = 0.85
	24.3	POC-C	0.07	1.00		99.33 κ = 0.97	95.33 κ = 0.80	96.00 κ = 0.83	97.33 κ = 0.88	97.33 κ = 0.88
	22.9	POC-D	**0.04** *	0.62	1.00		94.67 κ = 0.83	95.33 κ = 0.80	96.67 κ = 0.85	96.67 κ = 0.85
	34.3	POC-E	0.48	**0.04** *	**0.02** *	**0.01** *		98.00 κ = 0.92	98.00 κ = 0.92	96.67 κ = 0.87
	32.9	POC-F	1.00	0.13	**0.04** *	**0.02** *	1.00		98.67 κ = 0.95	98.67 κ = 0.95
	30.0	POC-G	1.00	0.37	0.13	0.07	0.25	0.48		97.33 κ = 0.89
	30.0	POC-H	1.00	0.37	0.13	0.07	0.37	0.48	0.62	

POCT, point-of-care test; * bold values indicate significant difference ($p \leq 0.05$); κ values < 0 indicate poor agreement, 0.00–0.20 slight, 0.21–0.40 fair, 0.41–0.60 moderate, 0.61–0.80 substantial, and 0.81–1.00 almost perfect agreement.

A viral replication in culture was not observed in any faecal sample of group H (healthy dogs) and S (shelter dogs). In group P (dogs suspected to have parvovirosis), faecal culture was positive in 36.0% (18/50) of the faecal samples, and thus in 36.7% of the qPCR-positive samples. The results of virus culture can be seen in Table S1 of the Supplementary Materials. The virus culture-positive faecal samples had significantly higher viral loads compared to those in virus culture-negative faecal samples ($p < 0.05$) (Figure 2).

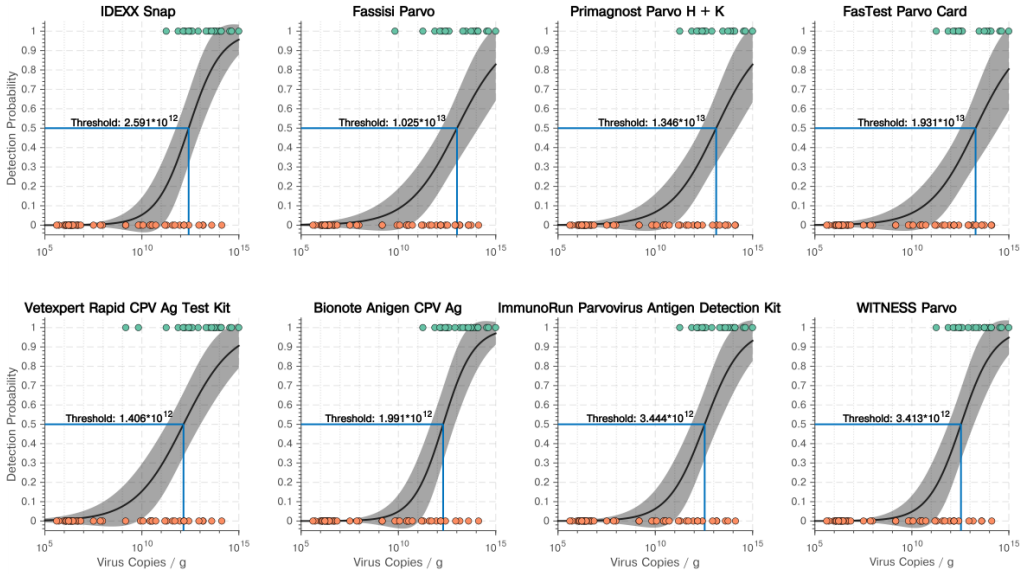

Figure 1. Results of the regression analysis showing the dependence of the detection probability on the virus load with decision thresholds (detection probability of 50%) for all eight point-of-care tests. Green points indicate correct positive point-of-care test results, red points false negative point-of-care test results.

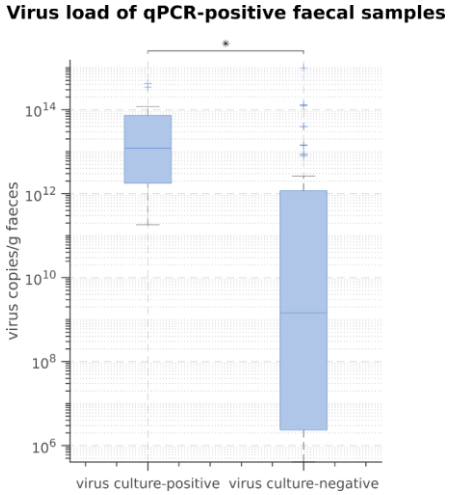

Figure 2. Results of comparison of viral loads in qPCR-positive samples between virus culture-positive and virus culture-negative faecal samples using Mann–Whitney-U-Test. * $p = 0.01$.

Sensitivities of the eight POCT of qPCR-positive and culture-positive faecal samples were between 83.3 and 94.4%; those of qPCR-positive and culture-negative faecal samples were between 1.9 and 9.5% (Table 6).

Table 6. Sensitivities of the eight point-of-care-tests in groups of real-time polymerase chain reaction-positive, virus culture-positive, real-time polymerase chain reaction-positive, and virus culture-negative faecal samples.

	POCT-A	POCT-B	POCT-C	POCT-D	POCT-E	POCT-F	POCT-G	POCT-H
Sensitivity culture-positive faecal samples (in %)	94.4	83.3	83.3	83.3	83.3	94.4	88.9	94.4
Sensitivity culture-negative faecal sample (in %)	9.6	5.8	3.8	1.9	13.5	11.5	9.6	7.7

POCT, point-of-care test.

4. Discussion

CPV infection causes an acute and severe disease with a high mortality. Therefore, a fast and correct diagnosis is extremely important. The reference standard qPCR has to be performed in specialized laboratories and results are available generally no earlier than after a few days. Thus, POCT for in-house testing are an important measure to diagnose infected dogs immediately and directly at the veterinarian. Therefore, the aim of this study was to evaluate eight POCT regarding practicability, sensitivity, specificity, NPV, PPV, and overall accuracy when compared to qPCR.

The current study showed an excellent specificity of 100.0% of all eight POCT, with no false positive test results in all POCT. However, it has to be considered, that only dogs not vaccinated against CPV during the last four weeks, were included in groups H and S. A previous study showed the shedding of field and vaccination strains of CPV in 23.0% of dogs up to 28 days after modified-live vaccination, detected by qPCR [22]. This could lead to positive POCT results in the post-vaccination period, although in previous studies no positive POCT results after vaccination were observed despite high viral titres [14,17,23]. Three dogs of group P were vaccinated against CPV during the last four weeks. As described above, this could potentially have led to false positive test results in POCT and qPCR. All dogs of group P showed clinical signs of an infection with CPV. Consequently, it was assumed that these three dogs were not only shedding the vaccination virus but were infected with CPV and therefore tested correctly positive.

All eight POCT used in this study were easy to perform and practicability was comparable for all of them. However, the overall sensitivity of the POCT for all dogs (group H, S and P) was very low (between 22.9% and 34.3%) with the Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E) being the test with the highest sensitivity, and the FASTest® PARVO Card (POCT-D) being the test with the lowest sensitivity. For the test performance, sensitivity (correctly positive-identified faecal samples) was considered as the most important parameter to avoid virus spread by unrecognized infected dogs and to provide intensive treatment to every dog with a symptomatic CPV infection. It must be considered that the POCT were only performed once and not repeated on the same fecal sample which, however, is the normal situation in the field where POCT are not repeated. In former studies, the sensitivity of the POCT showed great variability with values between 15.8% and 80.4% [12,14,16,17]. The reasons for the variability of sensitivities might be differences in the virus load of the faecal samples. Some former studies [12,16] did not rule out the correlation between POCT results and virus load which limits the comparability. In the present study, the detection probability of all POCT depended on the virus load. The lower the number of virus copies/g faeces, the lower the detection probability of the POCT. Therefore, a correlation between false negative POCT results and low virus loads was clearly shown in the present study which was in line with the results from Decaro and colleagues (2010) [17] and Proksch and colleagues (2015) [15]. Proksch and colleagues (2015) [15] showed that 51.3% of the IDEXX Snap® Parvo test results compared to qPCR were false negative, with the false negative faecal samples in POCT having significantly lower viral loads. Decaro and colleagues (2010) [17] demonstrated that the IDEXX Snap® Parvo had a good sensitivity of 80.4%, 78.0% and 77.0% for the detection of CPV 2-a, -b

and -c compared to qPCR. However, the relatively high sensitivity rate in that study was likely the result of the preselection of samples to only include those containing high viral loads (>10^8 DNA copies/g faeces). In the present study, the mean virus load in group H and S was 10^6 DNA copies/g faeces and consequently significantly lower than the one in the preselected samples of Decaro and colleagues (2010) [17]. All qPCR-positive faecal samples of groups H and S were tested as false negative in every POCT. Therefore, the present study confirmed that samples with low virus loads could not be detected by POCT, only by qPCR. However, it must be mentioned that none of the samples of group H and S contained intact and infectious CPV in virus culture.

The overall low sensitivity of all POCT in the present study was partially caused by the high number of false negative results in groups H and S, presumably due to low virus loads. The dogs from both groups were healthy and showed no gastrointestinal signs. Schmitz and colleagues (2009) [16] also evaluated POCT with faeces from different groups of dogs, including dogs with acute hemorrhagic diarrhea, chronic hemorrhagic diarrhea and without gastrointestinal signs. The sensitivities of the POCT in this study were comparable to the results of the present study, with 18.4% for the IDEXX Snap® Parvo, 15.8% for the FASTest® PARVO Strip and 26.3% for the WITNESS® Parvo card, and false negative POCT results also continuously occurred in the group of dogs without gastrointestinal signs, as well as in dogs with chronic haemorrhagaic diarrhea. The testing of clinically healthy animals was performed to identify asymptomatic virus shedders, for example in animal shelters [24]. The results of the present study showed that POCT were not useful at least in healthy dogs.

It was remarkable that 24.0% of the dogs in group H and 18.0% of the dogs in group S were qPCR-positive, respectively. None of these dogs were vaccinated against CPV within the last four weeks, and all dogs were healthy without any clinical signs. In a study by Freisl and colleagues (2017) [22], CPV shedding was also detected in healthy, client-owned dogs, but their prevalence was lower with 2.0%. Subclinical infections are the most likely reason for these positive PCR results. The role of subclinically infected dogs is not clear yet. Bergmann and colleagues (2019) [25] found FPV and CPV field virus DNA in clinically healthy cats. In that study, virus replication in virus culture showed that these cats shed an intact and infectious form of the virus and this is most likely possible for clinically asymptomatic dogs as well. With shedding infectious virus, these dogs might infect other susceptible animals and cause environmental contamination. However, in the present study, virus growth in virus cultures and, consequently, the excretion of the infectious field virus could not be detected for any of the asymptomatic dogs of group H and S. It must be considered that the qPCR detects viral DNA and not infectious viruses. Therefore, the role of positive qPCR results in asymptomatic dogs, as well as the importance of these dogs for environmental contamination should further be clarified in future studies.

In practice, dogs that are being tested by the veterinarian for CPV infection commonly show gastrointestinal signs. Thus, in the present study, group P represents the group, where POCT are most commonly used. In this group, 98.0% of the faecal samples were qPCR-positive and, consequently, these dogs suffered from a clinically relevant parvovirosis. The mean virus load of this group was 10^{13} DNA copies/g faeces and notably higher than that in groups H and S (10^6 DNA copies/g faeces). The results of the virus culture showed a growth of intact CPV in 36.0% of all faecal samples of group P. The sensitivities of the POCT using only samples from group P were between 32.7 and 49.0%. This is still much too low and comparable with the results of a study from Proksch and colleagues (2015) evaluating a POCT only with samples from dogs with confirmed parvovirosis [16].

A reason for the false negative POCT results in group P could be the time of testing. Experimental studies showed that CPV shedding started 3–4 days after inoculation [26,27] with the highest virus shedding 4–7 days after inoculation [5,26]. As qPCR was able to detect lower virus loads, infections in the early and late stages might only be recognized by qPCR, but not by POCT. Despite the high viral loads, some faecal samples of group P tested negative in all POCT. One possible explanation for this finding might be the consinstency

of the faeces of these samples. Their texture was very bloody with significant mucous membrane particles which could cause detection problems. In addition, POCT detected virions, whereas qPCR detected DNA particles; therefore, infected cells might contain more DNA particles than virions [14]. Another reason for false negative POCT results could be high titres of interfering antibodies, which sequestrate viral antigen. Thus, the antigen might not be detected by POCT [15,17]. This could explain, why some faecal samples of group P in this study were not detected by any POCT in spite of high viral loads and positive faecal virus cultures.

One limitation is that all POC tests were only performed once. Thus, operating errors, which could have been minimized with multiple test runs, must be taken into consideration. Accordingly, the sensitivity and specificity of the POCT, as reported in the present study could be subject to inter-operator variability and could deviate in clinical practice depending on the exact operating conditions. Therefore, the sensitivities of the POCT determined in the present study represented only a general statement and no absolute rating. However, POCT were also generally not repeated in veterinary practice, and thus the present study mimics the practice situation in which the POCT are used. Larger clinical studies including the analysis of inter-operator and inter-reader variability would be useful to ascertain the clinical accuracy of the POCT.

5. Conclusions

In conclusion, all POCT were easy to perform and were suitable as screening tests in veterinary practices and clinics. A positive POCT result confirmed an infection with CPV in dogs not vaccinated against CPV within the last weeks. However, due to the low sensitivities and following false negative test results in all POCT, a negative POCT result could not definitely rule out a parvovirus infection. In this study, the sensitivity of all POCT in group P ranged from 32.7% to 49.0%. Based on these results, in the case of a negative POCT, a confirmatory PCR test should be performed in dogs showing clinical signs of CPV infection. In healthy dogs, POCT are not useful. Although the Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E) showed the highest sensitivity compared to the other POCT, the sensitivity of all POCT was too low and must be improved to avoid false negative test results. The qPCR was able to detect very small amounts of viral DNA and, consequently, detect subclinical infections. The importance of a positive qPCR result in clinically healthy dogs still has to be clarified.

Supplementary Materials: The following are available online at https://www.mdpi.com/article/10.3390/v13102080/s1, Table S1: Age and vaccination status of the 150 dogs, results of eight point-of-care tests, real-time polymerase chain reaction (incl. virus load/g faeces) and virus culture for detection of canine parvovirus of 150 faecal samples (three groups; group H: healthy dogs, group S: shelter dogs, group p: dogs with suspicion of parvovirosis).

Author Contributions: Conceptualization, K.H. and M.B.; methodology, K.H., M.B. and K.W.; formal analysis, J.W.-W.; investigation, J.W.-W., K.W. and U.T.; resources, K.H. and U.T.; data curation, J.W.-W. and C.M.; writing—original draft preparation, J.W.-W., M.B. and K.H.; writing—review and editing, K.H., M.B., K.W., C.M. and U.T.; visualization, J.W.-W.; supervision, K.H. and M.B.; project administration, K.H. and M.B.; funding acquisition, K.H. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: IDEXX Snap® Parvo, Fassisi® Parvo, Primagnost® Parvo H + K, FASTest® PARVO Card, Vetexpert Rapid Test CPV Ag®, Anigen Rapid CPV Ag Test Kit®, and WITNESS® Parvo were kindly provided for free by the companies. The companies played no role in the interpretation of data or in the decision to submit the manuscript for publication. Other than receiving the POC tests, this research received no external founding.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of the LMU Munich (protocol code 53-09-09-2015).

Informed Consent Statement: Informed consent statement was not necessary because only faecal samples were collected.

Data Availability Statement: The authors confirm that the datasets analyzed during the study are available from the first and corresponding author upon reasonable request.

Acknowledgments: We thank Dana Rüster from the Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health, University of Leipzig, for processing of the samples by qPCR and virus culture. We thank IDEXX, Fassisi, Dechra, Megacor, Bionote, Vetexpert and Zoetis for providing the POCT for free.

Conflicts of Interest: The authors declare no potential conflict of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article. Although the POCT were provided for free by IDEXX, Fassisi, Dechra, Megacor, Bionote, Vetexpert and Zoetis, the funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results. There is no commercial conflict of interest as the information generated here is solely for scientific dissemination. The authors declare that they have no competing interests.

References

1. Appel, M.; Scott, F.; Carmichael, L. Isolation and immunisation studies of a canine parco-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *Vet. Rec.* **1979**, *105*, 156. [CrossRef]
2. Truyen, U. Evolution of canine parvovirus—a need for new vaccines? *Vet. Microbiol.* **2006**, *117*, 9–13. [CrossRef] [PubMed]
3. Truyen, U. Emergence and recent evolution of canine parvovirus. *Vet. Microbiol.* **1999**, *69*, 47–50. [CrossRef]
4. Parrish, C.R.; Aquadro, C.F.; Strassheim, M.; Evermann, J.; Sgro, J.; Mohammed, H. Rapid antigenic-type replacement and DNA sequence evolution of canine parvovirus. *J. Virol.* **1991**, *65*, 6544–6552. [CrossRef] [PubMed]
5. Goddard, A.; Leisewitz, A.L. Canine parvovirus. *Vet. Clin. Small Anim. Pract.* **2010**, *40*, 1041–1053. [CrossRef]
6. Buonavoglia, C.; Martella, V.; Pratelli, A.; Tempesta, M.; Cavalli, A.; Buonavoglia, D.; Bozzo, G.; Elia, G.; Decaro, N.; Carmichael, L. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *J. Gen. Virol.* **2001**, *82*, 3021–3025. [CrossRef]
7. Decaro, N.; Buonavoglia, C. Canine parvovirus—a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Vet. Microbiol.* **2012**, *155*, 1–12. [CrossRef]
8. McCandlish, I.A.; Thompson, H.; Fisher, E.; Cornwell, H.; Macartney, J.; Walton, I. Canine parvovirus infection. *Practice* **1981**, *3*, 5–14. [CrossRef]
9. Macintire, D.K.; Smith-Carr, S. Canine parvovirus. II. Clinical signs, diagnosis, and treatment. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* **1997**, *19*, 291–302.
10. Sykes, J.E. Canine parvovirus infections and other viral enteritides. In *Canine and Feline Infectious Diseases*, 1st ed.; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, 2014; pp. 141–151.
11. Kalli, I.; Leontides, L.S.; Mylonakis, M.E.; Adamama-Moraitou, K.; Rallis, T.; Koutinas, A.F. Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. *Res. Vet. Sci.* **2010**, *89*, 174–178. [CrossRef]
12. Desario, C.; Decaro, N.; Campolo, M.; Cavalli, A.; Cirone, F.; Elia, G.; Martella, V.; Lorusso, E.; Camero, M.; Buonavoglia, C. Canine parvovirus infection: Which diagnostic test for virus? *J. Virol. Methods* **2005**, *126*, 179–185. [CrossRef]
13. Decaro, N.; Elia, G.; Martella, V.; Desario, C.; Campolo, M.; Di Trani, L.; Tarsitano, E.; Tempesta, M.; Buonavoglia, C. A real-time PCR assay for rapid detection and quantitation of canine parvovirus type 2 in the feces of dogs. *Vet. Microbiol.* **2005**, *105*, 19–28. [CrossRef] [PubMed]
14. Decaro, N.; Desario, C.; Billi, M.; Lorusso, E.; Colaianni, M.; Colao, V.; Elia, G.; Ventrella, G.; Kusi, I.; Bo, S. Evaluation of an in-clinic assay for the diagnosis of canine parvovirus. *Vet. J.* **2013**, *198*, 504–507. [CrossRef] [PubMed]
15. Proksch, A.; Unterer, S.; Speck, S.; Truyen, U.; Hartmann, K. Influence of clinical and laboratory variables on faecal antigen ELISA results in dogs with canine parvovirus infection. *Vet. J.* **2015**, *204*, 304–308. [CrossRef] [PubMed]
16. Schmitz, S.; Coenen, C.; Matthias, K.; Heinz-Jürgen, T.; Neiger, R. Comparison of three rapid commercial canine parvovirus antigen detection tests with electron microscopy and polymerase chain reaction. *J. Vet. Diagn. Investig.* **2009**, *21*, 344–345. [CrossRef] [PubMed]
17. Decaro, N.; Desario, C.; Beall, M.J.; Cavalli, A.; Campolo, M.; DiMarco, A.A.; Amorisco, F.; Colaianni, M.L.; Buonavoglia, C. Detection of canine parvovirus type 2c by a commercially available in-house rapid test. *Vet. J.* **2010**, *184*, 373–375. [CrossRef]
18. Day, M.J.; Horzinek, M.; Schultz, R.; Squires, R. WSAVA guidelines for the vaccination of dogs and cats. *J. Small Anim. Pract.* **2016**, *57*, E1. [CrossRef]
19. Streck, A.F.; Rüster, D.; Truyen, U.; Homeier, T. An updated TaqMan real-time PCR for canine and feline parvoviruses. *J. Virol. Methods* **2013**, *193*, 6–8. [CrossRef]
20. O'Connor, T.P. SNAP assay technology. *Top. Companion Anim. Med.* **2015**, *30*, 132–138. [CrossRef]
21. Landis, J.R.; Koch, G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* **1977**, *33*, 159–174. [CrossRef] [PubMed]

22. Freisl, M.; Speck, S.; Truyen, U.; Reese, S.; Proksch, A.-L.; Hartmann, K. Faecal shedding of canine parvovirus after modified-live vaccination in healthy adult dogs. *Vet. J.* **2017**, *219*, 15–21. [CrossRef]
23. Decaro, N.; Crescenzo, G.; Desario, C.; Cavalli, A.; Losurdo, M.; Colaianni, M.L.; Ventrella, G.; Rizzi, S.; Aulicino, S.; Lucente, M.S. Long-term viremia and fecal shedding in pups after modified-live canine parvovirus vaccination. *Vaccine* **2014**, *32*, 3850–3853. [CrossRef]
24. Appel, L.D.; Barr, S.C. Canine parvovirus and coronavirus. In *Infectious Disease Management in Animal Shelters*; Wiley-Blackwell Ames, IA: Hoboken, NJ, USA, 2009; pp. 197–208.
25. Bergmann, M.; Schwertler, S.; Speck, S.; Truyen, U.; Reese, S.; Hartmann, K. Faecal shedding of parvovirus deoxyribonucleic acid following modified live feline panleucopenia virus vaccination in healthy cats. *Vet. Rec.* **2019**, *185*, 83. [CrossRef] [PubMed]
26. Macartney, L.; McCandlish, I.; Thompson, H.; Cornwell, H. Canine parvovirus enteritis 2: Pathogenesis. *Vet. Rec.* **1984**, *115*, 453–460. [CrossRef] [PubMed]
27. Meunier, P.; Cooper, B.; Appel, M.; Slauson, D. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: The importance of viremia. *Vet. Pathol.* **1985**, *22*, 60–71. [CrossRef] [PubMed]

viruses MDPI

Supplementary material

Table S1. Age and vaccination status of the 150 dogs, results of eight point-of-care tests, real-time polymerase chain reaction (incl. virus load/g faeces) and virus culture for detection of canine parvovirus of 150 faecal samples (three groups; group H: healthy dogs, group S: shelter dogs, group p: dogs with suspicion of parvovirosis).

#	Age (in years)	Vac. status	Group	Snap® Parvo (POCT-A)	Fassisi® Parvo (POCT-B)	Primagnost® Parvo H + K (POCT-C)	FASTest® PARVO Card (POCT-D)	Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E)	Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F)	ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit (POCT-G)	WITNESS® Parvo (POCT-H)	qPCR	Virus load/g faeces	Virus culture
1	12	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2,15E+06	-
2	8	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	9	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,19E+06	-
4	9	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	12	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	12	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2,17E+06	-
7	4	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	3	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	9	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	5	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	7	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	10	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	+	4,65E+06	-
#	Age (in years)	Vac. status	Group	Snap® Parvo (POCT-A)	Fassisi® Parvo (POCT-B)	Primagnost® Parvo H + K (POCT-C)	FASTest® PARVO Card (POCT-D)	Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E)	Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F)	ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit (POCT-G)	WITNESS® Parvo (POCT-H)	qPCR	Virus load/g faeces	Virus culture
13	4	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	4	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	9	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	4	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	5	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	11	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	0.9	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	6	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	10	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	4	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	0.8	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

24	12	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	7	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	11	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
#	**Age (in years)**	**Vac. Status**	**Group**	**Snap® Parvo (POCT-A)**	**Fassisi® Parvo (POCT-B)**	**Primagnost® Parvo H + K (POCT-C)**	**FASTest® PARVO Card (POCT-D)**	**Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E)**	**Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F)**	**ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit (POCT-G)**	**WITNESS® Parvo (POCT-H)**	**qPCR**	**Virus load/g faeces**	**Virus culture**
27	2	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	9	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	1	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	5	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	2	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	4	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	9	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	1	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2,51E+06	-
35	0.6	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	+	5,48E+06	-
36	2	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	2	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	3	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	+	4,83E+06	-
39	11	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	10	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
#	**Age (in years)**	**Vac. status**	**Group**	**Snap® Parvo (POCT-A)**	**Fassisi® Parvo (POCT-B)**	**Primagnost® Parvo H + K (POCT-C)**	**FASTest® PARVO Card (POCT-D)**	**Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E)**	**Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F)**	**ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit (POCT-G)**	**WITNESS® Parvo (POCT-H)**	**qPCR**	**Virus load/g faeces**	**Virus culture**
41	2	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	11	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	4	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	12	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	0.8	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	8	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	+	9,35E+05	-
47	5	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	8	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	+	5,27E+05	-
49	10	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	9	not last 4 weeks	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

51	4	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52	11	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	2	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,20E+06	-
54	2	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
#	**Age (in years)**	**Vac. status**	**Group**	**Snap® Parvo (POCT-A)**	**Fassisi® Parvo (POCT-B)**	**Primagnost® Parvo H + K (POCT-C)**	**FASTest® PARVO Card (POCT-D)**	**Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E)**	**Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F)**	**ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit (POCT-G)**	**WITNESS® Parvo (POCT-H)**	**qPCR**	**Virus load/g faeces**	**Virus culture**
55	4	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	5	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57	3	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	6	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	+	7,05E+06	-
59	8	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	3	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61	2	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
62	10	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
63	8	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	6	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
65	4	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	2	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
67	11	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
68	7	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
#	**Age (in years)**	**Vac. status**	**Group**	**Snap® Parvo (POCT-A)**	**Fassisi® Parvo (POCT-B)**	**Primagnost® Parvo H + K (POCT-C)**	**FASTest® PARVO Card (POCT-D)**	**Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E)**	**Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F)**	**ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit (POCT-G)**	**WITNESS® Parvo (POCT-H)**	**qPCR**	**Virus load/g faeces**	**Virus culture**
69	7	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
70	3	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71	4	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72	2	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	+	3,74E+06	-
73	6	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2,97E+06	-
74	2	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2,08E+06	-
75	5	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76	2	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
77	10	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

78	9	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79	4	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	13	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
81	3	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
82	6	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
#	**Age (in years)**	**Vac. status**	**Group**	**Snap® Parvo (POCT-A)**	**Fassisi® Parvo (POCT-B)**	**Primagnost® Parvo H + K (POCT-C)**	**FASTest® PARVO Card (POCT-D)**	**Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E)**	**Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F)**	**ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit (POCT-G)**	**WITNESS® Parvo (POCT-H)**	**qPCR**	**Virus load/g faeces**	**Virus culture**
83	11	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84	5	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	10	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
86	2	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
87	6	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,70E+06	-
88	4	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
89	9	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2,60E+06	-
90	6	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2,83E+06	-
91	1	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
92	2	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
93	6	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
94	2	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
95	6	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96	8	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,17E+06	-
#	**Age (in years)**	**Vac. status**	**Group**	**Snap® Parvo (POCT-A)**	**Fassisi® Parvo (POCT-B)**	**Primagnost® Parvo H + K (POCT-C)**	**FASTest® PARVO Card (POCT-D)**	**Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E)**	**Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F)**	**ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit (POCT-G)**	**WITNESS® Parvo (POCT-H)**	**qPCR**	**Virus load/g faeces**	**Virus culture**
97	9	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,32E+06	-
98	6	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	+	4,05E+05	-
99	4	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100	2	not last 4 weeks	H	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,64E+06	-
101	0.30	8 weeks 12 weeks	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	3,38E+10	-
102	0.19	not vac.	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	8,86E+11	-
103	0.25	unknown	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	4,00E+13	-
104	0.92	6 weeks 10 weeks	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2,62E+12	-

105	0.25	6 weeks 8 weeks	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,32E+14	-
106	0.25	8 weeks	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2,71E+10	-
107	0.83	unknown	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,44E+13	-
108	0.33	not vac.	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	9,40E+07	-
109	0.19	not vac.	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1,00E+14	+
110	0.58	7 weeks 11 weeks	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,45E+09	-
#	**Age (in years)**	**Vac. status**	**Group**	**Snap® Parvo (POCT-A)**	**Fassisi® Parvo (POCT-B)**	**Primagnost® Parvo H + K (POCT-C)**	**FASTest® PARVO Card (POCT-D)**	**Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E)**	**Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F)**	**ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit (POCT-G)**	**WITNESS® Parvo (POCT-H)**	**qPCR**	**Virus load/g faeces**	**Virus culture**
111	0.25	unknown	P	-	-	-	-	-	+	-	+	+	1,41E+13	-
112	0.33	12 weeks	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1,21E+14	+/-
113	0.42	8 weeks 12 weeks	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2,64E+10	-
114	0.17	unknown	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	7,23E+07	-
115	0.25	unknown	P	+	-	+	+	+	+	+	+	+	3,32E+12	+
116	0.92	10 weeks 12 weeks	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	8,53E+09	-
117	0.58	unknown	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	3,40E+10	-
118	0.67	8 weeks 12 weeks	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,68E+06	-
119	0.21	not vac	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,47E+12	-
120	0.67	not vac	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	3,20E+07	-
121	0.42	not vac	P	+	-	-	-	+	+	+	-	+	1,45E+12	-
122	0.15	6 weeks	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9,88E+14	-
123	0.19	unknown	P	-	-	-	-	+	-	-	-	+	1,48E+09	-
124	0.19	unknown	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,50E+12	-
#	**Age (in years)**	**Vac. Status**	**Group**	**Snap® Parvo (POCT-A)**	**Fassisi® Parvo (POCT-B)**	**Primagnost® Parvo H + K (POCT-C)**	**FASTest® PARVO Card (POCT-D)**	**Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E)**	**Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F)**	**ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit (POCT-G)**	**WITNESS® Parvo (POCT-H)**	**qPCR**	**Virus load/g faeces**	**Virus culture**
125	0.27	8 weeks	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	8,73E+12	-
126	0.33	unknown	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2,85E+12	+
127	0.15	4 weeks	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2,94E+13	+
128	0.08	not vac.	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	7,27E+13	+
129	0.10	4 weeks	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5,43E+13	+
130	2.00	not vac.	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1,76E+12	+
131	0.50	6 weeks 9 weeks	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	7,45E+11	+
132	0.25	unknown	P	+	+	-	-	+	+	+	+	+	2,04E+13	+
133	0.42	12 weeks	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3,99E+12	+
134	0.67	6 weeks	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1,36E+12	+
135	0.67	unknown	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1,80E+11	+
136	1.67	unknown	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	2,58E+12	+
137	0.27	8 weeks	P	-	+	-	-	+	-	-	-	+	6,65E+09	-
138	0.19	unknown	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	3,85E+11	-

#	Age (in years)	Vac. status	Group	Snap® Parvo (POCT-A)	Fassisi® Parvo (POCT-B)	Primagnost® Parvo H + K (POCT-C)	FASTest® PARVO Card (POCT-D)	Vetexpert Rapid Test CPV Ag® (POCT-E)	Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (POCT-F)	ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit (POCT-G)	WITNESS® Parvo (POCT-H)	qPCR	Virus load/g faeces	Virus culture
139	0.58	8 weeks 12 weeks	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	3,43E+14	+
140	0.15	unknown	P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	4,21E+14	+
141	0.33	unknown	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,16E+10	-
142	0.10	unknown	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	5,00E+11	-
143	0.10	unknown	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	5,22E+10	-
144	0.10	unknown	P	+	+	-	-	+	+	+	+	+	1,25E+14	-
145	0.15	unknown	P	+	-	-	-	+	+	-	+	+	5,48E+13	+
146	0.17	unknown	P	+	-	-	-	+	+	+	-	+	3,96E+13	-
147	0.27	not vac.	P	+	-	+	-	+	+	+	+	+	8,00E+12	-
148	0.15	6 weeks	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,90E+11	+
149	0.15	unknown	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	1,55E+11	-
150	0.58	unknown	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

qPCR, real-time polymerase chain reaction, POCT, point-of-care test, Vac., vaccinated.

IV. DISKUSSION

Ziel von **Publikation I** war es, eine Übersicht über die aktuell verfügbaren POC-Tests zum Nachweis von Infektionskrankheiten beim Hund zu geben, aus der ihre Qualität und ihr Nutzen für den praktischen Tierarzt hervorgehen. Entscheidende Kriterien zur Beurteilung der Qualität stellen die Sensitivität und die Spezifität dar. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass der Nachweis von Antigen oder Antikörpern auch mit dem Auftreten einer klinischen Erkrankung einhergeht. POC-Tests sind eine wichtige Alternative zu aufwendigen Laborverfahren und können auf Basis eines Enzym-gekoppelten Immunadsorptionstests (ELISA) oder anderen immunchromatischen Testverfahren direkt in der Praxis Antigen oder Antikörper nachweisen. POC-Tests zum Nachweis von *D.-immitis*-Antigen im Blut besitzen eine sehr hohe Sensitivität (zwischen 78 und 99 %) und Spezifität (zwischen 96 und 100 %) und sind zur Diagnose der Herzwurmerkrankung sehr gut geeignet (ATKINS, 2003; CHANDRASHEKAR et al., 2010; STILLMAN et al., 2014; STARKEY et al., 2017). Dies gilt ebenso für die meisten POC-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *L. infantum* (Sensitivität zwischen 59 und 100%; Spezifität zwischen 95 und 100 %) und *E. canis* (Sensitivität zwischen 61 und 98 %; Spezifität zwischen 92 und 100 %) (BÉLANGER et al., 2002; HARRUS et al., 2002; CHANDRASHEKAR et al., 2010; STILLMAN et al., 2014; LIU et al., 2018; VILLANUEVA-SAZ et al., 2019; VILLANUEVA-SAZ et al., 2022). POC-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *Leptospira* Spezies (spp.) besitzen zwar auch eine relativ hohe Sensitivität (zwischen 76 und 100 %) und Spezifität (zwischen 75 und 100 %), können jedoch nicht zwischen Antikörpern aufgrund einer Infektion oder nach einer Impfung unterscheiden (DEY et al., 2007; ABDOEL et al., 2011; KODJO et al., 2016; GLOOR et al., 2017; LIZER et al., 2017; TROÌA et al., 2018). Da die Impfung gegen Leptospirose beim Hund eine Core-Vakzine darstellt und jeder Hund einmal jährlich geimpft werden sollte, führt diese Interferenz häufig zu Problemen bei der Diagnose eines Hundes mit Verdacht auf Leptospirose (SYKES et al., 2011). POC-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* bestätigen nur den Kontakt mit dem Erreger (LEVY und MAGNARELLI, 1992). Zur Diagnose einer klinischen Borreliose sind sie nicht geeignet, da viele Hunde Antikörper-positiv, aber nicht klinisch manifest erkrankt sind. Ein negativer POC-Test kann jedoch eine klinische Borreliose ausschließen,

da der klinischen Symptomatik immer eine Antikörperbildung vorausgeht (LITTMAN et al., 2006). POC-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *A. phagocytophilum* sind zur Diagnose einer klinischen Anaplasmose ungeeignet, denn auch hier entwickeln nur wenige Tiere klinische Symptome und wenn, dann in der Regel vor der Bildung von Antikörpern (CARRADE et al., 2009).

Ziel der Studie in **Publikation II** war es, die Qualität 8 kommerziell erhältlicher POC-Tests zum Nachweis von caninem Parvovirus-Antigen im Kot von Hunden im Vergleich zur real-time PCR zu evaluieren. Hierbei wurden Praktikabilität, Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert sowie Gesamtgenauigkeit betrachtet. Zudem wurden die Ergebnisse der einzelnen POC-Tests untereinander verglichen. Hierfür wurden 150 Kotproben aus 3 verschiedenen Gruppen (Gruppe H: gesunde Hunde; Gruppe S: Hunde mit hohem Infektionsrisiko; Gruppe P: Parvovirose-verdächtige Hunde) mittels des Goldstandards zum Nachweis von CPV im Kot, der real-time PCR, sowie den 8 POC-Tests untersucht. Die Gruppen H und S wurden in die Studie eingeschlossen, um die Prävalenz von CPV bei klinisch gesunden Hunden sowie die Sinnhaftigkeit des Einsatzes von POC-Tests bei diesen Hunden zu evaluieren.

Interessanterweise wurden sowohl 24 % der gesunden Hunde als auch 18 % der Hunde mit erhöhtem Infektionsrisiko positiv mittels PCR auf CPV getestet. Alle diese Hunde waren gesund, zeigten keine Symptome einer klinischen Parvovirose und wurden in den letzten 4 Wochen nicht gegen CPV geimpft. Dass auch gesunde Hunde CPV ausscheiden können, ist bekannt, jedoch war die Prävalenz in 2 vorangegangenen Studien mit 2 % bei gesunden Hunden (FREISL et al., 2017) und 12 % in einer Gruppe von gesunden Hunden und Hunden mit chronischem Durchfall (SCHMITZ et al., 2009) weitaus niedriger. Ursache für eine CPV-Ausscheidung bei gesunden Tieren ist meist eine subklinische Infektion. Durch vorangegangenen Kontakt zu Impf- oder Feldvirus besitzen diese Tiere vermutlich Antikörper und entwickeln trotz Infektion keine Symptome (GREENE und DECARO, 2012). Eine denkbare Erklärung für die hohe Prävalenz bei Hunden mit hohem Infektionsrisiko (Gruppe S) ist ein erhöhter Infektionsdruck aufgrund der hohen Populationsdichte im Tierheim. Interessanterweise ist der Prozentsatz in der Gruppe der gesunden Hunde (Gruppe H) noch höher. Auch die Hunde aus Gruppe H stammen zum Teil aus Haushalten mit mehreren Hunden. CPV ist extrem stabil in der Umwelt (DECARO und BUONAVOGLIA, 2012), weshalb jeder Hund

immer wieder Kontakt zu CPV hat. Welche Rolle diese subklinisch infizierten Hunde für eine Kontamination der Umwelt und als Infektionsquelle für andere Hunde spielen, ist bisher noch nicht genau geklärt. Es muss jedoch bedacht werden, dass mittels PCR nur Virus-Desoxyribonukleinsäure (DNA) detektiert wird und keine Aussage getroffen werden kann, ob es sich um intaktes, vermehrungsfähiges Virus handelt. Hierfür ist die Durchführung einer Viruskultur notwendig. In einer kürzlich durchgeführten Studie aus Deutschland konnte aber mittels Viruskultur nachgewiesen werden, dass gesunde Katzen nicht nur DNA, sondern intakte, vermehrungsfähige Parvoviren (canines Parvovirus (CPV) und felines Parvovirus (FPV)) ausscheiden können (BERGMANN et al., 2019). In der vorliegenden Studie wurden mit 2,4 x 10^6 Kopien/g Kot für Gruppe H und 2,7 x 10^6 Kopien/g Kot für Gruppe S nur sehr geringe Virusmengen ausgeschieden. Da alle PCR-positiven Hunde in diesen Gruppen nur subklinisch infiziert waren, ist davon auszugehen, dass sie Antikörper gegen CPV besaßen. Diese Antikörper sind in der Lage, CPV zu neutralisieren (DECARO et al., 2005b), was eine mögliche Erklärung für die geringen Viruslasten im Kot der Hunde aus Gruppe H und S ist. Auch war die Viruskultur in der aktuellen Studie bei allen PCR-positiven Kotproben der Hunde aus Gruppe H und S negativ. Folglich schieden diese Hunde nur sehr wenig oder kein vermehrungsfähiges Virus aus. Die vorliegende Studie unterstützt die These, dass subklinische CPV-Infektionen beim Hund häufig vorkommen. Um zu klären, inwieweit diese Hunde allerdings vermehrungsfähiges Virus ausscheiden, sind weitere Studien notwendig. Auch muss geklärt werden, inwieweit die Menge an ausgeschiedenem Virus ausreichend ist, um andere empfängliche Hunde zu infizieren und inwiefern die Hundepopulation sich hiermit selbst regelmäßig natürlich boostert.

Bei der caninen Parvovirose stellt die Sensitivität eines Tests das wichtigste Qualitätsmerkmal für direkte Erregernachweisverfahren und somit auch für die POC-Tests dar. Falsch-negative Testergebnisse sollten in jedem Fall vermieden werden. Zum einen, weil aufgrund der hohen Infektiosität infizierte Tiere umgehend isoliert werden müssen, bevor sie wiederum andere Tiere anstecken können. Zum anderen, um den Tieren so schnell wie möglich die lebensnotwendige Intensivtherapie zukommen zu lassen. Alle in dieser Studie evaluierten POC-Tests wiesen jedoch nur eine geringe Sensitivität zwischen 22,9 und 34,3 % insgesamt und zwischen 32,7 und 49,0 % in der Gruppe der Parvovirose-verdächtigen Hunde

(Gruppe P) auf. Hierbei schnitten der Vetexpert Rapid Test CPV AG® (34,3 % insgesamt; 49,0 % Gruppe P) und der Anigen Rapid CPV Ag Test Kit® (32,9 % insgesamt; 46,9 % Gruppe P) am besten ab, der Primagnost Parvo® H + K (24,3 % insgesamt, 34,7 % Gruppe P) und der FASTest® Parvo Card (22,9 % insgesamt, 32,7 % Gruppe P) am schlechtesten. In vorherigen Studien schwanken die Angaben bezüglich der Sensitivität von POC-Tests zwischen 15,8 und 80,4 % je nach Studie sehr stark (DESARIO et al., 2005; SCHMITZ et al., 2009; DECARO et al., 2010; DECARO et al., 2013; PROKSCH et al., 2015). Eine Ursache für diese stark variierenden Werte sind Unterschiede in der Viruslast der verwendeten Proben. In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass die Erkennungswahrscheinlichkeit der POC-Tests von der Viruslast der Proben abhängt. Je höher die Viruslast, desto wahrscheinlicher wird eine Kotprobe als korrekt positiv durch die POC-Tests erkannt. So konnte bei einer Viruslast von 1,4 x 10^{12} Kopien/g Kot der Test mit der höchsten Sensitivität (Vetexpert Rapid Test CPV Ag®) 50 % der PCR-positiven Kotproben korrekt identifizieren, wohingegen der Test mit der geringsten Sensitivität (FASTest® Parvo Card) PCR-positive Kotproben erst ab einer Viruslast von 1,9 x 10^{13} Kopien/g Kot in 50 % der Fälle erkennen konnte. Dies erklärt auch ähnliche Ergebnisse dreier vorheriger Studien. In der Studie von Proksch et al. waren 51,3 % der IDEXX SNAP® Parvo Testergebnisse im Vergleich zur real-time PCR falsch-negativ, wobei falsch-negativen Proben eine signifikant niedrigere Viruslast aufwiesen im Vergleich zu den korrekt als positiv identifizierten Proben (PROKSCH et al., 2015). Gemäß den Studien von Decaro et al. konnten Kotproben ab einer Viruslast von 10^9 Kopien/g Kot mittels WITNESS® Parvo detektiert werden; ab einer Viruslast von 10^{12} Kopien/g Kot wurden alle Proben korrekt positiv identifiziert (DECARO et al., 2013). Der IDEXX SNAP® Parvo war in der Lage, CPV ab einer Viruslast von 10^8 Kopien/g Kot in über 75 % der Fälle zu detektieren; falsch-negative Testergebnisse traten ab einer Viruslast von 10^{12} Kopien/g Kot nur noch in 3 Fällen auf (DECARO et al., 2010). Die Sensitivität des IDEXX Snap® Parvo lag in einer Studie von Decaro et al. bei 80,4 % für den Nachweis von CPV-2a, 78,0 % für CPV-2b und 77,0 % für CPV-2c (DECARO et al., 2010) und somit deutlich über der der vorliegenden Studie. In dieser Studie wurden aber nur vorselektierte Proben mit einer Viruslast von über 10^8 Kopien/g Kot eingeschlossen (DECARO et al., 2010). Folglich lässt sich diese Studie hinsichtlich der Sensitivität nicht mit der vorliegenden vergleichen.

Die wahrscheinlichste Ursache für die insgesamt nur sehr geringe Sensitivität aller 8 evaluierten POC-Tests in der vorliegenden Studie sind die falsch-negativen POC-Testergebnisse in den Gruppen H (gesunde Hunde) und S (Hunde mit erhöhtem Infektionsrisiko). Kein einziger PCR-positiver Hund aus diesen beiden Gruppen konnte mittels POC-Tests identifiziert werden. Somit lag die Sensitivität aller POC-Tests in Gruppe H und S bei 0,0 %. Dies deckt sich mit den Ergebnissen einer vorherigen Studie, die Hunde mit chronischem Durchfall sowie gesunde Hunde berücksichtigte (SCHMITZ et al., 2009). Die Sensitivität der evaluierten POC-Tests von Schmitz et al. lag im Bereich derer der vorliegenden Studie (Schmitz et al.: IDEXX SNAP® Parvo 18,4 %, FASTest® Parvo 15,8 %, WITNESS® Parvo 26,3%). In der Studie von Schmitz et al. wurde auch kein einziger gesunder PCR-positiver Hund und kein PCR-positiver Hund mit chronischem Durchfall durch die POC-Tests erkannt. Die wahrscheinlichste Ursache für die falsch-negativen POC-Testergebnisse in den Gruppen H und S ist wiederum die niedrige Viruslast der subklinisch infizierten Tiere (FREISL et al., 2017). Dies verdeutlicht, dass sich POC-Tests nicht als Screening-Tests zur Identifikation klinisch gesunder Ausscheider, wie z. B. in Tierheimen oder Hundezuchten, eignen.

Der Routineeinsatz der POC-Tests in der Praxis konzentriert sich jedoch auf den Nachweis einer Parvovirose nicht bei gesunden Hunden, sondern bei Tieren mit klinischen Symptomen, wie Durchfall, Erbrechen, Fieber, Anorexie und Apathie. Da diese Symptome sehr unspezifisch sind und auch bei anderen Erkrankungen auftreten können, sollte ein klinischer Verdacht schnellstmöglich mittels Erregernachweis bestätigt werden (GREENE und DECARO, 2012). Die Gruppe der Parvovirose-verdächtigen Hunde (Gruppe P) ist daher für die Evaluation des alltäglichen Einsatzbereichs der POC-Tests am aussagekräftigsten. Die Sensitivität der 8 evaluierten POC-Tests war in dieser Gruppe zwar höher als in den beiden anderen Gruppen, mit 32,7 % (FASTest® Parvo Card) bis 49,0 % (Vetexpert Rapid Test CPV AG®) jedoch immer noch zu gering, um eine zuverlässige Diagnose zu gewährleisten. Obwohl die Viruslast mit durchschnittlich 5,3 x 10^{13} Kopien/g Kot deutlich höher war als in den beiden anderen Gruppen, gab es immer noch zahlreiche falsch-negative POC-Testergebnisse.

Eine mögliche Ursache für falsch-negative Testergebnisse trotz einer hohen Viruslast sind interferierende Antikörper gegen CPV im Kot, die von infizierten Tieren im Verlauf einer Infektion gebildet werden. Da bei einer klinischen

Parvovirose die Darmbarriere gestört ist, können Albumin und Serumantikörper aus dem Blut in den Darm übertreten und dort an CPV binden (MACARTNEY et al., 1984a; KEMPF et al., 2010). Dieses CPV liegt dann nicht mehr in freier Form, sondern gebunden vor (DESARIO et al., 2005). In den POC-Tests reagiert CPV aus der Kotprobe mit den im POC-Test gebundenen Antikörpern und erzeugt entweder durch Gold- oder Latex-markierte Peptide oder durch eine enzymatische Reaktion einen Farbumschlag und somit eine Testlinie. In gebundener Form kann CPV-Antigen jedoch nicht mehr von den POC-Tests detektiert werden. Proksch et al. nahmen an, dass die Menge an Antikörpern im Blut mit der im Kot korreliert. Hunde mit korrekt-positivem POC-Testergebnis besaßen in der Studie signifikant niedrigere Antikörpertiter im Blut als Hunde mit falsch-negativem POC-Testergebnis (PROKSCH et al., 2015).

Eine weitere mögliche Ursache für falsch-negative POC-Testergebnisse stellt möglicherweise die Konsistenz des Kots dar. So können starke Blut- oder Schleimhautbeimengungen zu einer geringeren Aufnahme von Probenmaterial mittels Wattestäbchen oder Plastikstäbchen führen. Auch kann es zu einem schlechteren Fluss entlang der Testmembran und infolgedessen zu einer schlechteren Detektierbarkeit kommen.

Des Weiteren wird das Auftreten falsch-negativer POC-Testergebnisse vom Zeitpunkt der Durchführung der POC-Tests beeinflusst. Die Ausscheidung von CPV beginnt 3-4 Tage nach einer Infektion, wobei die Viruslast im Kot nach 4-7 Tagen am höchsten ist (MACARTNEY et al., 1984b; MEUNIER et al., 1985; GODDARD und LEISEWITZ, 2010). Klinische Symptome treten bereits 3-7 Tage nach Infektion auf (POTGIETER et al., 1981; MACARTNEY et al., 1984a; DECARO und BUONAVOGLIA, 2012). Somit kann es besonders in sehr frühen Stadien einer Infektion aufgrund (noch) geringer Viruslasten zu negativen POC-Testergebnissen kommen. Wird ein Tier z. B. sofort beim Auftreten erster Symptome dem Tierarzt vorgestellt und das POC-Testergebnis ist zu diesem Zeitpunkt noch negativ, ist es sinnvoll, eine PCR aufgrund der höheren Sensitivität sofort einzuleiten und den POC-Test zu einem späteren Zeitpunkt, während auf das PCR-Ergebnis gewartet wird, erneut durchzuführen. Es ist davon auszugehen, dass dasselbe Problem auch in späten Krankheitsstadien vorliegen kann, da die PCR aufgrund ihrer Fähigkeit bereits geringste DNA-Mengen zu detektieren, CPV im Kot bis zu 54 Tage lang nachweisen kann (DECARO et al., 2005b).

Eine weitere denkbare Ursache für falsch-negative POC-Testergebnisse, nämlich

dass bestimmte Virusvarianten durch die POC-Tests nicht erkannt werden, konnte bereits in vorherigen Studien widerlegt werden. Der ursprüngliche Virusstamm CPV-2, der in den 1970er Jahren entdeckt wurde, wurde schnell durch die antigenetisch sehr ähnlichen Varianten CPV-2a und -2b ersetzt (PARRISH et al., 1988; PARRISH et al., 1991). Im Jahr 2000 wurde in Italien eine neue Virusvariation, CPV-2c, entdeckt, die sich in den folgenden Jahren weltweit verbreitet hat (BUONAVOGLIA et al., 2001; NAKAMURA et al., 2004; DECARO et al., 2007b; HONG et al., 2007). Zuerst wurde befürchtet, dass diese neue Variante sich nicht durch die POC-Tests detektieren lässt. So konnte jedoch z. B. für den IDEXX SNAP® Parvo nachgewiesen werden, dass auch Infektionen mit CPV-2c mit einer ähnlichen Sensitivität wie für CPV-2a und -2b detektiert werden können (DECARO et al., 2010; PROKSCH et al., 2015).

In der vorliegenden Studie wurde bei allen PCR-positiven Kotproben eine Viruskultur durchgeführt. Während bei den Hunden in den Gruppen H (gesunde Hunde) und S (Hunde mit erhöhtem Infektionsrisiko) kein vermehrungsfähiges Virus nachgewiesen werden konnte, waren in Gruppe P (Parvovirose-verdächtige Hunde) 36,7 % der PCR-positiven Kotproben auch positiv in der Viruskultur. Die Sensitivität der 8 POC-Tests war bei diesen Viruskultur-positiven Kotproben mit 83,3 bis 94,4 % sehr hoch. Im Gegensatz dazu lag sie bei den Viruskultur-negativen Kotproben nur zwischen 1,9 und 9,5 %. Die Ursache, dass die Sensitivität der POC-Tests bei den Viruskultur-positiven Kotproben so hoch und bei den Viruskultur-negativen Kotproben so niedrig war, beruht darauf, dass Viruskultur und POC-Tests sehr ähnliche Schwächen aufweisen. So liegt die Sensitivität der Viruskultur, verglichen mit einer real-time PCR, nur bei 74 % (DESARIO et al., 2005). Als eine Ursache für die niedrige Sensitivität der Viruskultur wird das Vorhandensein von Antikörpern gegen CPV im Kot diskutiert, was ebenfalls für die Detektion durch POC-Tests problematisch sein könnte (DESARIO et al., 2005). Auch konnte gezeigt werden, dass CPV mittels Viruskultur sowohl nach natürlichen als auch nach experimentellen Infektionen nur wenige Tage im Kot nachgewiesen werden konnte, auch wenn für eine längere Zeit große Mengen an Virus-DNA ausgeschieden wurden (DECARO et al., 2005a; DECARO et al., 2005b). Dasselbe Problem besteht vermutlich auch bei den POC-Tests. Außerdem lag in der vorliegenden Studie die Viruslast bei den Viruskultur-positiven Kotproben mit durchschnittlich 10^{13} Kopien/g Kot signifikant höher als bei den Viruskultur-

negativen Kotproben mit durchschnittlich 10^7 Kopien/g Kot. Da in der vorliegenden Studie gezeigt werden konnte, dass die Erkennungswahrscheinlichkeit der POC-Tests von der Viruslast abhängt, ist die hohe Viruslast in der Gruppe der Viruskultur-positiven Kotproben eine weitere Erklärung für das gute Abschneiden der POC-Tests bei diesen Kotproben.

Erfreulicherweise traten bei allen 8 POC-Tests dieser Studie keine falsch-positiven Testergebnisse auf. Folglich besaßen alle POC-Tests eine Spezifität und einen positiven prädiktiven Wert (PPW) von 100 %. Diese Ergebnisse decken sich sehr gut mit denen aus vorangegangenen Studien. So wurden in der Vergangenheit für den IDEXX SNAP® Parvo und den WITNESS® Parvo eine Spezifität von über 95 % ermittelt (SCHMITZ et al., 2009; DECARO et al., 2013). Allerdings muss bedacht werden, dass in der vorliegenden Studie in der Gruppe der gesunden Hunde (Gruppe H) und der Gruppe der Hunde mit erhöhtem Infektionsrisiko (Gruppe S) nur Hunde eingeschlossen wurden, die in den letzten 4 Wochen nicht gegen CPV geimpft werden durften, um eine mögliche Interferenz mit den POC-Tests zu vermeiden. Auch in der Gruppe der 50 Parvovirose-verdächtigen Hunde (Gruppe P) waren nur 3 Hunde in den letzten 4 Wochen gegen CPV geimpft worden, bei 22 war der Impfstatus unbekannt. Es ist bekannt, dass es nach einer Impfung gegen CPV mit modifizierten Lebendvakzinen (MLV) zur Ausscheidung von Impfvirus mit dem Kot kommt, welches mittels PCR nachgewiesen werden kann (DECARO et al., 2014; FREISL et al., 2017). Weil die POC-Tests nicht zwischen Feld- und Impfvirus unterscheiden können, weisen die Hersteller der POC-Tests in den Beipackzetteln immer auf mögliche „falsch“-positive Testergebnisse nach einer Impfung gegen CPV hin. Da sich vor allem junge Welpen mit CPV infizieren, die gerade in diesem Alter geimpft werden, liegt hier möglicherweise ein diagnostisches Problem vor.

Jedoch konnte das Auftreten positiver POC-Testergebnisse infolge einer Impfung bisher nicht belegt werden. Im Gegenteil zeigte eine vorherige Studie, dass zwar der Impfstamm CPV-2 mittels minor groove binder-PCR (MGB-PCR) nachgewiesen werden konnte, im Kot von 10 Hunden, die maximal 10 Tage vor Probenentnahme mit MLV gegen CPV geimpft wurden, jedoch bei keinem einzigen Hund ein positives POC-Ergebnis auftrat (DECARO et al., 2013). Die durchschnittliche Viruslast in den CPV-2-positiven (also Impfstamm-positiven) Proben war mit $2{,}51 \times 10^3$ Kopien/g Kot nur sehr gering und daher vermutlich zu

gering, um mittels POC-Test erfasst werden zu können. Eine weitere Studie untersuchte ebenfalls die Ausscheidung von Impfvirus nach einer Impfung mit den Impfstämmen CPV-2 und CPV-2b und kam zu sehr ähnlichen Ergebnissen (DECARO et al., 2014): Eine Ausscheidung von CPV-2 wurde durchschnittlich 19 Tage, die von CPV-2b durchschnittlich 12 Tage nach Impfung mittels MGB-PCR nachgewiesen. Die höchsten Viruslasten waren mit 3,80 x 10^5 DNA-Kopien für CPV-2 und 1,12 x 10^6 für CPV-2b ebenfalls recht gering. Auch hier wurde keine einzige Kotprobe mittels POC-Test positiv getestet. In einer dritten Studie konnte bei 23 % der Hunde, die mit MLV gegen CPV geimpft wurden, zwischen Tag 3 und Tag 28 nach der Impfung auch CPV-DNA mittels PCR detektiert werden, jedoch ebenfalls nur in sehr geringen Mengen (maximal 3,57 x 10^6 Kopien/g Kot) (FREISL et al., 2017). In 2 Proben konnte durch Gensequenzierung Impfvirus identifiziert werden, welches sich durch Virusisolierung in der Zellkultur auch tatsächlich als vermehrungsfähiges Virus erwies (FREISL et al., 2017). Folglich ist davon auszugehen, dass POC-Tests zum Nachweis von CPV-Antigen im Kot von Hunden zwar theoretisch auch Impfvirus nachweisen können, es jedoch aufgrund der geringen Viruslast, die nach einer Impfung gegen CPV ausgeschieden wird, zu keinen positiven POC-Testergebnissen infolge einer Impfung kommt. Eine definitive Differenzierung zwischen Feld- und Impfvirus ist allerdings nur mittels Gensequenzierung möglich. In der vorliegenden Studie lag die geringste Viruslast, die noch zu einem positiven POC-Testergebnis führte, mit 1,49 x 10^9 Kopien/g Kot, um ein Vielfaches über denjenigen, die in den vorherigen Studien nach Impfung detektiert werden konnten. In der vorliegenden Studie wurde keine Gensequenzierung zur Unterscheidung zwischen Feld- und Impfvirus durchgeführt. Dennoch ist bei den 3 Hunden in Gruppe P, die in den letzten 4 Wochen gegen CPV geimpft wurden und klinische Symptome einer Parvovirose sowie teilweise positive POC-Testergebnisse aufwiesen, von einer Infektion mit dem Feldvirus auszugehen. Hinweise geben die hohen Viruslasten bei diesen 3 Tieren (1,90 x 10^{11} Kopien/g Kot; 5,43 x 10^{13} Kopien/g Kot; 9,88 x 10^{14} Kopien/g Kot), denn hohe Viruslasten deuten eher auf eine Infektion mit dem Feldvirus hin, wohingegen niedrige Viruslasten eher auf die Ausscheidung von Impfvirus hinweisen (VEIR et al., 2009). Die Möglichkeit, dass die klinischen Symptome der 3 kürzlich geimpften Hunde als eine Komplikation der Impfung auftraten (Reversion der Virulenz des Impfstammes), ist sehr unwahrscheinlich. Bereits in einer vorherigen Studie wurde festgestellt, dass gastrointestinale Symptome bei Welpen nach einer Impfung gegen

CPV in der Regel mit einer Infektion mit dem Feldvirus oder anderen Erregern einhergehen und nicht auf einen Impfdurchbruch zurückzuführen sind (DECARO et al., 2007a).

Die Durchführung der 8 verschiedenen POC-Tests war leicht und nahm nur wenige Minuten in Anspruch. Die Tests unterschieden sich bezüglich der Handhabung nur sehr wenig. Während beim FASTest® Parvo Card und beim Primagnost® Parvo H + K Plastikstäbchen zur Aufnahme der Kotprobe dienten, die mehrmals in den Kot eingetaucht werden mussten, wurden bei den anderen POC-Tests Wattestäbchen verwendet, die nur einmalig mit Kot benetzt werden mussten. Da der FASTest® Parvo Card mit 22,9 % und der Primagnost® Parvo H + K mit 24,3 % die geringsten Sensitivitäten aller 8 POC-Tests aufwiesen, ist es denkbar, dass mit den Plastikstäbchen zu wenig Kot aufgenommen werden konnte und es als Folge zu einer größeren Anzahl falsch-negativer Testergebnisse kam. Diese beiden POC-Tests unterschieden sich hinsichtlich der Sensitivität auch signifikant von den beiden POC-Tests mit den höchsten Sensitivitäten, dem Vetexpert Rapid Test CPV AG® und dem Anigen Rapid CPV Ag Test Kit®. Test- und Kontrollergebnis wurden beim IDEXX SNAP® Parvo als farbige Punkte, bei den übrigen 7 POC-Tests als farbige Linien dargestellt. In Bezug auf schwer interpretierbare Testergebnisse wiesen die 8 POC-Tests nur sehr geringe Unterschiede auf. Beim IDEXX SNAP® Parvo traten uneindeutige Ergebnisse aufgrund sehr heller Testpunkte in 2 von 150 Kotproben auf, bei den übrigen POC-Tests, bei denen das Ergebnis als Testlinie angezeigt wird, in 0-5 Fällen von 150 Kotproben. Somit gibt es hier keine Unterschiede zwischen Punkten und Linien als Darstellung. Eine denkbare Ursache für diese sehr hellen Testpunkte oder Testlinien wäre, dass in der jeweilen Probe nur eine sehr geringe Menge an Antigen vorhanden war. Somit konnte nur wenig Antigen mit den markierten Antikörpern im Testsystem reagieren und dadurch nur eine helle Färbung verursachen.

Die vorliegende Studie besitzt Limitationen. Für die Untersuchungen wurden die POC-Tests nur einmalig durchgeführt. Es ist denkbar, dass potentielle Anwendungsfehler bei der Durchführung somit unentdeckt blieben. Außerdem wurden sie nur von einer einzelnen Person durchgeführt und ausgewertet. Da die Interpretation der Testlinien oder -punkte immer ein gewisses Maß an Subjektivität beinhaltet, hätte ein zweiter Untersucher, gerade bei den schwer interpretierbaren Testergebnissen, zu einer objektiveren Auswertung beigetragen. Ziel dieser Studie

war jedoch, die POC-Tests unter realen Bedingungen in der Tierarztpraxis, in der ein Test ebenfalls nur einmalig von einer Person durchgeführt wird, zu evaluieren.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die POC-Tests zum Nachweis von caninem Parvovirus-Antigen im Kot von Hunden ein wichtiges Mittel zur Diagnosestellung der caninen Parvovirose darstellen. Im Gegensatz zur PCR liefern sie innerhalb weniger Minuten direkt ein Testergebnis. Aufgrund ihrer exzellenten Spezifität bestätigt ein positives POC-Testergebnis eine Infektion mit CPV. Da die Sensitivität jedoch nur sehr gering ist, können die POC-Tests die PCR nicht ersetzen. Bei Hunden mit klinischen Symptomen einer Parvovirose und einem negativen POC-Testergebnis sollten umgehend eine PCR eingeleitet werden und die Tiere erneut nach ein paar Tagen mittels POC-Test getestet werden. Bis zum Erhalt des PCR-Ergebnisses sollten verdächtige Hunde bereits isoliert und intensiv therapiert werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Bei vielen Infektionskrankheiten von Hunden ist eine zeitnahe Diagnose von Bedeutung. Somit stellen sogenannte POC-Tests, die direkt in der Tierarztpraxis binnen weniger Minuten ein Testergebnis liefern, eine sinnvolle Alternative zu anderen, nur in kommerziellen Laboratorien durchführbaren Testverfahren dar. Mittlerweile ist eine Vielzahl dieser POC-Tests, die basierend auf einem ELISA- oder anderen immunchromatischen-Verfahren Erreger-Antigen oder Antikörper gegen Erreger nachweisen, kommerziell erhältlich.

Ziel der ersten Publikation war es, eine Übersicht über POC-Tests zum Nachweis von Infektionskrankheiten beim Hund zu liefern und ihre Einsatzgebiete und Limitationen aufzuzeigen. POC-Tests zum Nachweis von *D. immitis*-Antigen, Antikörpern gegen *E. canis, L. infantum* und *Leptospira* spp. besitzen eine hohe Sensitivität und Spezifität. Bei Leptospirose-Tests kann es allerdings infolge der Impfung gegen Leptospirose zu falsch-positiven Testergebnissen kommen. POC-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* bestätigen nur den Erregerkontakt, nicht aber die selten auftretende klinisch manifeste Borreliose. Dasselbe gilt für POC-Tests zum Nachweis von Antikörpern gegen *Anaplasma* spp. Hier kommt noch hinzu, dass in den seltenen Fällen einer klinisch manifesten Anaplasmose Symptome in der Regel vor der Bildung von Antikörpern auftreten.

Das Ziel der zweiten Publikation war es, 8 POC-Tests (SNAP® Parvo, Fassisi® Parvo, Primagnost® Parvo H + K, FASTest® PARVO Card, Vetexpert Rapid Test CPV Ag®, Anigen Rapid CPV Ag Test Kit®, ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit, WITNESS® Parvo) zum Nachweis von caninem Parvovirus-Antigen im Kot von Hunden im Vergleich zu der als Referenzstandard durchgeführten real-time PCR zu untersuchen. Hierfür wurde Kot von 150 Hunden untersucht, darunter 50 Proben von gesunden Hunden (keine Auffälligkeiten in der klinischen Untersuchung sowie keine Impfung gegen CPV mit MLV in den letzten 4 Wochen), 50 Proben von Hunden mit einem erhöhten Parvovirus-Infektionsrisiko (Tierheimhunde ohne Auffälligkeiten in der klinischen Untersuchung sowie keine Impfung gegen CPV mit MLV in den letzten 4 Wochen) und 50 Proben von Parvovirose-verdächtigen Hunden. Um als Parvovirose-verdächtig in die Studie aufgenommen zu werden, mussten die Hunde mindestens 3 der folgenden

Symptome und Laborveränderungen aufweisen: Durchfall, Erbrechen, gestörtes Allgemeinbefinden, Fieber, Neutropenie oder einen inkorrekten Impfstatus gemäß der WSAVA-Impfrichtlinien. Mit allen Kotproben wurden die 8 POC-Tests sowie die real-time PCR durchgeführt. Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer prädiktiver Wert und Gesamtgenauigkeit wurden berechnet. Zur Ermittlung signifikanter Unterschiede hinsichtlich Sensitivität und Spezifität zwischen den einzelnen POC-Tests wurde ein McNemar-Test und zur Ermittlung der Übereinstimmung der einzelnen POC-Tests Cohens Kappa verwendet. Außerdem wurde eine logistische Regression zur Untersuchung der Abhängigkeit der Sensitivität der POC-Tests von der Viruslast der jeweiligen Kotprobe durchgeführt. Alle Schnelltests zeigten eine Spezifität von 100,0 % und folglich auch einen PPW von 100,0 %. Somit kann ein positives POC-Testergebnis als Beweis für eine Infektion mit caninem Parvovirus angesehen werden. Da an Parvovirose erkrankte Tiere möglichst zeitnah isoliert und intensiv therapiert werden müssen, ist bei dieser Erkrankung die Sensitivität jedoch der entscheidende Parameter. Diese lag insgesamt nur zwischen 22,9 (FASTest® PARVO Card) und 34,3 % (Vetexpert Rapid Test CPV Ag®), sowie zwischen 32,7 (FASTest® PARVO Card) und 49,0 % (Vetexpert Rapid Test CPV Ag®) in der Gruppe der Parvovirose-verdächtigen Tiere. Der Vetexpert Rapid Test CPV Ag® unterschied sich hinsichtlich der Sensitivität signifikant von den 3 Tests mit den niedrigsten Sensitivitäten, dem Fassisi® Parvo, dem Primagnost® Parvo H + K und dem FASTest® Parvo Card. Alle 8 POC-Tests zeigten eine mindestens starke Übereinstimmung ($\kappa \geq 0{,}80$). Aufgrund der zahlreichen falsch-negativen Testergebnisse war die Sensitivität aller 8 evaluierten POC-Tests sehr niedrig und eine Vielzahl infizierter oder an Parvovirose erkrankter Tiere wurde nicht identifiziert. Hauptursache hierfür ist eine zu geringe Viruslast in der jeweiligen Kotprobe, da die Erkennungswahrscheinlichkeit der POC-Tests von der Viruslast im Kot abhängt. Somit kann trotz eines negativen POC-Ergebnisses eine Infektion mit Parvoviren nicht ausgeschlossen werden und verdächtige Tiere müssen erneut mittels POC-Test oder PCR getestet werden. Aufgrund der geringen Viruslast im Kot von gesunden Hunden eignen sich die POC-Tests nicht als Screeningtests bei diesen Tieren.

VI. SUMMARY

Fast diagnosis is very important for some infectious diseases, and thus, POC tests that provide a test result within a few minutes directly in the veterinary practice, are an important alternative to other diagnostic methods that can only be performed in commercial laboratories. A large number of these POC tests, which detect antigen or antibodies against pathogens based on ELISA or other immunomigration technologies are commercially available. The aim of the first study was to give an overview of these POC tests and show their applications and limitations.

POC tests for detection of *D. immitis* antigen, antibodies against *E. canis*, *L. infantum*, and *Leptospira* spp. have a high sensitivity and specificity. However, test results of *Leptospira* spp. POC tests can also be positive after a vaccination against *Leptospira* spp. POC tests for detection of antibodies against *B. burgdorferi* only confirm contact with *Borrelia* spp. and not clinical Lyme disease, which is very rare in dogs. The same applies for POC tests that detect antibodies against *Anaplasma* spp. In addition, in those rare cases of clinical anaplasmosis, clinical signs usually occur before developing antibodies.

The aim of the second study was to evaluate 8 POC tests (SNAP® Parvo, Fassisi® Parvo, Primagnost® Parvo H + K, FASTest® PARVO Card, Vetexpert Rapid Test CPV Ag®, Anigen Rapid CPV Ag Test Kit®, ImmunoRun® Parvovirus Antigen Detection Kit, WITNESS® Parvo) for detection of canine parvovirus antigen in faeces of dogs by comparing them to the gold standard, real-time PCR.

Faeces from 150 dogs of 3 groups were collected; 50 faecal samples of healthy dogs (no abnormalities in physical examination and history, no vaccination against CPV within the last 4 weeks), 50 faecal samples of shelter dogs (no abnormalities in physical examination and history, no vaccination against CPV within the last 4 weeks), and 50 faecal samples of dogs with suspicion of CPV infection. To be included in this group, the dogs had to meet at least 3 of the following criteria: diarrhea, vomiting, reduced general condition, fever, neutropenia, and/or an incomplete vaccination status according to the WSAVA guidelines. All faecal samples were tested with the 8 POC tests and real-time PCR. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, and overall accuracy were calculated. To determine significant differences in sensitivity and specificity among

the POC tests, McNemar's test was performed. Cohen's Kappa statistic was used to asses agreement among the POC tests. In addition, a logistic regression was performed to investigate the dependence of the sensitivity of the POC tests on the virus load of each faecal sample.

All POC tests showed a specificity of 100.0% and consequently also a positive predictive value of 100.0%. Thus, a positive POC test result confirms an infection with CPV. However, sensitivity is the most important parameter for test performance, as dogs infected with CPV have to be isolated in order to prevent infections of other animals and need intensive therapy. In this study, sensitivity of all POC tests was low with values between 22.9 (FASTest® PARVO Card) and 34.3% (Vetexpert Rapid Test CPV Ag®) overall, and between 32.7 (FASTest® PARVO Card) and 49.0% (Vetexpert Rapid Test CPV Ag®) in the group of dogs suspected to have CPV infection. The Vetexpert Rapid Test CPV Ag® differed significantly in sensitivity from the 3 tests with the lowest sensitivities, the Fassisi® Parvo, the Primagnost® Parvo H + K, and the FASTest® Parvo Card. All 8 POC tests showed at least substantial agreement ($\kappa \geq 0.80$). Due to the numerous false-negative test results, the sensitivity of all 8 evaluated POC tests was very low and a large number of CPV-infected animals were not identified. The main reason is a low virus load in the faecal samples, as the probability of detection of the POC tests depends on the virus load in faeces. Thus, a negative POC test result cannot rule out an infection with CPV and suspicious animals must be tested again using POC tests or PCR. Due to the low virus load in the faeces of healthy dogs, POC tests are not suitable as screening tests for these animals.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

Abdoel TH, Houwers DJ, van Dongen AM, Adesiyun AA, Jiménez-Coelloe M, Cardoso L, Suepaul SM, Ortega-Pacheco A, Smits HL. Rapid test for the serodiagnosis of acute canine leptospirosis. Vet Microbiol 2011; 150: 211-3.

Atkins CE. Comparison of results of three commercial heartworm antigen test kits in dogs with low heartworm burdens. J Am Vet Med Assoc 2003; 222: 1221-3.

Bélanger M, Sorenson HL, France MK, Bowie MV, Barbet AF, Breitschwerdt EB, Alleman AR. Comparison of serological detection methods for diagnosis of *Ehrlichia canis* infections in dogs. J Clin Microbiol 2002; 40: 3506-8.

Bergmann M, Schwertler S, Speck S, Truyen U, Reese S, Hartmann K. Faecal shedding of parvovirus deoxyribonucleic acid following modified live feline panleucopenia virus vaccination in healthy cats. Vet Rec 2019; 185: 83.

Buonavoglia C, Martella V, Pratelli A, Tempesta M, Cavalli A, Buonavoglia D, Bozzo G, Elia G, Decaro N, Carmichael L. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. J Gen Virol 2001; 82: 3021-5.

Carr-Smith S, Macintire D, Swango L. Canine parvovirus: part 1. Pathogenesis and vaccination. Comp Continuing Educ Pract Vet 1997; 19: 125-33.

Carrade D, Foley J, Borjesson D, Sykes J. Canine granulocytic anaplasmosis: a review. J Vet Intern Med 2009; 23: 1129-41.

Chandrashekar R, Mainville CA, Beall MJ, O'Connor T, Eberts MD, Alleman AR, Gaunt SD, Breitschwerdt EB. Performance of a commercially available in-clinic ELISA for the detection of antibodies against *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* and *Dirofilaria immitis* antigen in dogs. Am J Vet Res 2010; 71: 1443-50.

Decaro N, Campolo M, Desario C, Elia G, Martella V, Lorusso E, Buonavoglia C.

Maternally-derived antibodies in pups and protection from canine parvovirus infection. Biologicals 2005a; 33: 261-7.

Decaro N, Desario C, Campolo M, Elia G, Martella V, Ricci D, Lorusso E, Buonavoglia C. Clinical and virological findings in pups naturally infected by canine parvovirus type 2 Glu-426 mutant. J Vet Diagn Invest 2005b; 17: 133-8.

Decaro N, Elia G, Martella V, Desario C, Campolo M, Di Trani L, Tarsitano E, Tempesta M, Buonavoglia C. A real-time PCR assay for rapid detection and quantitation of canine parvovirus type 2 in the feces of dogs. Vet Microbiol 2005c; 105: 19-28.

Decaro N, Desario C, Elia G, Campolo M, Lorusso A, Mari V, Martella V, Buonavoglia C. Occurrence of severe gastroenteritis in pups after canine parvovirus vaccine administration: a clinical and laboratory diagnostic dilemma. Vaccine 2007a; 25: 1161-6.

Decaro N, Desario C, Addie DD, Martella V, Vieira MJ, Elia G, Zicola A, Davis C, Thompson G, Thiry E. Molecular epidemiology of canine parvovirus, Europe. Emerg Infect Dis 2007b; 13: 1222.

Decaro N, Desario C, Beall MJ, Cavalli A, Campolo M, DiMarco AA, Amorisco F, Colaianni ML, Buonavoglia C. Detection of canine parvovirus type 2c by a commercially available in-house rapid test. Vet J 2010; 184: 373-5.

Decaro N, Buonavoglia C. Canine parvovirus — a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. Vet Microbiol 2012; 155: 1-12.

Decaro N, Desario C, Billi M, Lorusso E, Colaianni M, Colao V, Elia G, Ventrella G, Kusi I, Bo S. Evaluation of an in-clinic assay for the diagnosis of canine parvovirus. Vet J 2013; 198: 504-7.

Decaro N, Crescenzo G, Desario C, Cavalli A, Losurdo M, Colaianni ML, Ventrella

G, Rizzi S, Aulicino S, Lucente MS. Long-term viremia and fecal shedding in pups after modified-live canine parvovirus vaccination. Vaccine 2014; 32: 3850-3.

Desario C, Decaro N, Campolo M, Cavalli A, Cirone F, Elia G, Martella V, Lorusso E, Camero M, Buonavoglia C. Canine parvovirus infection: which diagnostic test for virus? J Virol Methods 2005; 126: 179-85.

Dey S, Madhan Mohan C, Ramadass P, Nachimuthu K. Recombinant antigen-based dipstick elisa for the diagnosis of leptospirosis in dogs. Vet Rec 2007; 160: 186-8.

Duscher G, Edelhofer R, Leschnik M, Joachim A. Reisekrankheiten bei Hund und Katze. Kleintierprax 2010; 55: 204-22.

Freisl M, Speck S, Truyen U, Reese S, Proksch A-L, Hartmann K. Faecal shedding of canine parvovirus after modified-live vaccination in healthy adult dogs. Vet J 2017; 219: 15-21.

Glaser B, Gothe R. Importierte arthropodenübertragene Parasiten und parasitische Arthropoden beim Hund. [Imported arthropod-borne parasites and parasitic arthropods in dogs. Species spectrum and epidemiologic analysis of the cases diagnosed in 1995/96]. Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere 1998; 26: 40-6.

Glickman LT, Domanski LM, Patronek GJ, Visintainer F. Breed-related risk factors for canine parvovirus enteritis. J Am Vet Med Assoc 1985; 187: 589-94.

Gloor CI, Schweighauser A, Francey T, Rodriguez-Campos S, Vidondo B, Bigler B, Schuller S. Diagnostic Value of two commercial chromatographic “patient-side” tests in the diagnosis of acute canine leptospirosis. J Small Anim Pract 2017; 58: 154-61.

Goddard A, Leisewitz AL. Canine parvovirus. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2010; 40: 1041-53.

Greene CE, Decaro N. Canine viral enteritis. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat, 4th revised edn. Greene C, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders 2012: 67-75.

Hamel D, Röhrig E, Pfister K. Canine vector-borne disease in travelled dogs in Germany — a retrospective evaluation of laboratory data from the years 2004–2008. Vet Parasitol 2011; 181: 31-6.

Harrus S, Alleman AR, Bark H, Mahan SM, Waner T. Comparison of three enzyme-linked immunosorbant assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with *Ehrlichia canis*. Vet Microbiol 2002; 86: 361-8.

Hong C, Decaro N, Desario C, Tanner P, Pardo MC, Sanchez S, Buonavoglia C, Saliki JT. Occurrence of canine parvovirus type 2c in the United States. J Vet Diagn Invest 2007; 19: 535-9.

Hoskins JD. Update on canine parvoviral enteritis. Vet Med 1997; 92: 694-709.

Kalli I, Leontides LS, Mylonakis ME, Adamama-Moraitou K, Rallis T, Koutinas AF. Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. Res Vet Sci 2010; 89: 174-8.

Kempf C, Schulz B, Strauch C, Sauter-Louis C, Truyen U, Hartmann K. Virus detection, clinical signs, and laboratory findings in dogs with acute hemorrhagic diarrhea. Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere 2010; 38: 79-86.

Kodjo A, Calleja C, Loenser M, Lin D, Lizer J. A rapid in-clinic test detects acute leptospirosis in dogs with high sensitivity and specificity. Biomed research international 2016; 2016: 3760191.

Levy S, Magnarelli L. Relationship between development of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs and the subsequent development of limb/joint borreliosis. J Am

Vet Med Assoc 1992; 200: 344-7.

Littman MP, Goldstein RE, Labato MA, Lappin MR, Moore GE. ACVIM small animal consensus statement on Lyme disease in dogs: diagnosis, treatment, and prevention. J Vet Intern Med 2006; 20: 422-34.

Liu J, Drexel J, Andrews B, Eberts M, Breitschwerdt E, Chandrashekar R. Comparative evaluation of 2 in-clinic assays for vector-borne disease testing in dogs. Top Companion Anim Med 2018; 33: 114-8.

Lizer J, Grahlmann M, Hapke H, Velineni S, Lin D, Kohn B. Evaluation of a rapid IgM detection test for diagnosis of acute leptospirosis in dogs. Vet Rec 2017; 180: 517-.

Macartney L, McCandlish I, Thompson H, Cornwell H. Canine parvovirus enteritis 1: clinical, haematological and pathological features of experimental infection. Vet Rec 1984a; 115: 201-10.

Macartney L, McCandlish I, Thompson H, Cornwell H. Canine parvovirus enteritis 2: pathogenesis. Vet Rec 1984b; 115: 453-60.

Macintire DK, Smith-Carr S. Canine parvovirus. II. Clinical signs, diagnosis, and treatment. Comp Continuing Educ Pract Vet 1997; 19: 219-302.

Menn B, Lorentz S, Naucke TJ. Imported and travelling dogs as carriers of canine vector-borne pathogens in Germany. Parasit Vectors 2010; 3: 1-7.

Mettler M, Grimm F, Naucke TJ, Maasjost C, Deplazes P. Canine leishmaniosis in Central Europe: retrospective survey and serological study of imported and travelling dogs. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 2005; 118: 37-44.

Meunier P, Cooper B, Appel M, Slauson D. Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: the importance of viremia. Vet Pathol 1985; 22: 60-71.

Nakamura M, Tohya Y, Miyazawa T, Mochizuki M, Phung H, Nguyen N, Huynh L, Nguyen L, Nguyen P, Nguyen P. A novel antigenic variant of canine parvovirus from a Vietnamese dog. Arch Virol 2004; 149: 2261-9.

Naucke T. Vektor-übertragene Erkrankungen - Borreliose, Babesiose & Co - Relevanz für die deutsche Kleintierpraxis. kleintier konkret 2007; 10: 4-8.

Naucke T, Lorentz S, Menn B, Mencke N. Prävalenz von durch Ektoparasiten übertragenen Infektionskrankheiten (CVBDs) bei Import-und Reise-begleitenden Hunden in Deutschland und Prävention von CVBDs. Tierarztl Umsch 2011; 66: 311-7.

Otto CM, Drobatz KJ, Soter C. Endotoxemia and tumor necrosis factor activity in dogs with naturally occurring parvoviral enteritis. J Vet Intern Med 1997; 11: 65-70.

Otto CM, Jackson CB, Rogell EJ, Prior RB, Ammons WS. Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21) for treatment of parvovirus enteritis: A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. J Vet Intern Med 2001; 15: 355-60.

Parrish CR, Have P, Foreyt WJ, Evermann JF, Senda M, Carmichael LE. The global spread and replacement of canine parvovirus strains. J Gen Virol 1988; 69: 1111-6.

Parrish CR, Aquadro CF, Strassheim M, Evermann J, Sgro J, Mohammed H. Rapid antigenic-type replacement and DNA sequence evolution of canine parvovirus. J Virol 1991; 65: 6544-52.

Potgieter L, Jones J, Patton C, Webb-Martin T. Experimental parvovirus infection in dogs. Can J Comp Med 1981; 45: 212.

Prittie J. Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and

prevention. J Vet Emerg Crit Care 2004; 14: 167-76.

Proksch A, Hartmann K. Diagnose der kaninen Parvovirus-Infektion. Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere 2015; 43: 351-7.

Proksch A, Unterer S, Speck S, Truyen U, Hartmann K. Influence of clinical and laboratory variables on faecal antigen ELISA results in dogs with canine parvovirus infection. Vet J 2015; 204: 304-8.

Schmitz S, Coenen C, Matthias K, Heinz-Jürgen T, Neiger R. Comparison of three rapid commercial canine parvovirus antigen detection tests with electron microscopy and polymerase chain reaction. J Vet Diagn Invest 2009; 21: 344-5.

Schwarz A, Maier WA, Kistemann T, Kampen H. Analysis of the distribution of the tick *Ixodes ricinus L*. (*Acar*i: *Ixodidae*) in a nature reserve of Western Germany using Geographic Information Systems. Int J Hyg Environ Health 2009; 212: 87-96.

Starkey LA, Bowles JV, Payton ME, Blagburn BL. Comparative evaluation of commercially available point-of-care heartworm antigen tests using well-characterized canine plasma samples. Parasit Vectors 2017; 10: 145-9.

Stillman BA, Monn M, Liu J, Thatcher B, Foster P, Andrews B, Little S, Eberts M, Breitschwerdt EB, Beall MJ. Performance of a commercially available in-clinic ELISA for detection of antibodies against *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Ehrlichia ewingii* and *Dirofilaria immitis* antigen in dogs. J Am Vet Med Assoc 2014; 245: 80-6.

Sykes J, Hartmann K, Lunn K, Moore G, Stoddard R, Goldstein R. 2010 ACVIM small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention. J Vet Intern Med 2011; 25: 1-13.

Sykes JE. Canine parvovirus infections and other viral enteritides. In: Canine and

Feline Infectious Diseases, 1st edn. Sykes JE, ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders 2014: 141-51.

Troìa R, Balboni A, Zamagni S, Frigo S, Magna L, Perissinotto L, Battilani M, Dondi F. Prospective evaluation of rapid point-of-care tests for the diagnosis of acute leptospirosis in dogs. Vet J 2018; 237: 37-42.

Veir J, Duffy A, Dow S, Lappin M. Comparison of quantitative PCR and conventional endpoint PCR for amplification of parvovirus DNA in blood from naturally infected and recently vaccinated dogs. J Vet Intern Med 2009; 23: 769.

Villanueva-Saz S, Basurco A, Martín V, Fernández A, Loste A, Verde MT. Comparison of a qualitative immunochromatographic test with two quantitative serological assays for the detection of antibodies to *Leishmania infantum* in dogs. Acta Vet Scand 2019; 61: 1-6.

Villanueva-Saz S, Martínez M, Ramirez JD, Herrera G, Marteles D, Servián M, Verde M, Giner J, Lacasta D, Ruíz H. Evaluation of five different rapid immunochromatographic tests for canine leishmaniosis in Spain. Acta Trop 2022; 229: 106371.

Vlkova M, Rohousova I, Drahota J, Stanneck D, Kruedewagen EM, Mencke N, Otranto D, Volf P. Canine antibody response to *Phlebotomus perniciosus* bites negatively correlates with the risk of *Leishmania infantum* transmission. PLoS Negl Trop Dis 2011; 5: e1344.

Woldehiwet Z. The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. Vet Parasitol 2010; 167: 108-22.

VIII. DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich noch einigen Menschen danken, ohne die die Umsetzung dieser Dissertation nicht möglich gewesen wäre.

Zuallererst möchte ich mich ganz herzlich bei meiner Doktormutter, Frau Professor Katrin Hartmann, für die Bereitstellung des Themas und die gute Betreuung während der gesamten Zeit bedanken. Vielen Dank für die konstruktiven Ratschläge und die vielen, hilfreichen Korrekturen. Ein ganz großes Dankeschön an PD Dr. Michèle Bergmann, die mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand und sämtliche Skripte wieder und wieder korrigiert hat. Danke auch, dass du für sämtliche Fragen immer ein offenes Ohr hattest.

Ich möchte mich auch bei Herrn Prof. Truyen und Frau Dr. Speck mit ihrem Team vom Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen der Universität Leipzig bedanken, für die Bearbeitung meiner Proben und die Beantwortung meiner ganzen Fragen. Herzliche Dank auch an Cosmin Muresan für das Sammeln der Proben in Rumänien.

Tausend Dank an das gesamte Team der MTK. Ihr wart die besten Kollegen, die man sich wünschen kann und habt maßgeblich dazu beigetragen, dass ich so gerne in dieser Klinik gearbeitet habe! Vielen Dank an jeden von euch, der mir beim Sammeln der Kotproben geholfen hat und dafür gesorgt hat, dass auch in meiner Abwesenheit kein Kot entsorgt wurde. Danke an „meinen“ Oberarzt Dr. René Dörfelt für alles, was ich von dir lernen durfte und auch für die Antworten auf sämtliche Fragen diese Doktorarbeit betreffend. Vielen Dank auch PD Dr. Karin Weber für die Einführung in die Laborarbeit.

Der allergrößte Dank jedoch gebührt meiner Familie: meinen Eltern und meinem Mann, sowie unserem kleinen Zoo an Vierbeinern. Danke Mama, danke Papa, dass ihr mich sowohl während des Studiums als auch während der Dissertation immer unterstützt habt und stets nachgefragt habt, wann „diese Doktorarbeit“ denn endlich fertig ist. Danke Flo, fürs Mut machen und Rücken freihalten und das Aufmuntern, wenn die Dinge mal nicht so liefen, wie sie sollten. Ohne euch wäre diese Dissertation niemals möglich gewesen.