

# Parasitologische und immunologische Verlaufskontrollen während und nach Chemotherapie der Leishmaniose des Hundes

Autor(en): **Deplazes, P. / Arnold, P. / Skaggs, J.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **134 (1992)**

Heft 2

PDF erstellt am: **26.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-589379>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# PARASITOLOGISCHE UND IMMUNOLOGISCHE VERLAUFSKONTROLLEN WÄHREND UND NACH CHEMOTHERAPIE DER LEISHMANIOSE DES HUNDES

P. DEPLAZES<sup>1</sup>, P. ARNOLD<sup>2</sup>, J. SKAGGS<sup>1</sup>, M. GESSLER<sup>3</sup>

## ZUSAMMENFASSUNG

Promastigote Stadien von Leishmanien liessen sich nach der ersten Punktatentnahme an den Popliteallymphknoten *in vitro* bei 32 von 36 Hunden nach Rückkehr aus Endemiegebieten züchten. Eine Artidentifikation mittels Isoenzymanalysen (Glucosephosphat-Isomerase (GPI), Phosphogluco-Mutase (PGM) und Glutamat-oxaloacetat-Transaminase (GOT)) wurde bei den Isolaten aus 18 Hunden vorgenommen; alle Isolate hatten die Merkmale von *Leishmania infantum* (neuerdings auch als *Leishmania (L.) infantum* bezeichnet). Nach Chemotherapie mit Glucantime<sup>®</sup> waren, unabhängig vom Zeitpunkt der Probeentnahme oder vom klinischen Verlauf der Leishmaniose, in 79% der 28 Punktate von 15 Hunden Erreger *in vitro* nachweisbar. Hunde, die schlecht auf die Chemotherapie reagierten, zeigten im ELISA keine oder nur eine geringe monatliche Reduktion (zwischen 0 und 4,8%) der relativen Antikörperkonzentration. Bei Patienten, die gut und ohne Rezidive innerhalb der Beobachtungszeit von 10-37 Monaten auf die Chemotherapie ansprachen, fielen die Antikörperkonzentrationen innerhalb der ersten 5-8 Monate monatlich um 6,7-16,2%, danach persistierten die Antikörperspiegel oder fielen nur mehr leicht ab.

**SCHLÜSSELWÖRTER:** Diagnose - *Leishmania infantum* - *in vitro*-Kultur - Isoenzymanalyse - ELISA - Glucantime<sup>®</sup>

## PARASITOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL FOLLOW-UP EXAMINATIONS DURING AND AFTER CHEMOTHERAPY OF LEISHMANIOSIS IN DOGS

Promastigote *Leishmania*-organisms were diagnostically cultivated *in vitro* from popliteal lymph node aspirates obtained from 32 of in total 36 dogs returning from endemic areas. Isoenzymeanalysis (glucosephosphate-isomerase (GPI), phospho-glucomutase (PGM) and glutamate-oxaloacetate-transaminase (GOT)) resulted in the identification of *Leishmania infantum* (syn. *Leishmania (L.) infantum*) for all 18 isolates investigated. Parasites were still able to be cultivated *in vitro* in 79% of 28 biopsies (from 15 dogs) even following chemotherapy by Glucantime<sup>®</sup>, independent of the time of sampling and the course of disease after treatment. Dogs with a progressive form of disease (despite chemotherapy) showed only a minor or no reduction (between 0 and 4.8%) of the relative antibody concentration (determined by ELISA), whereas regressive forms of disease (without recurrences observed in the period of 10 to 37 months after therapy) demonstrated a marked reduction of the relative antibody concentration (between 6.7 and 16.2%) within the first 5 to 8 months; thereafter the decrease diminished and changed to a persistent low relative antibody concentration.

**KEY WORDS:** diagnosis - *Leishmania infantum* - *in vitro* culture - isoenzyme analysis - ELISA - Glucantime<sup>®</sup>

## EINLEITUNG

Die Leishmaniose des Hundes wird hauptsächlich durch *Leishmania infantum* verursacht. Das europäische Endemiegebiet erstreckt sich von der Iberischen Halbinsel bis zur Türkei und reicht mit einigen Ausnahmen nicht über den 45.

nördlichen Breitengrad hinaus. Seltener sind beim Hund auch *L. tropica* und einige, zurzeit noch nicht genau identifizierte *Leishmania*-Stämme nachgewiesen worden (Lit. bei Eckert, 1988). In den letzten Jahren diagnostizierten wir vermehrt Fälle von Leishmaniose bei Hunden, die aus dem Mittelmeerraum oder aus Portugal in die Schweiz eingereist waren. Der

zunehmende Tourismus sowie auch die stärkere tierärztliche Beachtung dieser Erkrankung dürften Hauptgründe dafür sein. Die Verdachtsdiagnose der Leishmaniose beim Hund wird meistens an den typischen Hautveränderungen, an der Lymphadenopathie, Spleno- und Hepatomegalie sowie aufgrund hämatologischer und blutchemischer Befunde gestellt (Schawwalder, 1977; Kammermann-Lüscher, 1980; Slappendel, 1989). Mit Hilfe immundiagnostischer Methoden (IFAT, ELISA) können *Leishmania*-Infektionen beim Hund mit grosser Zuverlässigkeit bereits vor Auftreten klinischer Symptome diagnostiziert werden (Lit. bei Gottstein und Deplazes, 1989). In den letzten 5 Jahren wurde am Institut für Parasitologie der Universität Zürich mit einem früher beschriebenen ELISA (Gottstein et al., 1988) in der Routineserologie bei 71 Hunden Leishmaniose diagnostiziert. Unter 36 parasitologisch bewiesenen Fällen war nur ein frisch aus Spanien importierter junger Hund mit generalisierter Lymphadenopathie, bei dem keine spezifischen Antikörper im ELISA nachweisbar waren. Die diagnostische Sensitivität des ELISA (berechnet aus dieser Gruppe) betrug somit 97%. Der direkte Nachweis amastigoter *Leishmania*-Stadien in Ausstrichen von Lymphknoten- oder Knochenmarkspunktaten sowie in Schnitten von Biopsiematerial gelingt bei Hunden mit bewiesener Leishmaniose nicht immer (Pospischil et al., 1987; Slappendel, 1989). Nach experimenteller Infektion von Hunden (*L. donovani*, Stamm Kalkutta) erwiesen sich der kulturelle Erregernachweis dem Tierversuch (Hamsterinokulationstest) und dieser dem Giemsa-gefärbten Tupfpräparat als eindeutig überlegen (Reiter et al., 1985). Eine Verbesserung des Nachweises amastigoter Stadien im Gewebe ergibt die immunhistologische Markierung (Peroxidase-anti-Peroxidase) der Leishmanien in formalinfixiertem und Paraffin eingebettetem Gewebe (Wunderlin, 1990). Dedet und Belazzoug (1985) gelang der kulturelle Nachweis von Leishmanien in 92% der Lymphknotenpunktate von Hunden mit Leishmaniose.

Für die Therapie der Leishmaniose des Hundes werden fünfwertige Antimonpräparate, wie N-Methylglucamin-antimonat (Glucantime®) (Lit. bei Kammermann-Lüscher, 1980 und Slappendel, 1989) oder Stibogluconat-Na (Pentostam®) (Lit. bei Reusch und Reiter, 1987), eingesetzt. Verschiedene Autoren berichteten über hohe Rezidivraten nach Chemotherapie von Leishmaniose-Hunden mit beiden genannten Medikamenten. Reusch und Reiter (1987) erkannten Rezidive vor allem am Auftreten von Hautveränderungen oder gestörtem Allgemeinbefinden 2 bis 32 Monate nach Therapie mit Pentostam®. Slappendel (1989) behandelte die Hunde jeweils nach Rückfällen mit Glucantime® (20 Injektionen pro Be-

handlungszyklus). Die meisten Hunde wurden 3- bis 5mal während des Krankheitsverlaufes behandelt; einige Hunde jedoch bedurften in den folgenden 3 bis 7 Jahren keiner weiteren Therapie. Nach Lanotte et al. (1979) betrug die mittlere Überlebenszeit von 20 Hunden nach Therapie mit Glucantime® 22 Monate. Trotz hoher Rezidivraten gelang der Parasitennachweis in Punktatausstrichen oder in histologischen Schnitten von Biopsiematerial bei behandelten Hunden nur selten (Slappendel, 1989; Pospischil et al., 1987). Bei Hunden mit klinisch abgeheilte Leishmaniose sind prognostische Aussagen über den weiteren Verlauf der Infektion äusserst schwierig.

In diesem Beitrag werden beschrieben: a) die diagnostische *in vitro*-Kultivierung und die Isoenzymmuster von *Leishmania*-Isolaten aus Hunden und b) der Aussagewert von Kontrolluntersuchungen (Nachweis der Erreger *in vitro* und von spezifischem IgG im ELISA) nach Therapie mit Glucantime® in Langzeituntersuchungen.

Detaillierte Angaben über die Symptomatik der Leishmaniose vor und nach Therapie bei einer grösseren Anzahl der Hunde sollen in einer späteren Arbeit publiziert werden.

## **TIERE, MATERIAL UND METHODEN**

### **Kultureller Erregernachweis**

Zum Nachweis von Leishmanien wurden bei Hunden mit klinisch diagnostizierter Leishmaniose oder bei seropositiven Tieren im ELISA (Gottstein et al., 1988) die Popliteal-lymphknoten punktiert. Die Lymphknotenpunktion erfolgte vor sowie bei Kontrolluntersuchungen nach Glucantime®-Therapie (Tabelle 1). Nach Ausscheren und Desinfektion der Entnahmestelle wurden aus einem Poplitealymphknoten mit Nadel (0.9 x 40 mm) und 20 ml Spritze 1–2 Tropfen Punktat aspiriert, darauf mit derselben Nadel 1 ml Kulturmedium (siehe unten) in die Spritze aufgesogen und die Zellsuspension in ein Kulturgefäss überführt. Die Kultivierung erfolgte bei +28 °C. Am 3. und 7. Tag der Untersuchung wurden 5 ml Kulturmediumüberstand mit der gleichen Menge von frischem Kulturmedium ersetzt. Zwischen dem 2. und 10. Tag wurden die Kulturen unter einem Umkehrmikroskop (Labovert FS, Leitz) auf promastigote Stadien von Leishmanien untersucht.

Zur Untersuchung von Punktaten aus der Praxis wurden Kunststoff-Kulturröhrchen (10 ml mit planer Fläche, Nunc-Nr. 156758, DK-Roskilde) mit 10 ml Kulturmedium nach Berens et al. (1976) gefüllt und den Tierärztinnen und Tierärzten auf Verlangen zugesandt. Das Kulturmedium konnte

## VERLAUFSKONTROLLEN BEI CHEMOTHERAPIE DER LEISHMANIOSE DES HUNDES

bis zu 2 Wochen im Kühlschrank bei +4° aufbewahrt werden. Nach Probezugabe erhielten wir die Kulturen per Post zurück. Von 19 Tierärztinnen oder Tierärzten aus der Praxis und von 5 aus der medizinischen Kleintierklinik des Tierspitals Zürich wurden 64 Punktate bei 38 Hunden mit Leishmaniose vor und/oder zum Teil nach Therapie entnommen (Tabelle 1).

### Isoenzymmuster

Von *Leishmania*-Isolaten aus 18 Hunden (13 aus Spanien, je 1 aus Portugal, Frankreich, Italien und Liberia sowie 1 aus dem Ausland ohne nähere Angaben) wurden Isoenzymanalysen mittels der Isoelektrischen Fokussierung durchgeführt (leicht modifiziert nach *Betschart et al.*, 1983; *Gessler*, 1989). Dabei wurde nach *Maazoun et al.* (1981) in der Modifikation nach *Gessler* (1989) folgende drei Enzyme für die Charakterisierung untersucht: Glucosephosphat-Isomerase (GPI) (E.C.5.3.1.9), Phosphogluco-Mutase (PGM) (E.C.2.7.5.1) und Glutamat-oxaloacetat-Transaminase (GOT) (E.C.2.6.1.1).

### Therapie der Leishmaniose und Kontrolluntersuchungen

Vor Beginn der Therapie fand eine klinische Allgemeinuntersuchung statt. Diese wurde durch Blutstatus, Chemogramm und Urinstatus ergänzt. Ausserdem wurden die Hunde serologisch auf Antikörper gegen Antigene von *L. infantum* (ELISA) und *Ehrlichia canis* (IFAT) (*Winkler et al.*, 1988) untersucht. Dehydrierte Hunde oder Patienten mit erhöhten Harnstoff- und Kreatininwerten erhielten vor Therapiebeginn den doppelten Erhaltungsbedarf (etwa 100 ml/kg Körpergewicht/

24 Stunden) Ringerlaktat i.v. Bei den übrigen Tieren wurde dem Futter während der ganzen Therapie Kochsalz zugegeben, um die aufgenommene Trinkwassermenge und somit die Diurese zu erhöhen. Zur Überwachung der Patienten während der Therapie wurden mehrmals Harnstoff- und Kreatininwerte bestimmt.

Die Therapie der Leishmaniose wurde nach folgendem Schema durchgeführt: Die Patienten erhielten s.c. oder langsam i.v. 10 Tage lang 200–300 mg/kg Glucantime® (Rhône-Mérieux). Begonnen wurde mit 100 mg/kg, am 3. Tag erfolgte eine Erhöhung dieser Dosierung auf 200–300 mg/kg. Nach einem therapiefreien Intervall von 10 Tagen wurden erneut 10 Injektionen Glucantime® gegeben. Bei einem Teil der Patienten wurde dieselbe Dosis Glucantime® 20mal im Abstand von 2 Tagen s.c. verabreicht.

Für eine Langzeitstudie war ursprünglich geplant, den Antikörperverlauf im ELISA nach *Gottstein et al.* (1988) in Zeitabständen zwischen 2–4 Monaten zu messen. Wie jedoch aus den Abbildungen 3 und 4 ersichtlich ist, schwankten die Zeitabstände bei den ausgewählten 8 Beispielen zwischen 1 und 9 Monaten.

## RESULTATE

### Kultureller Erregernachweis

In den Punktat-Kulturen konnten die beweglichen promastigoten Leishmanien direkt unter dem Umkehrmikroskop 2–3 Tage (selten bis zu 10 Tage) nach Probeentnahme identifiziert werden. In Tabelle 1 wird die Sensitivität der diagnostischen

Tab. 1: Diagnose der Leishmaniose beim Hund durch in vitro-Kultivierung der Erreger

Zeitpunkt der Punktatentnahme	Anzahl Punktate <sup>1</sup>	Nachweis promastigoter <i>Leishmania</i> -Stadien in den Kulturen		
		Anzahl Punktate		
	Anzahl Hunde	positiv	negativ	nicht beurteilbar <sup>2</sup>
vor Chemotherapie mit Glucantime®	36/36	32 (89%)	2 (5,5%)	2 (5,5%)
bis zu 6 Monaten nach dem letzten Chemotherapiezyklus	18/11	13 (72%)	4 (22%)	1 (6%)
6 bis 18 Monate nach dem letzten Chemotherapiezyklus	10/ 6	9 (90%)	1 (10%)	0
Total: nach Chemotherapie	28/15	22 (79%)	5 (18%)	1 (3%)

<sup>1</sup> Zum gleichen Zeitpunkt wurde jeweils nur ein Punktat von Popliteallymphknoten entnommen;

<sup>2</sup> wegen sekundärer bakterieller Kontamination verworfen

*in vitro*-Kultivierung von promastigoten Leishmanien zusammengefasst. Aus 36 Punktaten, entnommen vor der Therapie, liessen sich promastigote Stadien in 32 Fällen (89%) anzüchten, in 2 Fällen waren keine Leishmanien nachweisbar, und 2 Punktate waren bakteriell kontaminiert und daher nicht mehr beurteilbar. In den 4 letztgenannten Fällen wurde durch weitere Probeentnahmen und den dazugehörigen Erregernachweis bewiesen, dass die Tiere Leishmaniose hatten. Wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, konnten Leishmanien sowohl in den ersten 6 Monaten wie auch zwischen dem 6. und dem 18. Monat nach Therapie in 72% bzw. 90% der entnommenen Punktate angezüchtet werden. Unabhängig vom Zeitpunkt der Probeentnahme oder vom klinischen Verlauf der Leishmaniose konnten bei allen Hunden nach Therapie Erreger in den Kulturen gefunden werden (Abb. 3 und 4); auch waren alle 7 unmittelbar nach Therapieende entnommenen Punktate bei Hunden, die später klinisch gut auf die Therapie ansprachen, positiv.

#### Isoenzymmuster der Isolate

Die Untersuchung der drei Isoenzyme Glucosephosphat-Isomerase (GPI), Phosphogluco-Mutase (PGM) und Glutamat-oxaloacetat-Transaminase (GOT) mittels der Isoelektrischen Fokussierung reicht nach Angaben von Gessler® (1989) aus, um die im Mittelmeerraum vorkommenden *Leishmania*-Arten zu charakterisieren. Allein die GPI bietet eine optimale Möglichkeit, die meisten Arten zu unterscheiden (Abb. 1). Die

Abb. 1: Schematische Darstellung des Isoenzymmusters der Glucosephosphat-Isomerase (GPI) bei verschiedenen *Leishmania*-Arten: *L. aethiopica* (L 100), *L. braziliensis* (LEM 781), *L. major* (LEM 769), *L. infantum* (LEM 75), *L. donovani* (DD 8), *L. tropica* (K 27)

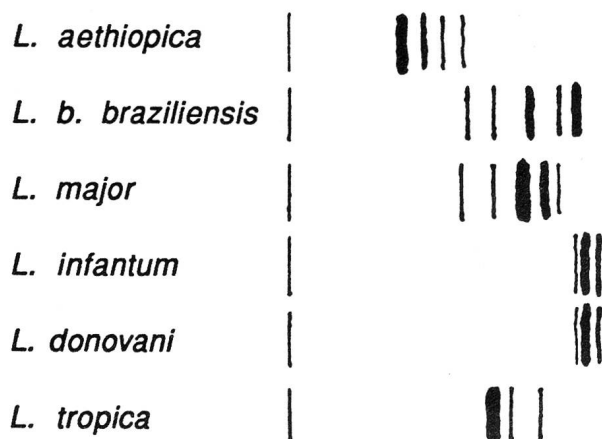
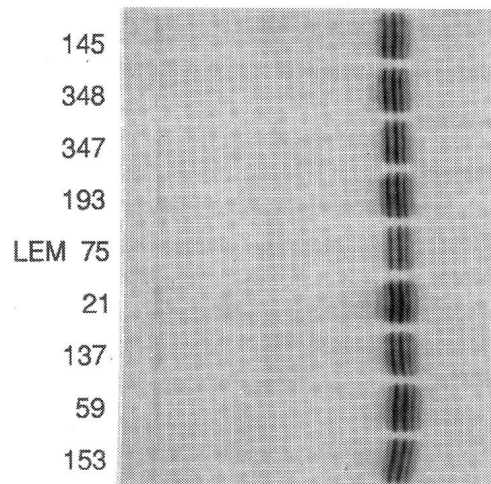


Abb. 2: Isoenzymmuster der Glucosephosphat-Isomerase (GPI) bei 8 der 18 *Leishmania*-Isolaten aus Hunden im Vergleich zu einem *L. infantum*-Referenzstamm LEM 75



18 untersuchten Isolate erwiesen sich alle eindeutig als identisch mit *L. infantum*. In den drei untersuchten Isoenzymen waren sie identisch mit dem *L. infantum*-Referenzstamm LEM 75 (Zymodem MON 1), der auf dem Gel mitaufgetragen wurde. Als Beispiel sind 8 der 18 Isolate in der Untersuchung mit Glucosephosphat-Isomerase (GPI) in Abb. 2 dargestellt.

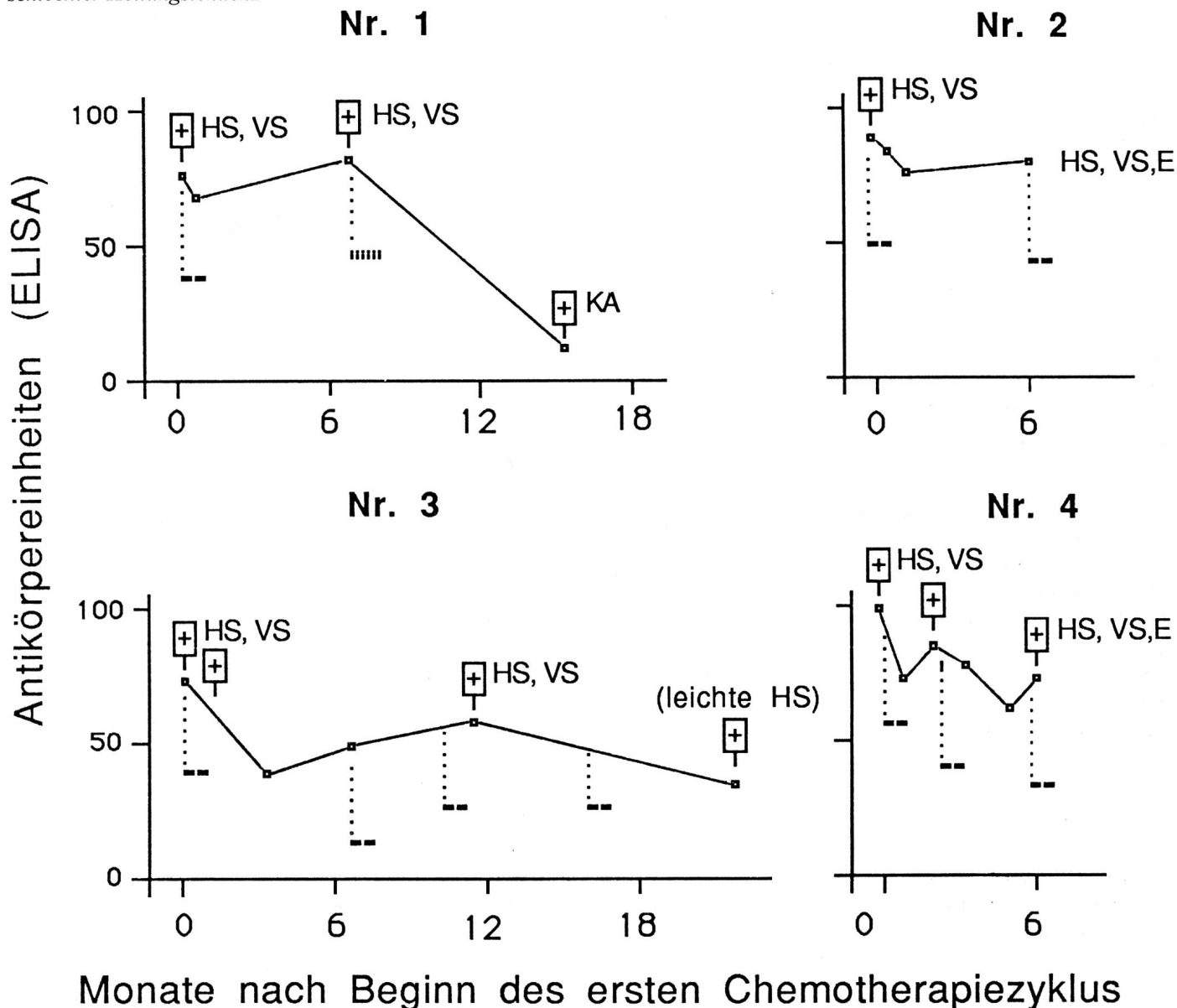
#### Therapie und Antikörperverlauf nach Therapie

Von den 36 Hunden mit Leishmaniose (Tab. 1), die alle therapiert wurden, sind die Ergebnisse der serologischen und parasitologischen Kontrolluntersuchungen von 8 Tieren (Nr. 1–8) in den Abb. 3 und 4 dargestellt.

Die Hunde Nr. 2 und 4 (Abb. 3) sprachen schlecht auf die Therapie an. Nach kurzfristiger Besserung des Allgemeinzustandes trat nach einigen Wochen eine Verschlechterung ein. Beide Tiere zeigten eine chronische Niereninsuffizienz, die Hautveränderungen blieben während der ganzen Beobachtungszeit bestehen. Hund Nr. 4 litt zusätzlich an einer fortgeschrittenen Iridozyklitis und zeigte starke Unverträglichkeitsreaktionen nach subkutaner Applikation von Glucantime® und Pentostam®. Beide Hunde mussten nach 6monatiger Beobachtungszeit euthanasiert werden. Bei den Hunden Nr. 1 und 3 verbesserte sich das Allgemeinbefinden nach Therapie, die Hautveränderungen blieben aber über 6–12 Monaten bestehen; erst nach wiederholten Glucantime®-Injektionen heilte die Leishmaniose klinisch weitgehend ab. Bei den Hunden Nr. 5, 6, 7 und 8 (Abb. 4) trat innerhalb von Wochen eine Besserung des Allgemeinbefindens ein, die Hautsymptome

## VERLAUFKONTROLLEN BEI CHEMOTHERAPIE DER LEISHMANIOSE DES HUNDES

Abb. 3: Antikörperverlauf (ELISA) bei Hunden mit Leishmaniose nach Therapie mit Glucantime®: 4 Patienten mit klinisch schlechter Heilungstendenz

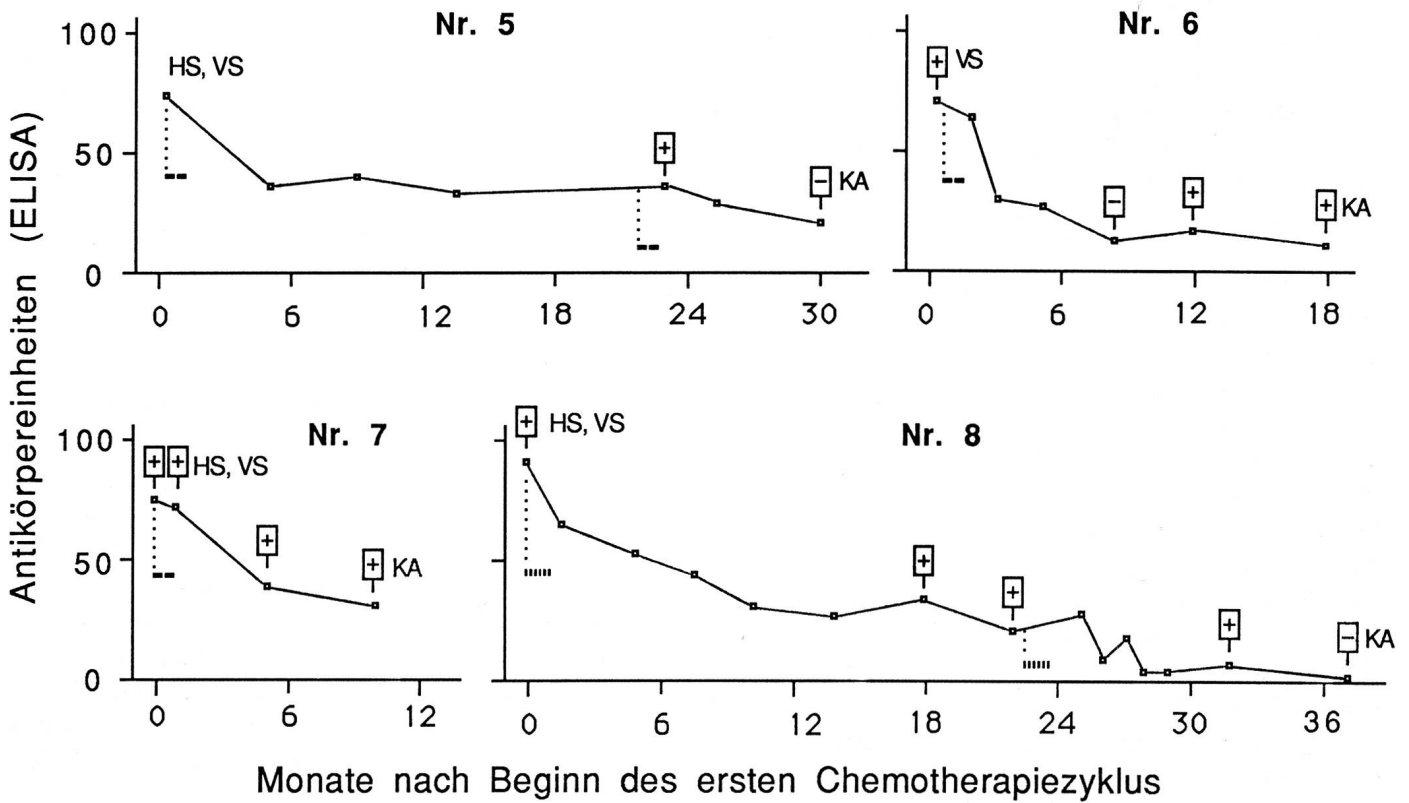


Lymphknotenpunktion  $\boxplus$  mit (+) oder ohne (-) Nachweis von Leishmanien in Kultur. Therapie: -- 2 x 10 Tage mit 10 Tagen Intervall, s. c. oder i. v. 200–300 mg/kg KG oder  $\equiv$  gleiche Dosierung 20 x jeden 2. Tag s. c. Klinik: (HS) Hautsymptome, (VS) viszerale Symptome, (KA) klinisch abgeheilte Leishmaniose am Ende der Beobachtungszeit, (E) Euthanasie

verschwanden nach 13 Monaten. Diese 4 Patienten litten bis zu 37 Monate nach Therapiebeginn an leicht- bis mittelgradiger chronischer Keratokonjunktivitis und/oder Uveitis, die mit kortisonhaltigen Augentropfen behandelt wurden; die ophthalmologischen Komplikationen waren auch der Grund, warum bei den Hunden Nr. 5 und 8 nach 23 Monaten eine erneute Glucantime®-Kur durchgeführt wurde.

Der Verlauf der spezifischen relativen Antikörperkonzentration wurde während der ersten 5–8 Monate nach Therapie bei 8 Hunden im ELISA bestimmt. Wir berechneten die monatliche durchschnittliche Reduktion bzw. Zunahme der Antikörperkonzentrationen (Antikörpereinheiten) ausgehend vom Wert vor der Therapie. Bei allen 4 Hunden, die schlecht auf die Therapie ansprachen und die innerhalb der Beobachtungs-

Abb. 4: Antikörperverlauf im ELISA bei Hunden mit Leishmaniose nach Therapie mit Glucantime®: 4 Patienten, die klinisch gut auf die Therapie angesprochen haben. Zeichenerklärung siehe Abb. 3



zeit Rezidive zeigten (Abb. 3), war nur eine geringe monatliche Reduktion der Antikörperkonzentrationen von 4,7%, 3,1% und 4,8% bei 3 Tieren nachzuweisen; Hund Nr. 1 zeigte vorübergehend sogar eine Zunahme der Antikörperkonzentration. Bei dieser Gruppe fielen die Antikörperkonzentrationen (mit einer Ausnahme) innerhalb der ersten Beobachtungszeit von 6 Monaten nicht unter 50 Antikörpereinheiten. Bei den 4 Patienten, die gut und ohne Rezidive innerhalb der Beobachtungszeit auf die Therapie ansprachen (Abb. 4), fielen die Antikörperkonzentrationen um 6,7%, 10,2%, 16,2% und 8,8% monatlich in den ersten 5–8 Monaten, danach waren persistierende oder nur leicht abfallende, tiefe relative Antikörperkonzentrationen (unter 48 Antikörpereinheiten) zu messen. Nur in einem Fall (Nr. 8) fiel die Antikörperkonzentration nach 37 Monaten Beobachtungszeit unter die Nachweisgrenze ab.

#### DISKUSSION

Die Therapie der Leishmaniose ist mit den heute zur Verfügung stehenden Medikamenten aufwendig und unbefriedi-

gend. Wohl tritt bei den meisten Hunden eine klinische Besserung ein, die Leishmanien können aber offenbar nur sehr selten eliminiert werden. Komplikationen bei der Behandlung der Leishmaniose sind einerseits auf Nebenwirkungen der Medikamente sowie auf die durch die Leishmaniose hervorgerufenen Organschädigungen zurückzuführen.

Die einfachere subkutane Applikation von Glucantime® wird von den meisten Hunden gut vertragen. Bei 2 Tieren beobachteten wir jedoch bei dieser Applikationsart lokale Unverträglichkeitsreaktionen. Diesen Patienten wurde Glucantime® langsam i.v. infundiert.

Rezidive werden von den Besitzern meistens relativ spät an den typischen Hautveränderungen, wie Alopezie und Schuppung, erkannt. Bourdeau (1983), Reusch und Reiter (1987), Kammermann-Lüscher (1980), Mancianti et al. (1988) beobachteten im IFAT einen Titerabfall nach klinisch erfolgreicher Therapie, hingegen persistierende oder ansteigende Titer bei Hunden mit Rezidiven. Bei schlechter Heilungstendenz (Abb. 3) beobachteten wir nach Therapie im ELISA nur einen geringen oder keinen Abfall der Antikörperkonzentration.

## VERLAUFSKONTROLLEN BEI CHEMOTHERAPIE DER LEISHMANIOSE DES HUNDES

Die Hunde, die klinisch gut auf die Therapie ansprachen, zeigten dagegen während der ersten 5–7 Monate nach Therapie eine starke Abnahme der Antikörpertiter, danach waren bei diesen Hunden (Abb. 4) gleichbleibende oder leicht abfallende Werte zu beobachten. Hunde, die 6 Monate nach Therapie keinen wesentlichen Abfall der Antikörperkonzentration zeigen (d.h. Titer höher als 50 Antikörpereinheiten im ELISA), sollten erneut behandelt werden. Dies gilt auch für Tiere mit steigender Antikörperkonzentration, auch wenn die Hunde zu diesem Zeitpunkt noch keine klinischen Anzeichen eines Rezidives aufweisen. Wie auch andere Autoren (*Reusch und Reiter*, 1987) empfehlen wir eine klinische und serologische Überwachung der Leishmaniose-Patienten in Abständen von 6 Monaten.

Für die parasitologische Diagnose der Leishmaniose beim Hund hat sich die *in vitro*-Kultivierung von promastigoten Stadien aus Punktaten von Popliteallymphknoten auch unter Praxisbedingungen bewährt. In der Regel waren die beweglichen promastigoten Stadien 2–3 Tage nach Punktation in der Kultur nachweisbar. Fehler bei der Probeentnahme können hauptsächlich bei Hunden ohne Lymphadenopathie oder nach Chemotherapie entstehen, da bei diesen Hunden die Popliteallymphknoten oft schwierig zu palpieren sind. Der kulturelle Nachweis von Leishmanien hat in den letzten Jahren auch in der humanmedizinischen Diagnostik an Bedeutung gewonnen, da bei immundefizienten Patienten serologische Methoden oft versagen (Lit. bei *Moradpour et al.*, 1990).

Aus unseren Daten wird ersichtlich, dass der kulturelle Nachweis von Leishmanien nach Chemotherapie mit Glucantime® keinen prognostischen Aussagewert über den klinischen Erfolg der Therapie zu geben vermag, da die Leishmanien bei keinem unserer Patienten eliminiert werden konnten. Diese Methode könnte aber künftig für die Erprobung neuer Medikamente, neuer Medikamentkombinationen oder neuer Formulierungen bereits bekannter Stoffe auf die vollständige Eliminierung des Parasiten im Hundemodell eingesetzt werden. Angezüchtete Isolate können weiter enzymologisch und molekularbiologisch charakterisiert sowie *in vitro* auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Chemotherapeutika geprüft werden (*Maazoun et al.*, 1981; *Kennedy*, 1984; *Jackson et al.*, 1989; *Gambarelli et al.*, 1987). Inwieweit wiederholte Glucantime®-Behandlungen bei Hunden eine Selektion von Isolaten mit erniedrigter Empfindlichkeit gegenüber fünfwertigen Antimonverbindungen begünstigen, ist unseres Wissens nicht bekannt.

Die in der Schweiz bei Hunden mit importierter Leishmaniose erstmalig durchgeführte Identifikation der Erregerart durch Isoenzymanalyse zeigt eindeutig, dass es sich um die im

Mittelmeergebiet verbreitete Art *Leishmania infantum* handelt (neuerdings auch als *Leishmania (L.) infantum* bezeichnet).

In der Schweiz wurden zwei vermutete autochthone Fälle von Leishmaniose beim Menschen publiziert (*Mazzi*, 1976; *Harms*, 1976). *Schawalder* (1987) beschrieb vier autochthone Fälle von Leishmaniose bei Hunden in der Region von Lausanne, *Arnold et al.* (1987) diagnostizierten Leishmaniose bei einem Hund, der die Schweiz nie verlassen haben soll.

Eventuell denkbare Kontaktinfektionen von Hund zu Hund oder von Hund auf den Menschen sind retrospektiv schwierig zu beweisen. In Einzelfällen wurde eine iatrogene oder akzidentelle Übertragung, z.B. durch Verletzungen mit gebrauchten Nadeln diskutiert (*Evans und Pearson*, 1988). *Gradoni et al.* (1987) konnten Phlebotomen nach einer Blutmahlzeit an Hunden, die gegen Leishmaniose mit Glucantime® therapiert worden waren, infizieren. Somit könnten Hunde auch nach Therapie und klinisch abgeheilte Leishmaniose über Jahre als Ansteckungsquelle für Phlebotomen dienen. In der Schweiz wurden im Tessin Phlebotomen nachgewiesen (*Knechtli und Jenni*, 1989; 1990). Die vektorielle Übertragung von Leishmanien ist aber im Tessin unwahrscheinlich, da die Dichte der Phlebotomen zu gering ist und die adulten Mücken nur während ca. zwei Monaten im Jahr gefunden werden (*Grimm*, persönl. Mitteilung).

### LITERATUR

- Arnold P., Meng E., Hagen A., Suter P. F.* (1986): Was diagnostizieren Sie? Welche Massnahmen schlagen Sie vor? Schweiz. Arch. Tierheilk. 128, 487–488. — *Berens R. L., Brun R., Krassner S. M.* (1976): A simple monophasic medium for axenic culture of hemoflagellates. J. Parasitol. 62, 360–365. — *Betschart B., Wyler R., Jenni L.* (1983): Characterization of Trypanozoon stocks by isoelectric focusing and isoenzyme analysis. Acta Tropica, 40, 25–28. — *Bourdeau P.* (1983): Eléments pratiques du diagnostic de la leishmaniose canine. Le Point Vét. 15, 125–132. — *Dedet J. P., Belazzoug S.* (1985): Leishmaniasis in North Africa. In: Leishmaniasis. K. P. Chang & R. S. Bray (eds): 353–375, Elsevier, Amsterdam. — *Eckert J.* (1988): Zur Bedeutung von Hund und Katze in der Infektkette parasitärer Zoonosen in Europa. Wien. tierärztl. Mschr. 75, 457–465. — *Evans T.G., Pearson R.D.* (1988): Clinical and immunological response following accidental inoculation of *Leishmania donovani*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 82, 854–856. — *Gambarelli F., Franck J., Dumon H.* (1987): Étude de la sensibilité au Glucantime® de dix souches de *Leishmania infantum* isolées à Marseille. Bulletin de la Société Française de Parasitologie 5, 15–18. — *Gessler M.* (1989): Biochemische Charakterisierung von Leishmanienstämmen aus dem Mittelmeerraum anhand von Isoenzymanalysen. Diplomarbeit Schweizer. Tropeninstitut, Basel. — *Gottstein B., Deplazes P.* (1989): Indirekter Erreger-



nachweis bei ausgewählten Parasitosen von Tieren mit Hilfe immunologischer und molekularbiologischer Methoden. Schweiz. Arch. Tierheilk. 131, 465–477. — Gottstein B., Deplazes P., Arnold P., Mehlitz D., Reiter I., Eckert J. (1988): Immundiagnose der Leishmaniose des Hundes mit ELISA und Mini-Western-Blot. Schweiz. Arch. Tierheilk. 130, 249–262. — Gradoni L., Maroli M., Gramiccia M., Mancianti F. (1987): *Leishmania infantum* infection rates in *Phlebotomus perniciosus* fed on naturally infected dogs under antimonial treatment. Medical and Veterinary Entomology 1, 339–342. — Harms M. (1976): Leishmaniose cutané. Rev. Méd. Suisse Romande 96, 383–390. — Jackson J.E., Tally J.D., Tang D.B. (1989): An *in vitro* micromethod for drug sensitivity testing of *Leishmania*. Am. J. Trop. Med. Hyg. 41, 318–330. — Kammermann-Lüscher B. (1980): Leishmaniose beim Hund. Schweiz. Arch. Tierheilk. 122, 585–603. — Kennedy W. P. K. (1984): Novel identification of differences in the kinetoplast DNA of *Leishmania* isolates by recombinant DNA techniques and *in situ* hybridisation. Mol. Biochem. Parasitol. 12, 313–325. — Knechtli R., Jenni L. (1989): Distribution and relative density of three sandfly (Diptera: Phlebotominae) species in southern Switzerland. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 64, 53–63. — Knechtli R., Jenni L. (1990): Experimental transmission of *Leishmania infantum* by the bite of *Phlebotomus perniciosus* from Switzerland. Acta Tropica 47, 213–216. — Lanotte G., Rioux J. A., Perieres J., Vollhardt Y. (1979): Écologie des Leishmanioses dans le sud de la France. Annales de Parasitologie (Paris) 54, 277–295. — Maazoun R., Lanotte G., Pasteur N., Rioux J.A., Kennou M.F., Pratloug F. (1981): Écologie des Leishmanioses dans le sud de la France. Annales de Parasitologie (Paris) 56, 131–146. — Mancianti F., Gramiccia M., Gradoni L., Pieri S. (1988): Studies on canine leishmaniasis control. 1. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 82, 566–567. — Mazzi R. (1976): Kutane Leishmaniose: autochthone Fall in der Schweiz? Dermatologica 153, 104–105. — Moradpour D., Markwalder K., Greminger P., Lüthy R. (1990): Die viszerale Leishmaniose als opportunistische Infektion. Schweiz. Rundschau Med. (Praxis) 79, 921–926. — Pospischil A., Fiebiger I., Krampitz H.E., Weiland G. (1987): Experimentelle Infektion mit Leishmanien beim Hund: Klinische, pathologische, parasitologische und serologische Befunde. J. Vet. Med. B. 34, 288–304. — Reiter I., Kretschmar A., Boch J., Krampitz H. (1985): Zur Leishmaniose des Hundes. Infektionsverlauf, Diagnose und Therapieversuche nach exp. Infektion von Beagles mit *Leishmania donovani* (St. Kalkutta). Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 98, 40–44. — Reusch C., Reiter I. (1987): Die importierte Hundeleishmaniose: Erfahrungen zu Klinik, Diagnostik und Therapie mit Na-Stibogluconat (Pentostam®). Tierärztl. Prax. 15, 305–310. — Schawaldler P. (1977): Leishmaniose bei Hund und Katze. Autochthone Fälle in der Schweiz. Kleintier-Praxis 22, 237–246. — Slappendel R. J. (1989): Leishmaniose des Hundes. VET 2, 6–17. — Winkler G.C., Arnold P., Deplazes P., Glardon O., Lutz H. (1988): Klinische und serologische Diagnose von Ehrlichiose bei Hunden in der Schweiz. Schweiz. Arch. Tierheilk. 130, 357–367. — Wunderlin E. (1990): Immunhistologische Markierung von Leishmanien im Gewebe. Vet. med. Diss., Zürich.

### Suivi parasitologique et immunologique pendant et après chimiothérapie de la Leishmaniose chez le chien

La culture *in vitro* pour mise en évidence de formes promastigotes de Leishmanies, à partir de prélèvements effectués au niveau du ganglion poplité, a été effectuée chez 36 chiens revenant de différentes zones d'endémie. L'isolement a été positif chez 32 chiens. L'analyse des isoenzymes (Glucose-Phosphate-Isomérase (GPI), Phospho-Gluco-Mutase (PGM) et Glutamate-Oxaloacétate-Transaminase (GOT)) a été réalisée sur les isolats provenant de 18 chiens et a permis l'identification de *Leishmania infantum* (syn. *Leishmania (L.) infantum*) dans tous les cas. Les parasites ont pu être isolés en culture *in vitro* dans 79% des 28 biopsies réalisés (à partir de 15 chiens) après chimiothérapie par Glucantime®, indépendamment de la date du prélèvement et de l'évolution de la maladie après le traitement. Les chiens avec une forme progressive de la maladie (malgré la chimiothérapie) ont montré une stabilité ou une discrète diminution (inférieure à 4,8%) de la concentration relative en anticorps (ELISA), cependant les formes régressives de l'infection (absence de récurrences après une période de 10 à 37 mois après chimiothérapie) ont montré une diminution plus nette de la concentration relative des anticorps (entre 6,7 et 16,2%) dans les 5 à 8 premiers mois, puis persistance d'une concentration relative d'anticorps à un niveau faible.

### Controlli parasitologici e immunologici della leishmaniosi del cane durante e dopo la chemioterapia

Stadi promastigoti di leishmanie si poterono coltivare *in vitro*, a partire da materiale di punzione dei linfonodi popliteali di 36 cani provenienti da diverse regioni di endemia, in 32 casi (89%). L'identificazione della specie venne intrapresa con delle analisi isoenzimatiche (glucosephosphate-isomerase (GPI), phosphoglucomutase (PGM) e glutamate-oxaloacetate-transaminase (GOT)) negli isolati di 18 cani. Tutti gli isolati avevano le caratteristiche di *Leishmania infantum* (recentemente anche denominata *Leishmania (L.) infantum*). A séguito alla chemioterapia con Glucantime® si poterono isolare in 79% di 28 rilevamenti (15 cani) di nuovo leishmanie, indipendentemente dal momento del prelievo o dall'andamento clinico della leishmaniosi. I cani che non reagirono alla chemioterapia non mostrarono nessuna riduzione o solamente una riduzione lieve (tra lo 0 e il 4,8%) della concentrazione relativa di anticorpi nell'ELISA. Nei pazienti che avevano reagito bene e senza recidivi alla chemioterapia (il periodo di osservazione

## VERLAUFSKONTROLLEN BEI CHEMOTHERAPIE DER LEISHMANIOSE DES HUNDES

variò da 10 a 37 mesi) le concentrazioni di anticorpi scesero durante i primi 5–8 mesi ogni mese di 6,7–16,2%, per poi persistere o scendere solamente di poco in séguito.

### VERDANKUNGEN

Wir danken den Tierärztinnen und Tierärzten, besonders Dr. R. Gwalter, Dr. W. Übersax und Dr. R. Wagner für die Zusammenarbeit und Materialbeschaffung; Prof. J. Eckert und Dr. B. Gottstein (Institut für Parasitologie, Zürich) für die Beratung; Prof. P.F. Suter (Veterinärmedizinische Klinik, Zürich) für die Durchsicht des Manuskriptes sowie Dr. R. Brun und

Dr. B. Betschart (Schweizerisches Tropeninstitut, Basel) für die Beratung zur Kultivierung und biochemischen Charakterisierung.

Adresse: Dr. P. Deplazes  
Institut für Parasitologie  
Universität Zürich  
Winterthurerstrasse 266a  
CH-8057 Zürich

Manuskripteingang: 28. Januar 1991

### Jetzt mit dem ersten PC-gesteuerten Röntgen-Generator der Welt

Mit Fr. 19.– sind Sie dabei: (Basis 500 A/Jahr)  
Mit unserem **neuen Röntgen-Vertriebs-System** berappen Sie **nachträglich** nur die ausgeführten Expositionen zu Fr. 19.–. Interessiert Sie diese risikofreie Beschaffung einer Röntgeneinrichtung, mit Service und **Vollgarantie**?

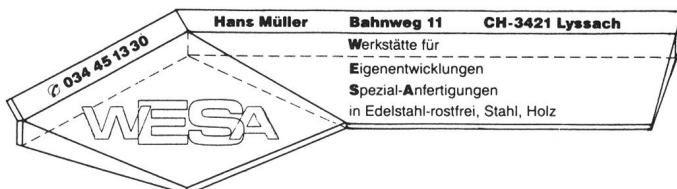
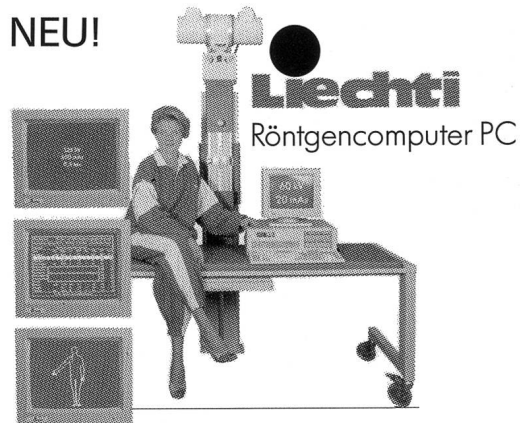
Bitte verlangen Sie unverbindlich unser Angebot für eine betriebsbereite, komplette Röntgenanlage mit Dunkelkammereinrichtung.

**Vorteile:** keine Kapitalinvestition; Vollgarantie während der Vertragsdauer. Nach 5 Jahren sind Sie Besitzer der kompletten Röntgeneinrichtung.

**Revidierte Occasions-Röntgenanlage,**  
500 mA, 125 kV. Buckystand, fahrbarer Tisch, Fr. 22 000.–.

**R. Liechti AG, Röntgen, 2075 Thielle, Tel. 032 88 21 27**

NEU!



Die Qualität aus Holz

### WESA-Autoapotheken

In unserer Werkstatt werden für Sie noch weitere Produkte hergestellt.  
Ihre Werkstatt für Einzel-Anfertigungen

