

UMFASSENDE SAMMLUNG VERÖFFENTLICHTER  
STUDIEN UND WHITE PAPERS VON BIONOTE

VER.01

# Vcheck M LEISTUNGSEVALUIERUNG



# INHALTSVERZEICHNIS.

## State-of-the-art POC-System für die molekulare Diagnostik

**Vcheck** ist ein fortschrittliches Point-of-Care-System (POC) für die Molekulardiagnostik, das Extraktions- und Amplifikationsprozesse in einem einzigen Schritt integriert. Dieses System bietet eine Vielzahl von Multiplex-Echtzeit-PCR-Panels und eignet sich daher ideal für das Screening und die Bestätigung dringender Infektionskrankheiten in Tierkliniken. Mit seiner hochsensiblen Detektionsfähigkeit und schnellen Durchlaufzeit ist Vcheck M ein Vorreiter auf dem Gebiet der Inhouse-PCR testing.

### 01 Vcheck M Cartridge \_ Vektorenerkrankungen

- |                         |    |
|-------------------------|----|
| • Babesia gibsoni/canis | 03 |
| • Ehrlichia/Anaplasma   | 09 |
| • Canine Vector 8 Panel | 13 |

### 02 Vcheck M Cartridge \_ Diarrhöe

- |                           |    |
|---------------------------|----|
| • Canine Diarrhea 8 panel | 18 |
| • Feline Diarrhea 8 panel | 20 |

### 03 Vcheck M Cartridge \_ Anämie

- |                         |    |
|-------------------------|----|
| • FIV/FelV              | -  |
| • Canine Anemia 8 Panel | 22 |
| • Feline Anemia 8 Panel | -  |

### 04 Vcheck M Cartridge \_ Atemwegserkrankungen

- |                              |   |
|------------------------------|---|
| • Canine Respiratory 8 Panel | - |
| • Feline Respiratory 8 Panel | - |

# Vcheck M Babesia gibsoni/canis

## Vergleichende Bewertung von Vcheck M Babesia gibsoni/canis mit Echtzeit-PCR zum Nachweis von *Babesia gibsoni*- und *Babesia canis*-DNA

BIONOTE study

### EINLEITUNG

*Babesia gibsoni* (*B. gibsoni*) und *Babesia canis* (*B. canis*) sind einzellige Parasiten, die durch Zecken auf Hunde übertragen werden und die Erreger der Hundebabesiose sind. Es handelt sich um wichtige, weltweit verbreitete, durch Zecken übertragene Krankheiten. Sie können eine Vielzahl von Symptomen verursachen, von einem plötzlichen Kollaps mit systemischem Schock, einer hämolytischen Krise bis hin zu einer subtilen und langsam fortschreitenden Infektion ohne erkennbare klinische Anzeichen.

Der Tierarzt verwendet in der Regel Blutaussstriche, serologische Tests und PCR-Tests, um Babesiose zu diagnostizieren. Früher mussten PCR-Testproben an ein externes Labor geschickt werden, aber mit dem Vcheck M ist der PCR-Test in der Tierklinik möglich.

### ZWECK

Das Ziel dieser Studie ist es, die diagnostische Sensitivität und Spezifität des neu entwickelten Vcheck M Babesia gibsoni/canis (POCT PCR-Kit) im Vergleich zur laborbasierten Echtzeit-PCR zu bewerten.

Darüber hinaus wird bei Abweichungen zwischen den Ergebnissen des Vcheck M und der laborbasierten Echtzeit-PCR eine Sequenzierung in einem externen Labor angefordert, um das Endergebnis zu bestätigen.

### MATERIALIEN AND METHODEN

Insgesamt wurden 60 Vollblutproben von Hunden untersucht, die zuvor in einem kommerziellen Veterinärlabor in Korea mittels laborbasierter Echtzeit-PCR auf *B. gibsoni* getestet worden waren (55 positive und 5 negative).

Die Tests wurden von SD Biosensor Inc., MDx R&D Department, unter Verwendung der Vcheck M Babesia gibsoni/canis-Kassette mit dem Vcheck M10-Analysegerät durchgeführt. Zusätzlich wurden Sequenzierungstests im Labor „B“ in Korea durchgeführt, um etwaige Diskrepanzen zwischen der laborbasierten Echtzeit-PCR und dem Vcheck M10-Analysegerät zu klären.

### ERGEBNISSE

Der Vcheck M zeigte bei 59 von 60 getesteten Vollblutproben von Hunden eine Übereinstimmung mit den laborgestützten Echtzeit-PCR-Ergebnissen.

Bei einer Probe wurde jedoch eine Diskrepanz festgestellt: Der Vcheck M zeigte *B. canis* positiv und *B. gibsoni* negativ an, während die laborgestützte Echtzeit-PCR nur *B. gibsoni* positiv nachwies. Um diese Diskrepanz zu beheben, wurde die Sequenzierung von einem Drittanbieter durchgeführt, der bestätigte, dass die Probe *B. canis*-positiv war.

Basierend auf diesen Ergebnissen zeigte der Vcheck M im Vergleich zu den laborbasierten Echtzeit-PCR- und Sequenzierungsergebnissen (im Folgenden als Referenzmethode bezeichnet) eine 100-prozentige Sensitivität (54/54) und eine 100-prozentige Spezifität (6/6) für *B. gibsoni*. Für *B. canis* zeigte der Vcheck M eine Sensitivität von 100 % (1/1) und eine Spezifität von 100 % (59/59).

Detaillierte Vergleiche zwischen dem Vcheck M und der Referenzmethode sind in den Tabellen 1 und 2 aufgeführt.

### SCHLUSSFOLGERUNG

In this study, there was a discrepancy between the results of the Vcheck M test and the lab-based real-time PCR, where the Vcheck M indicated a positive result for *B. canis*.

Since *B. canis* had never been reported in Korea, it was initially assumed that the dog was infected with *B. gibsoni*. However, additional genetic sequencing revealed that the dog was indeed infected with *Babesia canis vogeli* (Figure 1 and 2). This marked the first reported case of *B. canis* in Korea [1].

Based on these findings, it was confirmed that Vcheck M Babesia gibsoni/canis is superior to existing lab-based PCR methods, offering not only greater convenience but also better clinical performance.

### QUELLEN

1. Yun, S. (ed.) (2022) '바베시아 캐니스 국내 첫 감염 보고..새 병원체 유입됐다', DAILYVET, 4 November. Available at: <https://www.dailyvet.co.kr/news/practice/companion-animal/174795>.

Tabelle 1. Sensitivität und Spezifität von Vcheck M Babesia gibsoni/canis im Vergleich zur Referenzmethode für *B. gibsoni*

| <i>Babesia gibsoni</i>               |          | Reference method<br>(Real-time PCR & sequencing) |          |       |
|--------------------------------------|----------|--------------------------------------------------|----------|-------|
|                                      |          | Positive                                         | Negative | Total |
| Vcheck M<br>Babesia<br>gibsoni/canis | Positive | 54                                               | 0        | 54    |
|                                      | Negative | 0                                                | 6        | 6     |
|                                      | Total    | 54                                               | 6        | 60    |
| Sensitivity                          |          | 100% (54/54)                                     |          |       |
| Specificity                          |          | 100% (6/6)                                       |          |       |

Tabelle 2. Sensitivität und Spezifität von Vcheck M Babesia gibsoni/canis im Vergleich zur Referenzmethode für *B. canis*

| <i>Babesia canis</i>                 |          | Reference method<br>(Real-time PCR & sequencing) |          |       |
|--------------------------------------|----------|--------------------------------------------------|----------|-------|
|                                      |          | Positive                                         | Negative | Total |
| Vcheck M<br>Babesia<br>gibsoni/canis | Positive | 1                                                | 0        | 1     |
|                                      | Negative | 0                                                | 59       | 59    |
|                                      | Total    | 1                                                | 59       | 60    |
| Sensitivity                          |          | 100% (1/1)                                       |          |       |
| Specificity                          |          | 100% (59/59)                                     |          |       |

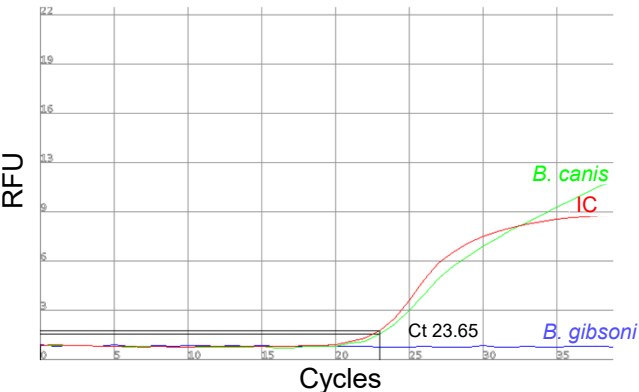


Abbildung 1. Amplifikationskurven, die mit Vcheck M für eine positive Probe von *B. canis* erstellt wurden

| [NCBI Blast]                                                          |                                                                                  |                 |             |             |         |                          |          |            |            |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------|-------------|---------|--------------------------|----------|------------|------------|
| Descriptions                                                          |                                                                                  | Graphic Summary |             | Alignments  |         | Taxonomy                 |          |            |            |
| Sequences producing significant alignments                            |                                                                                  |                 |             |             |         |                          |          |            |            |
| Download                                                              |                                                                                  | Select columns  |             | Show        |         | 100                      |          |            |            |
| <input checked="" type="checkbox"/> select all 100 sequences selected |                                                                                  |                 |             |             |         |                          |          |            |            |
| Description                                                           |                                                                                  | GenBank         |             | Graphics    |         | Distance tree of results |          | MSA Viewer |            |
|                                                                       | Scientific Name                                                                  | Max Score       | Total Score | Query Cover | E value | Per Ident                | Acc. Len | Accession  |            |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Babesia canis vogeli 18S ribosomal RNA gene, partial sequence                    | Babesia vogeli  | 973         | 973         | 97%     | 0.0                      | 98.24%   | 1677       | U8556449.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Babesia canis vogeli from Venezuela 18S ribosomal RNA gene, partial sequence     | Babesia vogeli  | 973         | 973         | 97%     | 0.0                      | 98.24%   | 1662       | DQ292739.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Babesia sp. isolate Olinaria dog-76 18S ribosomal RNA gene, partial sequence     | Babesia sp.     | 973         | 973         | 97%     | 0.0                      | 98.24%   | 1647       | AY077719.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Babesia vogeli gene for small subunit rRNA, partial sequence, clone clone 5      | Babesia vogeli  | 973         | 973         | 97%     | 0.0                      | 98.24%   | 1708       | AB083374.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Babesia canis vogeli from Brazil 18S ribosomal RNA gene, partial sequence        | Babesia vogeli  | 973         | 973         | 97%     | 0.0                      | 98.24%   | 1599       | AY371196.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Babesia canis vogeli from Brazil 18S ribosomal RNA gene, partial sequence        | Babesia vogeli  | 973         | 973         | 97%     | 0.0                      | 98.24%   | 1686       | AY371194.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Babesia canis vogeli 18S ribosomal RNA gene, partial sequence                    | Babesia vogeli  | 970         | 970         | 96%     | 0.0                      | 98.40%   | 703        | JF826145.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Babesia canis vogeli isolate Guanoni 18S ribosomal RNA gene, partial sequence    | Babesia vogeli  | 968         | 968         | 97%     | 0.0                      | 98.06%   | 1659       | KJ839326.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Babesia canis vogeli isolate Spoin 1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence    | Babesia vogeli  | 968         | 968         | 97%     | 0.0                      | 98.06%   | 1663       | DQ435645.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Babesia canis vogeli from dog 18S ribosomal RNA gene, partial sequence           | Babesia vogeli  | 968         | 968         | 97%     | 0.0                      | 98.06%   | 967        | AY150861.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Babesia canis vogeli 18S ribosomal RNA gene, partial sequence                    | Babesia vogeli  | 968         | 968         | 97%     | 0.0                      | 98.06%   | 1713       | AY072925.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Babesia canis vogeli from USA 18S ribosomal RNA gene, partial sequence           | Babesia vogeli  | 968         | 968         | 97%     | 0.0                      | 98.06%   | 1680       | AY371198.1 |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                   | Babesia canis vogeli isolate RO/FMV/B/9 18S ribosomal RNA gene, partial sequence | Babesia vogeli  | 966         | 966         | 96%     | 0.0                      | 98.22%   | 1538       | HQ662635.1 |

Abbildung 2. Sequenzierungsergebnisse der positiven *B. canis*-Probe, analysiert mit NCBI BLAST

# Vcheck M Babesia gibsoni/canis

## Vergleichende Bewertung von Vcheck M Babesia gibsoni/canis mit konventioneller PCR zum Nachweis von *Babesia gibsoni*- und *Babesia canis*-DNA

Evaluated by 'J' College of Veterinary Medicine in Korea

### EINLEITUNG

*Babesia gibsoni* (*B. gibsoni*) und *Babesia canis* (*B. canis*) sind einzellige Parasiten, die durch Zecken auf Hunde übertragen werden und die Erreger der Hundebabesiose sind. Es handelt sich um wichtige, weltweit verbreitete, durch Zecken übertragene Krankheiten. Sie können eine Vielzahl von Symptomen verursachen, von einem plötzlichen Kollaps mit systemischem Schock, einer hämolytischen Krise bis hin zu einer subtilen und langsam fortschreitenden Infektion ohne erkennbare klinische Anzeichen.

Der Tierarzt verwendet in der Regel Blutaussstriche, serologische Tests und PCR-Tests, um Babesiose zu diagnostizieren. Früher mussten PCR-Testproben an ein externes Labor geschickt werden, aber mit dem Vcheck M ist der PCR-Test in der Tierklinik möglich.

### ZWECK

Das Ziel dieser Studie ist es, die diagnostische Sensitivität und Spezifität des neu entwickelten Vcheck M Babesia gibsoni/canis (POCT PCR-Kit) im Vergleich zur laborbasierten konventionellen PCR zu bewerten.

Darüber hinaus werden bei Abweichungen zwischen den Ergebnissen von Vcheck M und der konventionellen PCR Echtzeit-PCR-Tests mit einem Reagenz eines Drittanbieters durchgeführt, um das Endergebnis zu bestätigen.

### MATERIALIEN UND METHODEN

Insgesamt wurden 12 Vollblutproben von Hunden untersucht, die mit dem Rapid Babesia Ab-Testkit getestet wurden. Sowohl der Vcheck M als auch die herkömmlichen PCR-Tests wurden am College of Veterinary Medicine in Korea durchgeführt, wobei die Vcheck M Babesia gibsoni/canis-Kassette mit dem Vcheck M10-Analysator verwendet wurde. Um etwaige Diskrepanzen zwischen den beiden Testmethoden zu beheben, wurden außerdem weitere Tests an inkonsistenten Proben von SD Biosensor Inc., MDx R&D Department, unter Verwendung einer Reagenz eines Drittanbieters mit Echtzeit-PCR durchgeführt.

### ERGEBNISSE

Der Vcheck M zeigte bei 11 von 12 getesteten Vollblutproben von Hunden eine Übereinstimmung mit den laborbasierten konventionellen PCR-Ergebnissen.

Bei einer Probe wurde jedoch eine Diskrepanz festgestellt: Der Vcheck M zeigte *B. gibsoni* negativ an, während die konventionelle PCR *B. gibsoni* positiv anzeigte. Um diese Diskrepanz zu beheben, wurde ein Echtzeit-PCR-Test unter Verwendung eines Reagenzes eines Drittanbieters durchgeführt, der bestätigte, dass die Probe *B. gibsoni* negativ war.

Auf der Grundlage dieser Ergebnisse zeigte der Vcheck M im Vergleich zu den Ergebnissen der laborbasierten konventionellen PCR und der Echtzeit-PCR (im Folgenden als Referenzmethode bezeichnet) eine Sensitivität von 100 % (7/7) und eine Spezifität von 100 % (5/5) für *B. gibsoni*.

Detaillierte Vergleiche des Vcheck M mit der Referenzmethode sind in Abbildung 1 und den Tabellen 1, 2 und 3 beschrieben.

### SCHLUSSFOLGERUNG

In dieser Studie wurden mehrere Diskrepanzen zwischen dem Rapid Babesia Ab-Testkit und dem Vcheck M beobachtet. Es wird angenommen, dass die Hunde kürzlich mit *B. gibsoni* infiziert wurden und noch keine nachweisbaren Antikörper gebildet hatten.

Darüber hinaus wurde anhand der Ergebnisse von Vcheck M und der Referenzmethode bestätigt, dass der Vcheck M Babesia gibsoni/canis-Test die bestehende laborbasierte konventionelle PCR nicht nur in Bezug auf die Benutzerfreundlichkeit, sondern auch in Bezug auf die klinische Leistung übertrifft.

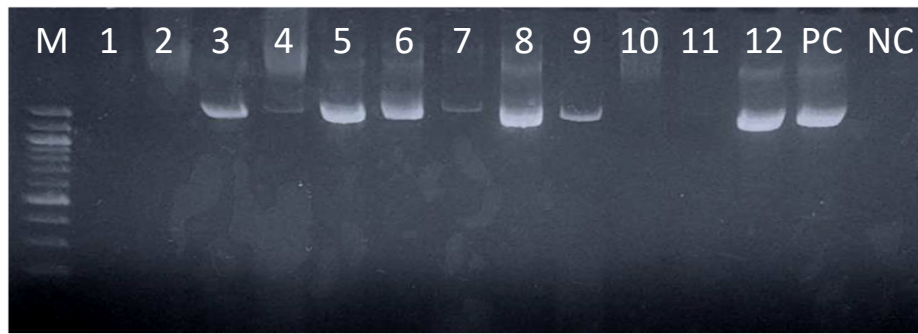


Abbildung 1. Bild eines Agarosegels, das die konventionellen PCR-Ergebnisse für *B. gibsoni* zeigt

Tabelle 1. Vergleich von 3 diagnostischen Tests zum Nachweis von *Babesia* spp.

| Patient no. | Rapid Babesia Ab | Vcheck M Babesia gibsoni/canis |                 | Conventional PCR  |                 |
|-------------|------------------|--------------------------------|-----------------|-------------------|-----------------|
|             |                  | <i>B. gibsoni</i>              | <i>B. canis</i> | <i>B. gibsoni</i> | <i>B. canis</i> |
| 1           | (-)              | (-)                            | (-)             | (-)               | (-)             |
| 2           | (-)              | (-)                            | (-)             | (-)               | (-)             |
| 3           | (+)              | (+) Ct 19.87                   | (-)             | (+)               | (-)             |
| 4           | (+)              | (+) Ct 21.11                   | (-)             | (+)               | (-)             |
| 5           | (-)              | (+) Ct 19.58                   | (-)             | (+)               | (-)             |
| 6           | (-)              | (+) Ct 19.67                   | (-)             | (+)               | (-)             |
| 7           | (-)              | (-)                            | (-)             | (+)               | (-)             |
| 8           | (-)              | (+) Ct 18.72                   | (-)             | (+)               | (-)             |
| 9           | (-)              | (+) Ct 20.22                   | (-)             | (+)               | (-)             |
| 10          | (-)              | (-)                            | (-)             | (-)               | (-)             |
| 11          | (-)              | (-)                            | (-)             | (-)               | (-)             |
| 12          | (+)              | (+) Ct 16.93                   | (-)             | (+)               | (-)             |

Tabelle 2. Echtzeit-PCR-Ergebnisse eines Drittanbieter-Reagenz für die abweichende Probe zwischen Vcheck M und konventioneller PCR

| Patient No. | <i>B. gibsoni</i> |                  |          |                                          |
|-------------|-------------------|------------------|----------|------------------------------------------|
|             | Rapid Babesia Ab  | Conventional PCR | Vcheck M | Real-time PCR (with third-party reagent) |
| 7           | (-)               | (+)              | (-)      | (-)                                      |

Tabelle 3. Sensitivität und Spezifität von Vcheck M Babesia gibsoni/canis im Vergleich zur Referenzmethode für *B. gibsoni* und *B. canis*

| <i>Babesia gibsoni</i>         |             | Reference method<br>(Conventional PCR & Real-time PCR using third party reagent) |          |       |
|--------------------------------|-------------|----------------------------------------------------------------------------------|----------|-------|
|                                |             | Positive                                                                         | Negative | Total |
| Vcheck M Babesia gibsoni/canis | Positive    | 7                                                                                | 0        | 7     |
|                                | Negative    | 0                                                                                | 5        | 5     |
|                                | Total       | 7                                                                                | 5        | 12    |
|                                | Sensitivity | 100% (7/7)                                                                       |          |       |
|                                | Specificity | 100% (5/5)                                                                       |          |       |

| <i>Babesia canis</i>           |             | Reference method<br>(Conventional PCR & Real-time PCR using third party reagent) |          |       |
|--------------------------------|-------------|----------------------------------------------------------------------------------|----------|-------|
|                                |             | Positive                                                                         | Negative | Total |
| Vcheck M Babesia gibsoni/canis | Positive    | 0                                                                                | 0        | 0     |
|                                | Negative    | 0                                                                                | 12       | 12    |
|                                | Total       | 0                                                                                | 12       | 12    |
|                                | Sensitivity | -                                                                                |          |       |
|                                | Specificity | 100% (12/12)                                                                     |          |       |



# Vcheck M Babesia gibsoni/canis

Vergleichende Bewertung von Vcheck M Babesia gibsoni/canis mit konventioneller PCR zum Nachweis von *Babesia gibsoni* und *Babesia canis* DNA an der Universität Lublin in Polen

Evaluated by Lublin University of Poland

## EINLEITUNG

Die Babesiose bei Hunden ist eine weit verbreitete und klinisch bedeutsame, durch Zecken übertragene Krankheit in Polen, mit einer jährlichen Inzidenz von etwa 1,97 % bei polnischen Hunden [1]. Die Hauptursache für die Babesiose bei Hunden in Polen ist *Babesia canis canis* [2]. In einer Studie aus dem Jahr 2018 wurde jedoch das Auftreten von *Babesia gibsoni* (*B. gibsoni*) bei einheimischen Hunden gemeldet, was die Notwendigkeit unterstreicht, *B. gibsoni* bei der Differentialdiagnose von durch Vektoren übertragenen Krankheiten in Polen zu berücksichtigen [3].

Die Blutausstrichuntersuchung ist ein gängiges diagnostisches Instrument zur Diagnose von Babesiose bei Hunden, aber ihre Wirksamkeit ist im Vergleich zur molekularen Diagnostik begrenzt. Während die Lichtmikroskopie hochspezifisch für den Nachweis großer Formen von *Babesia* wie *Babesia canis* (*B. canis*) ist, ist sie für *B. gibsoni* weniger effektiv, da aufgrund der geringeren Größe der Piroplasmen ein höheres Fachwissen erforderlich ist [3]. Traditionell wurden molekular diagnostische Untersuchungen auf Babesiose an externe Labore geschickt. Das Vcheck M-System ermöglicht jedoch PCR-Tests in der Klinik, sodass eine Unterscheidung zwischen *B. canis* und *B. gibsoni* möglich ist. Die genaue Identifizierung der infizierenden *Babesia* spp. ist für die Festlegung des geeigneten Behandlungsplans und der Prognose von entscheidender Bedeutung.

## ZWECK

The goal of this study is to evaluate the diagnostic sensitivity and specificity of the Vcheck M Babesia gibsoni/canis (POCT PCR kit) compared to laboratory-based conventional PCR and blood smear analysis. Additionally, all samples that test positive with conventional PCR will undergo further sequencing to confirm the final results.

## MATERIALIEN UND METHODEN

Alle Proben wurden mittels laborbasierter konventioneller PCR und Blutausstrichanalyse bestätigt.

- ① Positive Proben: 59 (58 *B. canis* + 1 *B. gibsoni*)
- ② Negative Proben: 53

Alle Tests, mit Ausnahme der Sequenzierung, wurden an allen 112 Proben an der Fakultät für Veterinärmedizin der Universität für Lebenswissenschaften in Lublin, Polen,

durchgeführt. Die 59 positiven Proben herkömmlicher PCR-Produkte wurden anschließend am Institut für Biochemie und Biophysik der Polnischen Akademie der Wissenschaften in Warschau, Polen, sequenziert.

## ERGEBNISSE

Die Studie zeigte eine Übereinstimmung bei 112 Vollblutproben von Hunden. In Bezug auf die klinische Leistung zeigte Vcheck M eine 100-prozentige Übereinstimmung im Vergleich zu den laborbasierten konventionellen PCR-, Blutausstrich- und Sequenzierungsergebnissen (im Folgenden als Referenzmethode bezeichnet). Detaillierte Vergleiche zwischen Vcheck M und der Referenzmethode sind in Tabelle 1 und den Abbildungen 1 und 2 dargestellt.

## SCHLUSSFOLGERUNG

Diese Bewertung bestätigt, dass der Vcheck M eine außergewöhnliche diagnostische Leistung zeigte und eine Sensitivität und Spezifität von 100 % für den Nachweis von *B. canis* und *B. gibsoni* erreichte. Bemerkenswert ist, dass *B. gibsoni* in einem Fall nachgewiesen wurde, was die Bedeutung einer genauen Unterscheidung zwischen *B. canis* und *B. gibsoni* unterstreicht. Die klinischen Symptome von *B. gibsoni*-Infektionen ähneln denen von *B. canis*-Infektionen stark, allerdings ist die Behandlung von *B. gibsoni*-Infektionen deutlich schwieriger [3]. Daher ist die Verwendung des Vcheck M zur präzisen Unterscheidung zwischen *B. canis* und *B. gibsoni* von entscheidender Bedeutung, um eine angemessene Behandlung zu gewährleisten. Diese Ergebnisse bestätigen, dass der Vcheck M ein äußerst zuverlässiges und effektives Diagnosewerkzeug für die Klinik ist, das zeitnahe und präzise Behandlungsentscheidungen ermöglicht.

## QUELLEN

1. Adaszek Ł, Martinez AC, Winiarczyk S. The factors affecting the distribution of babesiosis in dogs in Poland. *Vet Parasitol.* 2011 Sep 27;181(2-4):160-5.
2. Dwużnik-Szarek, D., Mierzejewska, E.J., Rodo, A. et al. Monitoring the expansion of *Dermacentor reticulatus* and occurrence of canine babesiosis in Poland in 2016–2018. *Parasites Vectors* 14, 267 (2021).
3. Adaszek L, Lyp P, Poblocki P, Skrzypczak M, Mazurek L, Winiarczyk S. The first case of *Babesia gibsoni* infection in a dog in Poland. *Vet Med-Czech.* 2018;63(5):225-228.

Tabelle 1. Sensitivität und Spezifität von Vcheck M Babesia gibsoni/canis im Vergleich zur Referenzmethode für B.gibsoni und B.canis

| Babesia gibsoni                |          | Reference method<br>(Conventional PCR, blood smear, sequencing) |          |       |
|--------------------------------|----------|-----------------------------------------------------------------|----------|-------|
|                                |          | Positive                                                        | Negative | Total |
| Vcheck M Babesia gibsoni/canis | Positive | 1                                                               | 0        | 1     |
|                                | Negative | 0                                                               | 111      | 111   |
|                                | Total    | 1                                                               | 111      | 112   |
| Sensitivity                    |          | 100% (1/1)                                                      |          |       |
| Specificity                    |          | 100% (111/111)                                                  |          |       |

| Babesia canis                  |          | Reference method<br>(Conventional PCR, blood smear, sequencing) |          |       |
|--------------------------------|----------|-----------------------------------------------------------------|----------|-------|
|                                |          | Positive                                                        | Negative | Total |
| Vcheck M Babesia gibsoni/canis | Positive | 58                                                              | 0        | 58    |
|                                | Negative | 0                                                               | 54       | 54    |
|                                | Total    | 58                                                              | 54       | 112   |
| Sensitivity                    |          | 100% (58/58)                                                    |          |       |
| Specificity                    |          | 100% (54/54)                                                    |          |       |

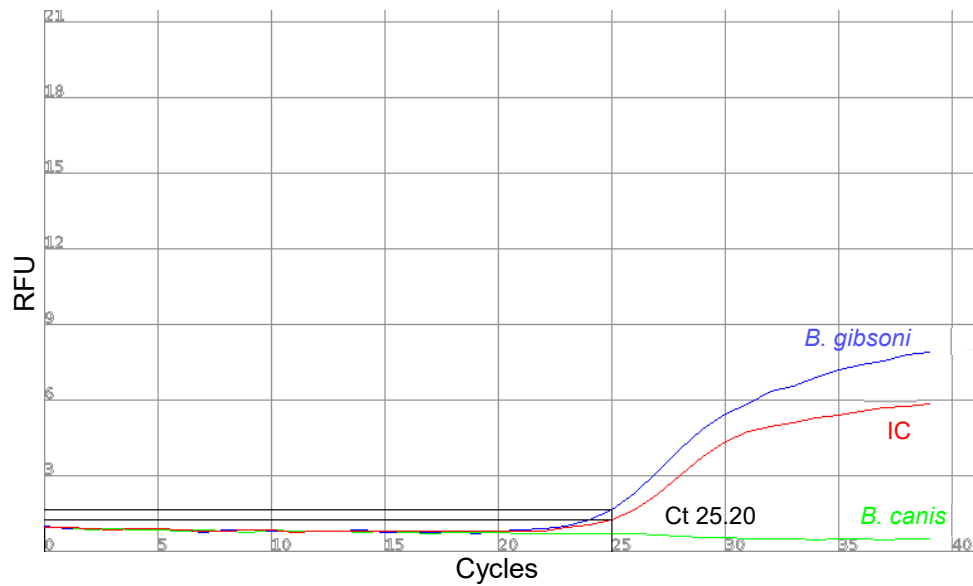


Abbildung 1. Amplifikationskurven, die mit Vcheck M für eine positive Probe von B. gibsoni erstellt wurden

| Descriptions                                                                                              |                                                                                                                 | Graphic Summary                 | Alignments               | Taxonomy                   |                            |                        |                           |                         |                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------|----------------------------|
| Sequences producing significant alignments                                                                |                                                                                                                 |                                 |                          |                            |                            |                        |                           |                         |                            |
| Download <span>▼</span> Select columns <span>▼</span> Show <span>100</span> <span>▼</span> <span>?</span> |                                                                                                                 |                                 |                          |                            |                            |                        |                           |                         |                            |
| <input checked="" type="checkbox"/> select all 100 sequences selected                                     |                                                                                                                 |                                 |                          |                            |                            |                        |                           |                         |                            |
| GenBank    Graphics    Distance tree of results    MSA Viewer                                             |                                                                                                                 |                                 |                          |                            |                            |                        |                           |                         |                            |
|                                                                                                           | Description <span>▼</span>                                                                                      | Scientific Name <span>▼</span>  | Max Score <span>▼</span> | Total Score <span>▼</span> | Query Cover <span>▼</span> | E value <span>▼</span> | Per. Ident <span>▼</span> | Acc. Len <span>▼</span> | Accession <span>▼</span>   |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Vaynad isolate 8 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>     | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 1525                    | <a href="#">MN134517.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Vaynad isolate 6 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>     | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 1525                    | <a href="#">MN134515.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Vaynad isolate 5 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>     | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 1524                    | <a href="#">MN134514.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Vaynad isolate 3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>     | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 1525                    | <a href="#">MN134512.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Vaynad isolate 1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>     | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 1525                    | <a href="#">MN134511.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Trivandrum isolate 1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a> | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 1525                    | <a href="#">MN134509.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Thrissur isolate 2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>   | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 1525                    | <a href="#">MN134508.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Kannur isolate 1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>     | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 1525                    | <a href="#">MN134505.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Ernakulam isolate 8 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>  | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 1525                    | <a href="#">MN134504.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Ernakulam isolate 6 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>  | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 1525                    | <a href="#">MN134503.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Ernakulam isolate 5 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>  | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 1525                    | <a href="#">MN134502.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Ernakulam isolate 3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>  | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 1525                    | <a href="#">MN134501.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Ernakulam isolate 1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>  | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 1525                    | <a href="#">MN134499.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Himmatnagar-17 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>       | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 916                     | <a href="#">PP858672.1</a> |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                       | <a href="#">Babesia gibsoni isolate Junagadh-104 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>         | <a href="#">Babesia gibsoni</a> | 946                      | 946                        | 98%                        | 0.0                    | 97.51%                    | 885                     | <a href="#">PP858490.1</a> |

Abbildung 2. Sequenzierungsergebnisse der positiven B. gibsoni-Probe, analysiert mit NCBI BLAST



# Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma

## Vergleichende Bewertung von Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma mit Echtzeit-PCR zum Nachweis von *Ehrlichia*- und *Anaplasma*-DNA

BIONOTE study

### EINLEITUNG

*Ehrlichia* spp. und *Anaplasma* spp. sind Rickettsien-Bakterien, die von Zecken auf Hunde und Katzen übertragen werden und die Erreger von Ehrlichiose bzw. Anaplasmose sind. Es handelt sich um wichtige, weltweit verbreitete, durch Zecken übertragene Krankheiten. Sie können eine Vielzahl von Symptomen verursachen, von keinem bis hin zu Fieber und allgemeinen Schmerzen, die bis zum Tod führen können.

Der Tierarzt verwendet in der Regel serologische Tests und PCR-Tests, um Ehrlichiose und Anaplasmose zu diagnostizieren. Früher mussten PCR-Testproben an ein externes Labor geschickt werden, aber mit dem Vcheck M ist der PCR-Test in der Tierklinik möglich.

### ZWECK

Das Ziel dieser Studie ist es, die diagnostische Sensitivität und Spezifität der neu entwickelten Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma-Kassette (POCT-PCR-Kit) im Vergleich zur laborbasierten Echtzeit-PCR zu bewerten. Darüber hinaus wird bei Abweichungen zwischen den Ergebnissen von Vcheck M und der laborbasierten Echtzeit-PCR eine Sequenzierung in einem externen Labor angefordert, um das Endergebnis zu bestätigen.

### MATERIALIEN UND METHODEN

Insgesamt wurden 35 Vollblutproben von Hunden ausgewertet, die in einem Labor in Paraguay und einer Tierklinik in Malaysia mit einem Antikörper-Schnelltest positiv getestet wurden.

Die Tests wurden von SD Biosensor Inc., MDx R&D Department, unter Verwendung der Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma-Kassette mit dem Vcheck M10-Analysator durchgeführt. Für Vergleichsanalysen wurde das „P“-Kit (UK) mit Echtzeit-PCR verwendet. Zusätzlich wurden Sequenzierungstests im „B“-Labor (Korea) durchgeführt, um etwaige Diskrepanzen zwischen den beiden Tests zu bestätigen.

| Sample Information                                                    |             | Equipment Used               |                                 |                                    |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------|------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| Pre-test on site                                                      | Sample size | Vcheck M10 analyzer          | Reference method                |                                    |
|                                                                       |             |                              | Comparative test                | Confirmation test                  |
| Positive for <i>Ehrlichia</i> or <i>Anaplasma</i> antibody rapid test | 35          | Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma | "P" kit (UK) with real-time PCR | Sequencing (for discrepant result) |

### ERGEBNISSE

Der Vcheck M zeigte bei 31 von 35 getesteten Vollblutproben von Hunden eine Übereinstimmung mit den laborgestützten Echtzeit-PCR-Ergebnissen. Darüber hinaus traten bei insgesamt 4 Proben (Proben Nr. 22, 24, 27 und 29; Vcheck M positiv, Echtzeit-PCR negativ) Diskrepanzen zwischen Vcheck M und laborgestützter Echtzeit-PCR auf.

Um diese Diskrepanz zu beheben, wurde eine Sequenzierung durch einen Dritten durchgeführt, die bestätigte, dass diese Proben positiv waren.

Basierend auf diesen Ergebnissen zeigte der Vcheck M eine 100-prozentige Sensitivität (18/18) und eine 100-prozentige Spezifität (17/17) für *Ehrlichia* spp. im Vergleich zu den laborbasierten Echtzeit-PCR- und Sequenzierungsergebnissen (im Folgenden als Referenzmethode bezeichnet). Für *Anaplasma* spp. zeigte der Vcheck M eine Sensitivität von 100 % (3/3) und eine Spezifität von 100 % (32/32). Detaillierte Vergleiche von Vcheck M mit der Referenzmethode sind in den Tabellen 1, 2 und 3 beschrieben.

### SCHLUSSFOLGERUNG

In dieser Studie wurden mehrere Diskrepanzen zwischen dem Antikörper-Schnelltest und dem Vcheck M beobachtet. Es wird angenommen, dass sich die Hunde entweder in der frühen Phase der Infektion befanden oder mit *Ehrlichia* oder *Anaplasma* infiziert waren und sich anschließend erholt hatten.

Darüber hinaus bestätigte der Vergleich zwischen den Ergebnissen von Vcheck M und der Referenzmethode, dass die Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma-Kassette nicht nur in Bezug auf die Benutzerfreundlichkeit, sondern auch in Bezug auf die klinische Leistung hervorragend ist.

**Tabelle 1.** Sensitivität und Spezifität von Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma im Vergleich zur Referenzmethode für *Ehrlichia* spp.

| <i>Ehrlichia</i> spp.               |             | Reference method<br>(Real-time PCR & sequencing) |          |       |
|-------------------------------------|-------------|--------------------------------------------------|----------|-------|
|                                     |             | Positive                                         | Negative | Total |
| Vcheck M<br>Ehrlichia<br>/Anaplasma | Positive    | 18                                               | 0        | 18    |
|                                     | Negative    | 0                                                | 17       | 17    |
|                                     | Total       | 18                                               | 17       | 35    |
|                                     | Sensitivity | 100% (18/18)                                     |          |       |
|                                     | Specificity | 100% (17/17)                                     |          |       |

**Tabelle 2.** Sensitivität und Spezifität von Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma im Vergleich zur Referenzmethode für *Anaplasma* spp.

| <i>Anaplasma</i> spp.               |             | Reference method<br>(Real-time PCR & sequencing) |          |       |
|-------------------------------------|-------------|--------------------------------------------------|----------|-------|
|                                     |             | Positive                                         | Negative | Total |
| Vcheck M<br>Ehrlichia<br>/Anaplasma | Positive    | 3                                                | 0        | 3     |
|                                     | Negative    | 0                                                | 32       | 32    |
|                                     | Total       | 3                                                | 32       | 35    |
|                                     | Sensitivity | 100% (3/3)                                       |          |       |
|                                     | Specificity | 100% (32/32)                                     |          |       |

**Tabelle 3.** Sequenzierungsergebnisse von abweichenden Proben zwischen Vcheck M und bestehender laborbasierter Echtzeit-PCR

| Sample No. | <i>Ehrlichia</i> spp. |                      |               |                       |
|------------|-----------------------|----------------------|---------------|-----------------------|
|            | Antibody Rapid        | Vcheck M             | Real-time PCR | Sequencing            |
| 22         | <i>Ehrlichia</i> (+)  | <i>Ehrlichia</i> (+) | (-)           | <i>E. ewingii</i> (+) |
| 24         | <i>Ehrlichia</i> (+)  | <i>Ehrlichia</i> (+) | (-)           | <i>E. ewingii</i> (+) |
| 27         | <i>Ehrlichia</i> (+)  | (-)                  | (-)           | (-)                   |
| 29         | <i>Ehrlichia</i> (+)  | <i>Ehrlichia</i> (+) | (-)           | <i>E. canis</i> (+)   |

| Sample No. | <i>Anaplasma</i> spp. |                      |               |                      |
|------------|-----------------------|----------------------|---------------|----------------------|
|            | Antibody Rapid        | Vcheck M             | Real-time PCR | Sequencing           |
| 22         | (-)                   | (-)                  | (-)           | (-)                  |
| 24         | (-)                   | <i>Anaplasma</i> (+) | (-)           | <i>A. Platys</i> (+) |
| 27         | (-)                   | <i>Anaplasma</i> (+) | (-)           | <i>A. Platys</i> (+) |
| 29         | (-)                   | (-)                  | (-)           | (-)                  |

# Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma

Vergleichende Bewertung von Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma mit der verschachtelten PCR zum Nachweis von *Ehrlichia*- und *Anaplasma*-DNA an der Universität Lublin in Polen

Evaluated by Lublin University of Poland

## EINLEITUNG

*Ehrlichia* spp. und *Anaplasma* spp. sind Rickettsien, die von Zecken auf Hunde und Katzen übertragen werden und weltweit Ehrlichiose und Anaplasmose verursachen. In Ostpolen lag die Seroprävalenz für *A. phagocytophilum* bei 8,0 % und für *E. canis* bei 1,5 % [1]. Diese Krankheiten können sich durch eine Vielzahl von Symptomen äußern, von gar keinen bis hin zu Fieber, allgemeinen Schmerzen und potenziell tödlichen Folgen, was die Diagnose erschwert. Zur endgültigen Diagnose gehören zytologische Untersuchungen sowie Methoden zum Nachweis von Antikörpern oder Nukleinsäuren. Früher mussten PCR-Proben an externe Labore geschickt werden, aber mit dem Vcheck M können PCR-Tests jetzt direkt in Tierkliniken durchgeführt werden.

## ZWECK

Das Ziel dieser Studie ist es, die diagnostische Sensitivität und Spezifität der neu entwickelten Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma-Kassette (POCT-PCR-Kit) im Vergleich zur laborbasierten verschachtelten PCR zu bewerten.

## MATERIALIEN UND METHODEN

Insgesamt wurden 25 Vollblutproben von Hunden an der Fakultät für Veterinärmedizin der Universität für Lebenswissenschaften in Lublin, Polen, untersucht. 16 der Hunde waren klinisch gesund, während die übrigen neun klinische Symptome wie Apathie, Lahmheit und Nasenbluten aufwiesen.

Die Tests wurden mit der Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma-Kassette und dem Vcheck M10-Analysegerät durchgeführt. Zu Vergleichszwecken wurden auch laborbasierte verschachtelte PCR-Tests durchgeführt.

## ERGEBNISSE

Die Studie zeigte eine Übereinstimmung zwischen Vcheck M und der nested PCR bei 25 Vollblutproben von Hunden. Alle Proben wurden negativ auf *Ehrlichia* spp. getestet. Von den Proben wurden 9 positiv und 16 negativ auf *Anaplasma* spp. getestet, wobei die 9 positiven Proben insbesondere mit klinischen Symptomen in Verbindung gebracht wurden.

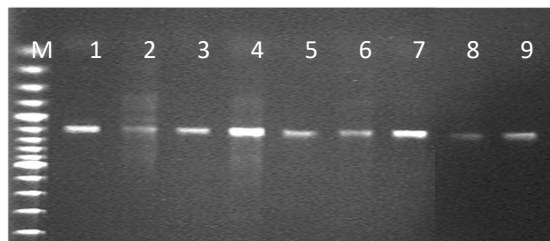
Daher zeigte der Vcheck M im Vergleich zur laborbasierten verschachtelten PCR eine 100-prozentige Spezifität für *Ehrlichia* spp. und sowohl eine Sensitivität als auch eine Spezifität von 100 % für *Anaplasma* spp. Detaillierte Vergleiche zwischen dem Vcheck M und der verschachtelten PCR sind in Tabelle 1 aufgeführt.

**Tabelle 1.** Sensitivität und Spezifität von Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma im Vergleich zu nested PCR für *Ehrlichia* spp. und *Anaplasma* spp.

| <i>Ehrlichia</i> spp. |       | Lab-based nested PCR |     |       |
|-----------------------|-------|----------------------|-----|-------|
|                       |       | Pos                  | Neg | Total |
| Vcheck M              | Pos   | 0                    | 0   | 0     |
|                       | Neg   | 0                    | 25  | 25    |
|                       | Total | 0                    | 25  | 25    |
| Sensitivity           |       | -                    |     |       |
| Specificity           |       | 100% (25/25)         |     |       |

| <i>Anaplasma</i> spp. |       | Lab-based nested PCR |     |       |
|-----------------------|-------|----------------------|-----|-------|
|                       |       | Pos                  | Neg | Total |
| Vcheck M              | Pos   | 9                    | 0   | 9     |
|                       | Neg   | 0                    | 16  | 16    |
|                       | Total | 9                    | 16  | 25    |
| Sensitivity           |       | 100% (9/9)           |     |       |
| Specificity           |       | 100% (16/16)         |     |       |



**Abbildung 1.** Bild eines Agarosegels, das die Ergebnisse der im Labor durchgeführten verschachtelten PCR für *Anaplasma* spp.-positive Proben zeigt

## SCHLUSSFOLGERUNG

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass der Vcheck M ein wertvolles Diagnosewerkzeug für Tierkliniken ist, das sowohl praktisch als auch präzise bei der Erkennung von Krankheitserregern ist. Das Fehlen positiver *Ehrlichia* spp.-Proben ist zwar eine Einschränkung, könnte aber auf die geringe Prävalenz der Krankheit in Polen zurückzuführen sein. Die Fähigkeit des Vcheck M, zuverlässige Ergebnisse in der Klinik zu liefern, kann Tierärzten dabei helfen, zeitnahe und fundierte Behandlungsentscheidungen für betroffene Tiere zu treffen.

## QUELLE

1. Dzięgiel B, Adaszek Ł, Carbonero A, Łyp P, Winiarczyk M, Dębiak P, Winiarczyk S. Detection of canine vector-borne diseases in eastern Poland by ELISA and PCR. *Parasitol Res.* 2016 Mar;115(3):1039-44.

# Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma

## Vergleichende Bewertung von Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma mit der Echtzeit-PCR zum Nachweis von Ehrlichia-DNA in einem Labor in Brasilien

Evaluated by 'V' laboratory in Brazil

### EINLEITUNG

Ehrlichiose ist eine durch Vektoren übertragene rickettsiale Zoonose, die sich durch eine Vielzahl von Symptomen äußern kann, von gar keinen Symptomen bis hin zu Fieber, allgemeinem Unwohlsein und sogar potenziell tödlich. Drei Arten von Ehrlichia –Ehrlichia canis, E. ewingii und E. chaffeensis – sind häufig an der Infektion von Hunden beteiligt. Für eine definitive Diagnose ist in der Regel die Visualisierung von Morulae in der Zytologie, der Nachweis von Antikörpern mittels eines indirekten Immunfluoreszenztests (IFAT) und die DNA-Amplifikation durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR) erforderlich. Früher mussten PCR-Testproben an externe Labore geschickt werden, aber mit dem Vcheck M können PCR-Tests jetzt direkt in Tierkliniken durchgeführt werden.

### ZWECK

Ziel dieser Studie ist es, die diagnostische Sensitivität und Spezifität der neu entwickelten Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma-Kassette (POCT-PCR-Kit) im Vergleich zur laborbasierten Echtzeit-PCR für Ehrlichia spp. zu bewerten.

### MATERIALIEN UND METHODEN

Insgesamt wurden 17 Vollblutproben von Hunden im „V“-Labor in Brasilien untersucht. Die Tests wurden mit der Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma-Kassette und dem Vcheck M10-Analysegerät durchgeführt. Zur Vergleichsanalyse wurden auch laborbasierte Echtzeit-PCR-Tests durchgeführt.

### ERGEBNISSE

Die Studie zeigte eine Übereinstimmung zwischen Vcheck M und Echtzeit-PCR bei 17 Vollblutproben von Hunden. Von den Proben wurden 8 positiv und 9 negativ auf Ehrlichia spp. getestet. Daher zeigte Vcheck M im Vergleich zur laborbasierten Echtzeit-PCR eine 100-prozentige Spezifität und 100-prozentige Sensitivität für Ehrlichia spp. Detaillierte Vergleiche zwischen Vcheck M und Echtzeit-PCR sind in Tabelle 1 aufgeführt.

**Tabelle 1.** Sensitivität und Spezifität von Vcheck M Ehrlichia/Anaplasma im Vergleich zu nested PCR für Ehrlichia spp.

| Ehrlichia spp. |       | Lab-based nested PCR |     |       |
|----------------|-------|----------------------|-----|-------|
|                |       | Pos                  | Neg | Total |
| Vcheck M       | Pos   | 8                    | 0   | 8     |
|                | Neg   | 0                    | 9   | 9     |
|                | Total | 8                    | 9   | 17    |
| Sensitivity    |       | 100% (8/8)           |     |       |
| Specificity    |       | 100% (9/9)           |     |       |

### SCHLUSSFOLGERUNG

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass der Vcheck M ein wertvolles Diagnosewerkzeug für Tierkliniken ist, das sowohl praktisch als auch präzise bei der Erkennung von Krankheitserregern ist.

Die Fähigkeit des Vcheck M, zuverlässige Ergebnisse in der Klinik zu liefern, kann Tierärzten dabei helfen, zeitnahe und fundierte Behandlungsentscheidungen für betroffene Tiere zu treffen.

# Vcheck M Canine Vector 8

## Vergleichende Bewertung von Vcheck M Canine Vector 8 mit Echtzeit-PCR zum Nachweis von acht durch Vektoren übertragenen Hundekrankheiten

BIONOTE study

### EINLEITUNG

Blutsaugende Ektoparasiten wie Zecken, Flöhe, Sandfliegen und Mücken sind die häufigsten Vektoren, die Krankheitserreger unter Hunden verbreiten. Diese Krankheitserreger verursachen bei Hunden verschiedene Krankheiten, die manchmal tödlich verlaufen. Zu den Merkmalen von durch Vektoren übertragenen Krankheitserregern gehören: Die Ausbreitung ist schwer zu kontrollieren und vorherzusagen, sie zeigen nur geringe klinische Symptome und haben eine lange Ruhephase.

Der Tierarzt verwendet in der Regel serologische Tests und PCR-Tests, um eine durch Vektoren übertragene Krankheit bei Hunden zu diagnostizieren. Früher mussten PCR-Testproben an ein externes Labor geschickt werden, aber mit dem Vcheck M ist ein PCR-Test in der Tierklinik möglich.

### ZWECK

Das Ziel dieser Studie ist die Bewertung der diagnostischen Sensitivität und Spezifität des neu entwickelten Vcheck M Canine Vector 8 Panel und Vcheck M Canine Anemia 8 Panel (POCT PCR-Kit) im Vergleich zur laborbasierten Echtzeit-PCR.

### MATERIALIEN UND METHODEN

Insgesamt wurden 74 Vollblutproben von Hunden ausgewertet, die in Laboren in Korea und Paraguay sowie in einer Tierklinik in Malaysia mit einem Antikörper-Schnelltest oder einer

Die Tests wurden von SD Biosensor Inc., MDx R&D Department, unter Verwendung der Vcheck M Canine Vector 8-Kassette oder der Vcheck M Canine Anemia 8-Kassette mit dem Vcheck M10-Analysegerät durchgeführt. Für die Vergleichsanalyse wurde ein Reagenz eines Drittanbieters mit Echtzeit-PCR verwendet.

### ERGEBNISSE

Der Vcheck M zeigte bei allen 74 getesteten Vollblutproben von Hunden Übereinstimmung mit den laborgestützten Echtzeit-PCR-Ergebnissen. Basierend auf diesen Ergebnissen zeigte der Vcheck M im Vergleich zur laborgestützten Echtzeit-PCR eine Sensitivität und Spezifität von 100 % für *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp. und *Babesia* spp.

Detaillierte Vergleiche des Vcheck M mit der Referenzmethode sind in den Tabellen 1 und 2 beschrieben.

### SCHLUSSFOLGERUNG

In dieser Studie wurden 15 Diskrepanzen zwischen dem Antikörper-Schnelltest und dem Vcheck M beobachtet. Es wird angenommen, dass sich die Hunde entweder in der frühen Phase der Infektion befanden oder mit von Hunden übertragenen Krankheiten infiziert waren und sich anschließend erholt hatten.

Darüber hinaus zeigte die konventionelle PCR, die vor dem Test in einem Labor in Paraguay durchgeführt wurde, 29 Diskrepanzen im Vergleich zu den in dieser Studie erzielten Vcheck M-Ergebnissen. Als diese abweichenden Proben jedoch in dieser Studie erneut mit Echtzeit-PCR getestet wurden, stimmten die Ergebnisse mit den Vcheck M-Ergebnissen überein. Daher scheint der Vcheck M zuverlässiger zu sein als die konventionelle PCR vor dem Test. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass der Vcheck M ein wertvolles Diagnosewerkzeug für Tierkliniken ist, das sowohl praktisch als auch präzise bei der Erkennung von Krankheitserregern ist. Die Fähigkeit des Vcheck M, zuverlässige Ergebnisse in der Klinik zu liefern, kann Tierärzten dabei helfen, zeitnahe und fundierte Behandlungsentscheidungen für betroffene Tiere zu treffen.

| Sample Information         |                  |             | Evaluation                            |                                |                                 |
|----------------------------|------------------|-------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Site                       | Pre-test on site | Sample size | Site                                  | Vcheck M10 analyzer            | Confirmatory Test               |
| Laboratory (Korea)         | Real-time PCR    | 3           | SD Biosensor Inc., MDx R&D Department | Vcheck M Canine Vector 8 panel | N/A                             |
| Animal hospital (Malaysia) | Antibody Rapid   | 31          |                                       | or                             | "P" kit (UK) with real-time PCR |
| Laboratory (Paraguay)      | Conventional PCR | 40          |                                       | Vcheck M Canine Anemia 8 Panel |                                 |

**Tabelle 1.** Sensitivität und Spezifität von Vcheck M Canine Vector 8 im Vergleich zu laborgestützter Echtzeit-PCR für jeden Erreger

| <i>Ehrlichia</i> spp. |       | Real-time PCR |     |       |
|-----------------------|-------|---------------|-----|-------|
|                       |       | Pos           | Neg | Total |
| Vcheck M              | Pos   | 16            | 0   | 16    |
|                       | Neg   | 0             | 21  | 21    |
|                       | Total | 16            | 21  | 37    |
| Sensitivity           |       | 100% (16/16)  |     |       |
| Specificity           |       | 100% (21/21)  |     |       |

| <i>Hepatozoon</i> spp. |       | Real-time PCR |     |       |
|------------------------|-------|---------------|-----|-------|
|                        |       | Pos           | Neg | Total |
| Vcheck M               | Pos   | 3             | 0   | 3     |
|                        | Neg   | 0             | 0   | 0     |
|                        | Total | 3             | 0   | 3     |
| Sensitivity            |       | 100% (3/3)    |     |       |
| Specificity            |       | -             |     |       |

| <i>Mycoplasma haemocanis</i> |       | Real-time PCR |     |       |
|------------------------------|-------|---------------|-----|-------|
|                              |       | Pos           | Neg | Total |
| Vcheck M                     | Pos   | 3             | 0   | 3     |
|                              | Neg   | 0             | 0   | 0     |
|                              | Total | 3             | 0   | 3     |
| Sensitivity                  |       | 100% (3/3)    |     |       |
| Specificity                  |       | -             |     |       |

| <i>Anaplasma</i> spp. |       | Real-time PCR |     |       |
|-----------------------|-------|---------------|-----|-------|
|                       |       | Pos           | Neg | Total |
| Vcheck M              | Pos   | 6             | 0   | 6     |
|                       | Neg   | 0             | 15  | 15    |
|                       | Total | 6             | 15  | 21    |
| Sensitivity           |       | 100% (6/6)    |     |       |
| Specificity           |       | 100% (15/15)  |     |       |

| <i>Babesia</i> spp. |       | Real-time PCR |     |       |
|---------------------|-------|---------------|-----|-------|
|                     |       | Pos           | Neg | Total |
| Vcheck M            | Pos   | 5             | 0   | 5     |
|                     | Neg   | 0             | 3   | 3     |
|                     | Total | 5             | 3   | 8     |
| Sensitivity         |       | 100% (5/5)    |     |       |
| Specificity         |       | 100% (3/3)    |     |       |

| <i>Leishmania</i> spp. |       | Real-time PCR |     |       |
|------------------------|-------|---------------|-----|-------|
|                        |       | Pos           | Neg | Total |
| Vcheck M               | Pos   | 0             | 0   | 0     |
|                        | Neg   | 0             | 10  | 10    |
|                        | Total | 0             | 10  | 10    |
| Sensitivity            |       | -             |     |       |
| Specificity            |       | 100% (10/10)  |     |       |

**Tabelle 2.** Gesamt-Sensitivität und -Spezifität von Vcheck M Canine Vector 8 Panel im Vergleich zu laborbasierter Echtzeit-PCR

| Vcheck M    | <i>Ehrlichia</i> spp. | <i>Hepatozoon</i> spp. | <i>Mycoplasma haemocanis</i> | <i>Anaplasma</i> spp. | <i>Rickettsia</i> spp. | <i>Babesia</i> spp. | <i>Leishmania</i> spp. | <i>Bartonella</i> spp. |
|-------------|-----------------------|------------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------|---------------------|------------------------|------------------------|
| Sensitivity | 100% (16/16)          | 100% (3/3)             | 100% (3/3)                   | 100% (6/6)            | -                      | 100% (5/5)          | -                      | -                      |
| Specificity | 100% (21/21)          | -                      | -                            | 100% (15/15)          | -                      | 100% (3/3)          | 100% (10/10)           | -                      |





## Zwischen 2021 und 2023 nach Polen eingeschleppte vektorübertragene Krankheiten

Summary of *J Vet Res* 68, 2024 (DOI:10.2478/jvetres-2024-0033)

### EINLEITUNG

Vektorübertragene Krankheiten stellen sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin ein erhebliches und wachsendes Problem dar. Das Auftreten dieser Krankheiten wird durch Faktoren wie Klimawandel, Entwaldung, Landnutzungsänderungen, Urbanisierung, Bevölkerungswachstum, Migration, Lebensraumfragmentierung, Tierwanderungen und Verlust der biologischen Vielfalt begünstigt. In Polen sind vektorübertragene Krankheiten wie Babesiose (verursacht durch *Babesia canis*), granulozytäre Anaplasmoose und Lyme-Borreliose bei Hunden relativ häufig. In den letzten Jahren gab es auch vereinzelte Fälle von Infektionen mit *Babesia gibsoni*, *Hepatozoon canis*, *Leishmania infantum* und *Dirofilaria immitis*. Der Anstieg dieser Infektionen könnte auf die zunehmende Reiseaktivität mit Hunden in Länder, in denen diese Krankheiten weit verbreitet sind, und auf den Zustrom ukrainischer Kriegsflüchtlinge und ihrer Tiere aus endemischen Gebieten zurückzuführen sein.

### ZIELSETZUNG

Ziel der Studie war es, das Auftreten ausgewählter vektorübertragener Krankheiten bei anämischen Hunden zu überwachen, die aus Gebieten, in denen diese Krankheiten endemisch sind, nach Polen kommen oder dorthin zurückkehren.

### MATERIALIEN UND METHODEN

An der von 2021 bis 2023 durchgeführten Studie nahmen 497 anämische Hunde teil. 184 von ihnen wurden von Besitzern, die vor dem Krieg in der Ukraine flohen, nach Polen gebracht, während die restlichen 313 Hunde aus dem Urlaub in Ländern wie Kroatien, der Türkei, Italien, Bulgarien, Albanien und Rumänien zurückkehrten. Darüber hinaus wurden Informationen über jegliche Prophylaxe gegen Ektoparasiten gesammelt, die für die Tiere in Anspruch genommen worden war (Tabelle 1).

Die Hunde zeigten verschiedene klinische Symptome, darunter Apathie, Fieber und blasse Schleimhäute. Hämatologische Untersuchungen bestätigten bei allen Hunden eine Anämie und bei 413 von ihnen eine Thrombozytopenie.

Alle Blutproben wurden mit einem BIONOTE Vcheck M10-Analysegerät untersucht, das die DNA von *Leishmania* spp., *Babesia* spp., *Mycoplasma haemocanis*, *Hepatozoon* spp., *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Rickettsia rickettsii* und *Bartonella* spp. mittels Echtzeit-PCR (Canine Vector 8 Panel) amplifiziert und nachweist.

Zum Vergleich wurden alle positiven DNA-Proben auch mit Standard-Echtzeit-PCR amplifiziert.

**Tabelle 1.** Nicht einheimische und streunende Hunde, die auf durch Vektoren übertragene Krankheiten untersucht wurden, nach Herkunfts- oder Zielland.

| Country  | Number of examined dogs | Number of dogs protected against ectoparasites | Number of infected dogs | Number of infected dogs protected against ectoparasites |
|----------|-------------------------|------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------|
| Ukraine  | 184                     | 36                                             | 39                      | 4                                                       |
| Croatia  | 96                      | 72                                             | 7                       | 2                                                       |
| Turkey   | 79                      | 65                                             | 16                      | 3                                                       |
| Italy    | 48                      | 42                                             | 6                       | 1                                                       |
| Bulgaria | 42                      | 30                                             | 4                       | 1                                                       |
| Albania  | 36                      | 31                                             | 4                       | 0                                                       |
| Romania  | 12                      | 8                                              | 3                       | 0                                                       |
| Total    | 497                     | 284                                            | 79                      | 11                                                      |

### ERGEBNISSE

Molekulartests ergaben, dass 79 Hunde mit durch Vektoren übertragenen Krankheitserregern infiziert waren. **Alle positiven Ergebnisse, die mit dem Analysegerät BIONOTE Vcheck M10 erzielt wurden, wurden in einem Standard-Echtzeit-PCR-Test bestätigt und es wurden keine falsch-positiven Ergebnisse gefunden.**

Die am häufigsten diagnostizierte Infektion wurde durch *Babesia canis* verursacht (27 Hunde), gefolgt von Infektionen mit *Anaplasma phagocytophilum* (20 Hunde), *Mycoplasma haemocanis* (15 Hunde), *Bartonella henselae* (7 Hunde), *Ehrlichia canis* (4 Hunde), *Hepatozoon canis* (3 Hunde), *Babesia gibsoni* (2 Hunde) und *Leishmania infantum* (1 Hund).

Die meisten kranken Hunde (n = 39) kamen aus der Ukraine. Bei Hunden, die mit ihren Besitzern außerhalb Polens Urlaub machten, wurden vektorübertragene Krankheiten am häufigsten nach ihrer Rückkehr aus der Türkei (n = 16) festgestellt, und in absteigender Reihenfolge aus Kroatien (n = 7), Italien (n = 6), Albanien (n = 4), Bulgarien (n = 4) und Rumänien (n = 3) (Tabelle 2).

Die Wirksamkeit der Ektoparasitenprävention wurde mithilfe des F-Tests überprüft. Für alle Länder außer der Ukraine wurde die Nullhypothese (H0) abgelehnt (Konfidenzintervalle  $\neq 1$ ), was auf statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen hinweist (Tabelle 3).

# DISKUSSION

Die Studie unterstreicht, dass die zunehmende Häufigkeit von Urlaubsreisen mit Hunden in Länder, in denen vektorübertragene Krankheiten endemisch sind, in Verbindung mit dem Zustrom von Einwanderern und ihren Hunden aus der Ukraine nach Polen das Risiko eines breiteren Spektrums von Krankheiten erhöht, von denen einige in Polen als exotisch gelten. Infektionen wie *Babesia canis* oder *Anaplasma phagocytophilum* sind bei einheimischen Hunden in Polen weit verbreitet und stellen für Tierärzte im Allgemeinen keine nennenswerten diagnostischen oder therapeutischen Herausforderungen dar. Krankheiten wie Ehrlichiose, Hepatozoonose, Leishmaniose, hämotrope Mykoplasmaose, Bartonellose und Babesiose, die durch *Babesia gibsoni* verursacht werden, können jedoch zu komplexeren diagnostischen und therapeutischen Problemen im Land führen. Darüber hinaus kann es aufgrund sich mit anderen Erkrankungen überschneidender Symptome schwierig sein, festzustellen, ob klinische Symptome auf durch Vektoren übertragene Krankheiten zurückzuführen sind. Daher sind für eine definitive Diagnose von durch Vektoren übertragenen Krankheiten empfindlichere Diagnosemethoden erforderlich.

Ein wesentlicher Faktor, der zur Verbreitung von durch Vektoren übertragenen Krankheiten beiträgt, ist die unzureichende Anwendung von Schutzmaßnahmen gegen Ektoparasiten. Nur 13,9 % der infizierten Hunde waren gegen Ektoparasiten behandelt worden, während die Mehrheit nicht geschützt war. Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung von Präventivmaßnahmen. Tierärzte müssen unbedingt konsequent über diese Maßnahmen aufklären und deren Notwendigkeit das ganze Jahr über betonen, insbesondere wenn Haustiere international reisen. Durch solche proaktiven Schritte kann das Risiko von durch Vektoren übertragenen Krankheiten bei Hunden erheblich gesenkt werden.

# SCHLUSSFOLGERUNG

Die allgemeine Migrationskrise und der zunehmende Trend, dass Besitzer mit ihren Hunden in Regionen reisen, in denen Infektions- und Parasitenkrankheiten endemisch sind, sind bedeutende Risikofaktoren für das Auftreten dieser Krankheiten in Polen. Daher sind die Umsetzung von Präventivmaßnahmen gegen Ektoparasiten und die kontinuierliche Überwachung von durch Vektoren übertragenen Krankheiten, insbesondere bei Hunden, die aus dem Urlaub im Ausland zurückkehren, von entscheidender Bedeutung für die Früherkennung und den rechtzeitigen Beginn einer geeigneten Therapie.

Babesia gibsoni/canis | Ehrlichia/Anaplasma | Canine Vector 8 | Canine Diarrhea 8 | Feline Diarrhea 8 | FIV/FelV | Canine Anemia 8

**Tabelle 2.** Ergebnisse der Isolierung und Vermehrung von Erregern vektorübertragener Krankheiten aus Proben nicht einheimischer und reisender Hunde nach Herkunfts- bzw. Zielland.

| Country  | Number of dogs infected with the particular pathogen |                        |                                  |                        |                         |                            |                              |                            | Total |
|----------|------------------------------------------------------|------------------------|----------------------------------|------------------------|-------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|-------|
|          | <i>Babesia canis</i>                                 | <i>Babesia gibsoni</i> | <i>Anaplasma phagocytophilum</i> | <i>Ehrlichia canis</i> | <i>Hepatozoon canis</i> | <i>Leishmania infantum</i> | <i>Mycoplasma haemocanis</i> | <i>Bartonella henselae</i> |       |
| Ukraine  | 15                                                   | 0                      | 12                               | 1                      | 0                       | 0                          | 8                            | 3                          | 39    |
| Croatia  | 6                                                    | 0                      | 0                                | 1                      | 0                       | 0                          | 0                            | 0                          | 7     |
| Turkey   | 0                                                    | 0                      | 4                                | 0                      | 3                       | 1                          | 4                            | 4                          | 16    |
| Italy    | 1                                                    | 0                      | 2                                | 2                      | 0                       | 0                          | 1                            | 0                          | 6     |
| Bulgaria | 2                                                    | 0                      | 2                                | 0                      | 0                       | 0                          | 0                            | 0                          | 4     |
| Albania  | 1                                                    | 1                      | 0                                | 0                      | 0                       | 0                          | 2                            | 0                          | 4     |
| Romania  | 2                                                    | 1                      | 0                                | 0                      | 0                       | 0                          | 0                            | 0                          | 3     |
| Total    | 27                                                   | 2                      | 20                               | 4                      | 3                       | 1                          | 15                           | 7                          | 79    |

**Tabelle 3.** Die Wirksamkeit der Ektoparasitenprävention und die Wahrscheinlichkeit einer Infektion bei der Gruppe geschützter nicht einheimischer und streunender Hunde.

| Country                    | Number of protected and infected dogs | Number of non-protected and infected dogs | Number of protected and non-infected dogs | Number of non-protected and non-infected dogs | P-value                 | 95 % confidence interval                        | Odds ratio |
|----------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------|------------|
| Ukraine                    | 4                                     | 35                                        | 32                                        | 113                                           | 0.115                   | 0.097–1.260                                     | 0.405      |
| Croatia                    | 2                                     | 5                                         | 70                                        | 19                                            | 0.009                   | 0.009–0.747                                     | 0.111      |
| Turkey                     | 3                                     | 13                                        | 62                                        | 1                                             | $2.845 \times 10^{-11}$ | $9.562 \times 10^{-5}$ – $4.478 \times 10^{-2}$ | 0.005      |
| Italy                      | 1                                     | 5                                         | 41                                        | 1                                             | $2.062 \times 10^{-5}$  | $1.123 \times 10^{-4}$ – $1.262 \times 10^{-1}$ | 0.007      |
| Bulgaria, Romania, Albania | 1                                     | 10                                        | 61                                        | 18                                            | $2.007 \times 10^{-5}$  | $6.752 \times 10^{-4}$ – $2.415 \times 10^{-1}$ | 0.031      |
| Total                      | 11                                    | 68                                        | 266                                       | 152                                           | $2.200 \times 10^{-16}$ | 0.042–0.184                                     | 0.092      |



## Prävalenz der Infektion mit *Hepatozoon canis* bei Hunden in der Woiwodschaft Lublin

Summary of *Polish Journal of Veterinary Sciences* Vol. 27, No. 2 (2024) (DOI: 10.24425/pjvs.2024.149360)

### EINLEITUNG

Die Hundeparasitose Hepatozoonose ist eine durch Zecken übertragene Protozoenerkrankung, die durch zwei Arten verursacht wird: *Hepatozoon americanum* und *H. canis*. *H. canis*-Infektionen sind weit verbreitet. Im Gegensatz dazu treten *H. americanum*-Infektionen ausschließlich in Nordamerika auf.

Die Übertragung von *Hepatozoon* erfolgt, wenn Hunde die Oozysten des Parasiten vom Endwirt *Rhipicephalus sanguineus* aufnehmen. Die Infektion mit *H. canis* kann auch durch die Jagd auf infizierte Wirbeltiere erfolgen, neben der vertikalen Übertragung.

Kürzlich wurden erstmals klinische Fälle von *H. canis*-Infektionen bei Hunden in Polen gemeldet. Die Infektionsquelle konnte jedoch nicht identifiziert werden. Dies wirft die Frage auf, ob es sich bei diesen Infektionen um Einzelfälle handelte oder ob *H. canis*-Infektionen bei polnischen Hunden häufiger auftreten, aber nicht ausreichend diagnostiziert werden. Um dies zu klären, ist eine molekulare Überwachung auf *H. canis*-Infektionen unerlässlich.

### ZIELSETZUNG

Das Ziel der besprochenen Studie bestand darin, genetisches Material von *Hepatozoon* in Blutproben von Hunden nachzuweisen, bei denen der Verdacht auf durch Zecken übertragene Krankheiten bestand, um Aufschluss über die Prävalenz und die klinischen Auswirkungen dieser Infektionen zu erhalten.

### MATERIALIEN UND METHODEN

Blutproben wurden von 107 Hunden entnommen, bei denen Anämie diagnostiziert wurde. 99 Proben stammten von Hunden, die nie das polnische Staatsgebiet verlassen hatten (Gruppe 1), während 8 Proben von Hunden stammten, die mit ihren Besitzern in den Urlaub in die Türkei gereist waren (Gruppe 2).

Mit dem Bionote Vcheck M10-Analysegerät wurden die Proben einer Echtzeit-PCR unterzogen, um DNA von verschiedenen Krankheitserregern, darunter *Leishmania* spp., *Babesia* spp., *Mycoplasma haemocanis*, *Hepatozoon* spp., *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Rickettsia rickettsii* und *Bartonella* spp., nachzuweisen. Proben, die positiv auf *Hepatozoon* getestet wurden, wurden einer weiteren Amplifikation und Sequenzierung mittels konventioneller PCR unterzogen.

### ERGEBNISSE

Mithilfe der PCR konnten wir *Babesia* in 26 Proben, *Anaplasma phagocytophilum* in 6 Proben und *H. canis* in 3 Proben nachweisen. *H. canis* wurde bei einem Hund aus Gruppe 1, der von *Ixodes ricinus* Zecken befallen war, und bei zwei Hunden aus Gruppe 2, die von *R. sanguineus* Zecken befallen waren, nachgewiesen. Diese Hunde zeigten Symptome wie starke Apathie, Anorexie und Muskelschwäche.

Das Vcheck M-Analysegerät lieferte für diese *H. canis*-positiven Proben Ct-Werte zwischen 25 und 28. Anschließend bestätigten konventionelle PCR und Sequenzierung das Vorhandensein von *H. canis* bei allen drei Hunden (Abbildung 1).

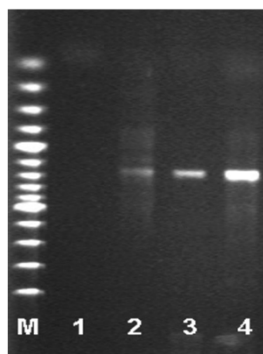


Abbildung 1. PCR-Amplifikation einer Teilsequenz von *H. canis*

(M) molecular weight marker = 100 bp;  
(1) negative control; (2-4) positive samples obtained in own study.

### SCHLUSSFOLGERUNG

In Polen wurde *H. canis* nur sporadisch diagnostiziert, und sein Hauptwirt, die *R. sanguineus*-Zecken, kommen nur gelegentlich im Land vor. Diese Ergebnisse unterstreichen jedoch, wie wichtig es ist, *H. canis* in die Differentialdiagnose von durch Vektoren übertragenen Krankheiten einzubeziehen, insbesondere bei Hunden mit Anämie in Polen. Darüber hinaus unterstreicht die Studie die Notwendigkeit weiterer Forschung zur Rolle verschiedener Zeckenarten bei der Übertragung von Hepatozoonose. Diese Forschung ist besonders wichtig angesichts der zunehmenden Reisen mit Haustieren und des Klimawandels, die möglicherweise die geografische Verbreitung der Krankheit ausweiten könnten.

# Vcheck M Canine Diarrhea 8

Vergleichende Bewertung von Vcheck M Canine Diarrhea 8 mit Echtzeit-PCR und konventioneller PCR zum Nachweis von 8 Durchfallerkrankungen verursachenden Erregern bei Hunden

## EINLEITUNG

Durchfall ist eine der häufigsten Ursachen für Tierarztbesuche. In einer Querschnittsstudie mit Hunden, die einen Tierarzt aufsuchten, litten 28,6 % entweder an Durchfall oder hatten innerhalb des Vormonats Durchfall gehabt [1]. Es gibt verschiedene Ursachen für Durchfall und die Erstuntersuchungen von Durchfall konzentrieren sich auf die Diagnose von ernährungsbedingten, parasitären und infektiösen Ursachen [2]. Infektiöser Durchfall, der durch Bakterien, Viren, Protozoen oder eine Kombination davon verursacht werden kann, erfordert eine spezifische Identifizierung des Erregers für eine genaue Diagnose. Dieser Schritt ist von entscheidender Bedeutung, da er die Prognose beeinflusst und die Behandlung und vorbeugende Maßnahmen steuert [3].

Molekulare Hilfsmittel haben die Identifizierung und Diagnose von Infektionskrankheiten revolutioniert und ergänzen traditionelle Methoden wie Stuhlabstrich- oder Kulturtechniken. Früher wurden Proben, die PCR-Tests erforderten, in der Regel an externe Labore geschickt, wo die Erreger manchmal einzeln identifiziert wurden. Dank Fortschritten wie dem Vcheck M Canine Diarrhea 8 können Tierkliniken nun umfassende Tests vor Ort durchführen. Dieses Analysegerät ermöglicht den gleichzeitigen Nachweis von bis zu 8 verschiedenen Erregern und verbessert so die diagnostische Effizienz in der Klinik erheblich.

## ZWECK

Das Ziel dieser Studie war es, die diagnostische Sensitivität und Spezifität des neu entwickelten Vcheck M Canine Diarrhea 8 Panel (POCT PCR-Kit) im Vergleich zu laborbasierten Echtzeit-PCR oder konventionellen PCR zu bewerten.

## MATERIALIEN UND METHODEN

Insgesamt wurden 106 Kotproben von Hunden untersucht (91 zufällig ausgewählte Proben und 15 von Hunden mit klinischen Durchfallsymptomen).

Die Tests wurden vom „A“-Labor und vom „B“-Labor unter Verwendung des Vcheck M-Systems durchgeführt. Bei der vergleichenden Analyse verwendete das „A“-Labor seine hauseigene Echtzeit-PCR-Methode, während das „B“-Labor handelsübliche konventionelle PCR-Kits oder eine hauseigene konventionelle PCR mit Primern verwendete, die in den Richtlinien der koreanischen Tier- und Pflanzenquarantäneagentur aufgeführt sind. Diskrepanzen in den Ergebnissen wurden durch Bestätigungstests unter Verwendung von Reagenzien und Sequenzierungsmethoden von Drittanbietern verifiziert.

Evaluated by 'A' and 'B' Laboratory in Korea

| Sample Information     |             | Equipment Used          |                  |                                                             |
|------------------------|-------------|-------------------------|------------------|-------------------------------------------------------------|
| Evaluation site        | Sample size | Vcheck M                | Reference method |                                                             |
|                        |             |                         | Comparative test | Confirmation test                                           |
| 'A' Laboratory (Korea) | 91          | Canine Diarrhea 8 panel | Real-time PCR    | Third-party reagents and sequencing (for discrepant result) |
| 'B' Laboratory (Korea) | 15          |                         | Conventional PCR |                                                             |

## ERGEBNISSE

Die Studie ergab eine Übereinstimmung bei 84 Kotproben von Hunden. Bei 22 Proben wurden jedoch Abweichungen zwischen Vcheck M und dem Vergleichstest beobachtet. Um diese Unstimmigkeiten zu validieren, wurden zusätzliche Bestätigungstests unter Verwendung von Reagenzien und Sequenzierungsmethoden von Drittanbietern durchgeführt. Diese Tests bestätigten die Genauigkeit der Vcheck M-Ergebnisse bei allen Proben mit einer Ausnahme. Detaillierte Vergleiche von Vcheck M mit der Referenzmethode sind in den Tabellen 1 und 2 beschrieben.

## SCHLUSSFOLGERUNG

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde bestätigt, dass der Vcheck M Canine Diarrhea 8 Panel nicht nur in der Handhabung, sondern auch in der klinischen Leistung hervorragend ist.

## QUELLEN

1. Stavisky J, Pinchbeck GL, German AJ, Dawson S, Gaskell RM, Ryvar R, Radford AD. Prevalence of canine enteric coronavirus in a cross-sectional survey of dogs presenting at veterinary practices. *Vet Microbiol.* 2010 Jan 6;140(1-2):18-24.
2. Sherding RG, Johnson SE. Diseases of the Intestines. *Saunders Manual of Small Animal Practice.* 2006:702–38.
3. Gizzi AB, Oliveira ST, Leutenegger CM, Estrada M, Kozemjak DA, Stedile R, Marcondes M, Biondo AW. Presence of infectious agents and co-infections in diarrheic dogs determined with a real-time polymerase chain reaction-based panel. *BMC Vet Res.* 2014 Jan 16;10:23.

**Tabelle 1.** Sensitivität und Spezifität von Vcheck M Canine Diarrhea 8-Panel im Vergleich zur Referenzmethode für jeden Erreger

| Canine parvovirus 2 |       | Reference method |     |       |
|---------------------|-------|------------------|-----|-------|
|                     |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M            | Pos   | 19               | 0   | 19    |
|                     | Neg   | 0                | 78  | 78    |
|                     | Total | 19               | 78  | 97    |
| Sensitivity         |       | 100% (19/19)     |     |       |
| Specificity         |       | 100% (78/78)     |     |       |

| Canine coronavirus |       | Reference method |     |       |
|--------------------|-------|------------------|-----|-------|
|                    |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M           | Pos   | 14               | 0   | 14    |
|                    | Neg   | 0                | 80  | 80    |
|                    | Total | 14               | 80  | 94    |
| Sensitivity        |       | 100% (14/14)     |     |       |
| Specificity        |       | 100% (80/80)     |     |       |

| Canine distempervirus |       | Reference method |     |       |
|-----------------------|-------|------------------|-----|-------|
|                       |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M              | Pos   | 0                | 0   | 0     |
|                       | Neg   | 0                | 91  | 91    |
|                       | Total | 0                | 91  | 91    |
| Sensitivity           |       | -                |     |       |
| Specificity           |       | 100% (91/91)     |     |       |

| Salmonella spp. |       | Reference method |     |       |
|-----------------|-------|------------------|-----|-------|
|                 |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M        | Pos   | 0                | 1   | 1     |
|                 | Neg   | 0                | 91  | 91    |
|                 | Total | 0                | 92  | 92    |
| Sensitivity     |       | -                |     |       |
| Specificity     |       | 98.9% (91/92)    |     |       |

| Campylobacter spp. |       | Reference method |     |       |
|--------------------|-------|------------------|-----|-------|
|                    |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M           | Pos   | 4                | 0   | 4     |
|                    | Neg   | 0                | 87  | 87    |
|                    | Total | 4                | 87  | 91    |
| Sensitivity        |       | 100% (4/4)       |     |       |
| Specificity        |       | 100% (87/87)     |     |       |

| Clostridium perfringens |       | Reference method |     |       |
|-------------------------|-------|------------------|-----|-------|
|                         |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M                | Pos   | 58               | 0   | 58    |
|                         | Neg   | 0                | 39  | 39    |
|                         | Total | 58               | 39  | 97    |
| Sensitivity             |       | 100% (58/58)     |     |       |
| Specificity             |       | 100% (39/39)     |     |       |

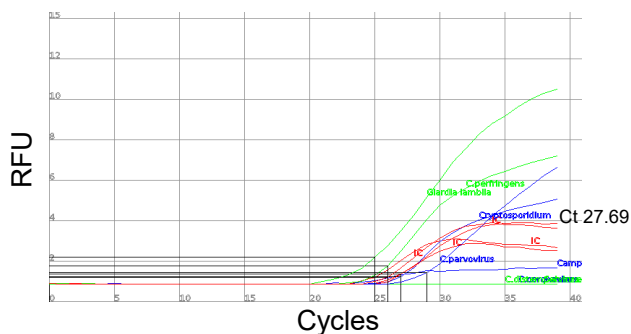
| Giardia lamblia |       | Reference method |     |       |
|-----------------|-------|------------------|-----|-------|
|                 |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M        | Pos   | 3                | 0   | 3     |
|                 | Neg   | 0                | 89  | 89    |
|                 | Total | 3                | 89  | 92    |
| Sensitivity     |       | 100% (3/3)       |     |       |
| Specificity     |       | 100% (89/89)     |     |       |

| Cryptosporidium spp. |       | Reference method |     |       |
|----------------------|-------|------------------|-----|-------|
|                      |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M             | Pos   | 1                | 0   | 1     |
|                      | Neg   | 0                | 91  | 91    |
|                      | Total | 1                | 91  | 92    |
| Sensitivity          |       | 100% (1/1)       |     |       |
| Specificity          |       | 100% (91/91)     |     |       |

**Tabelle 2.** Gesamt-Sensitivität und -Spezifität des Vcheck M Canine Diarrhea 8-Panels im Vergleich zur Referenzmethode

|             | Canine parvovirus 2 | Canine coronavirus | Canine distempervirus | Salmonella spp. | Campylobacter spp. | Clostridium perfringens | Giardia lamblia | Cryptosporidium spp. |
|-------------|---------------------|--------------------|-----------------------|-----------------|--------------------|-------------------------|-----------------|----------------------|
| Sensitivity | 100% (19/19)        | 100% (14/14)       | -                     | -               | 100% (4/4)         | 100% (58/58)            | 100% (3/3)      | 100% (1/1)           |
| Specificity | 100% (78/78)        | 100% (80/80)       | 100% (91/91)          | 98.9% (91/92)   | 100% (87/87)       | 100% (39/39)            | 100% (89/89)    | 100% (91/91)         |

**Abbildung 1.** Bild eines Agarosegels mit konventionellen PCR-Ergebnissen für eine positive Probe von *Cryptosporidium* spp.**Abbildung 2.** Amplifikationskurven, die mit Vcheck M für eine positive Probe von *Cryptosporidium* spp. erstellt wurden



# Vcheck M Feline Diarrhea 8

Vergleichende Bewertung von Vcheck M Feline Diarrhea 8 mit Echtzeit-PCR und konventioneller PCR zum Nachweis von 8 Durchfall verursachenden Erregern bei Katzen

Evaluated by 'A' and 'B' Laboratory in Korea

## EINLEITUNG

Durchfall ist eine der häufigsten Ursachen für Tierarztbesuche. Eine aktuelle Umfrage der Association of Shelter Veterinarians ergab, dass Durchfall bei Katzenbabys nach Infektionen der oberen Atemwege das zweithäufigste Problem darstellt, mit dem Tierärzte bei der Behandlung von Katzen in Tierheimen konfrontiert sind [1]. Es gibt verschiedene Ursachen für Durchfall, und bei der Erstuntersuchung von Durchfallerkrankungen liegt der Schwerpunkt auf der Diagnose von ernährungsbedingten, parasitären und infektiösen Ursachen [2]. Infektiöser Durchfall, der durch Bakterien, Viren, Protozoen oder eine Kombination davon verursacht werden kann, erfordert eine spezifische Erregeridentifizierung für eine genaue Diagnose. Dieser Schritt ist von entscheidender Bedeutung, da er die Prognose beeinflusst und die Behandlung und vorbeugende Maßnahmen steuert [3]. Molekulare Hilfsmittel haben die Identifizierung und Diagnose von Infektionskrankheiten revolutioniert und ergänzen traditionelle Methoden wie Stuhlabstrich- oder Kulturtechniken. Früher wurden Proben, die PCR-Tests erforderten, in der Regel an externe Labore geschickt, wo die Erreger manchmal einzeln identifiziert wurden. Dank Fortschritten wie dem Vcheck M Feline Diarrhea 8 können Tierkliniken nun umfassende Tests vor Ort durchführen. Dieses Analysegerät ermöglicht den gleichzeitigen Nachweis von bis zu 8 verschiedenen Erregern und verbessert so die diagnostische Effizienz in der Tierarztpraxis erheblich..

## ZWECK

Das Ziel dieser Studie bestand darin, die diagnostische Sensitivität und Spezifität des neu entwickelten Vcheck M Feline Diarrhea 8 Panel (POCT-PCR-Kit) im Vergleich zu laborbasierten Echtzeit-PCR- oder konventionellen PCR-Tests zu bewerten.

## MATERIALIEN UND METHODEN

Insgesamt wurden 91 Kotproben von Katzen untersucht (81 zufällig ausgewählte Proben und 10 Proben von Katzen mit klinischen Symptomen von Durchfall). Die Tests wurden von Labor A und Labor B unter Verwendung des Vcheck M-Systems durchgeführt. Bei der vergleichenden Analyse verwendete Labor A seine hauseigene Echtzeit-PCR-Methode, während Labor B eine hauseigene konventionelle PCR mit Primern verwendete, die in den Richtlinien der koreanischen Tier- und Pflanzenquarantäne-Behörde aufgeführt sind. Diskrepanzen in den Ergebnissen wurden durch Bestätigungstests mit Reagenzien von Drittanbietern und Sequenzierungsmethoden verifiziert.

| Sample Information     |             | Equipment Used          |                  |                                                             |
|------------------------|-------------|-------------------------|------------------|-------------------------------------------------------------|
| Evaluation site        | Sample size | Vcheck M                | Reference method |                                                             |
|                        |             |                         | Comparative test | Confirmation test                                           |
| 'A' Laboratory (Korea) | 81          | Feline Diarrhea 8 panel | Real-time PCR    | Third-party reagents and sequencing (for discrepant result) |
| 'B' Laboratory (Korea) | 10          |                         | Conventional PCR |                                                             |

## ERGEBNISSE

Die Studie ergab eine Übereinstimmung bei 79 Kotproben von Katzen. Bei 12 Proben wurden jedoch Abweichungen zwischen Vcheck M und dem Vergleichstest festgestellt. Um diese Unstimmigkeiten zu validieren, wurden zusätzliche Bestätigungstests unter Verwendung von Reagenzien und Sequenzierungsmethoden von Drittanbietern durchgeführt. Diese Tests bestätigten die Genauigkeit der Vcheck M-Ergebnisse. Detaillierte Vergleiche von Vcheck M mit der Referenzmethode sind in den Tabellen 1 und 2 beschrieben.

## SCHLUSSFOLGERUNG

Based on these findings, it was confirmed that the Vcheck M Feline Diarrhea 8 Panel excels not only in convenience but also in clinical performance.

## QUELLEN

1. Hurley, K. "Survey of shelter veterinarian's research priorities, Shelter Vet Chat Group." Personal communication (2003).
2. Sherding RG, Johnson SE. Diseases of the Intestines. *Saunders Manual of Small Animal Practice*. 2006:702–38.
3. Gizzi AB, Oliveira ST, Leutenegger CM, Estrada M, Kozemjak DA, Stedile R, Marcondes M, Biondo AW. Presence of infectious agents and co-infections in diarrheic dogs determined with a real-time polymerase chain reaction-based panel. *BMC Vet Res*. 2014 Jan 16;10:23.



**Tabelle 1.** Sensitivität und Spezifität des Vcheck M Feline Diarrhea 8-Panels im Vergleich zur Referenzmethode für jeden Erreger

| Feline parvovirus |       | Reference method |     |       |
|-------------------|-------|------------------|-----|-------|
|                   |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M          | Pos   | 14               | 0   | 14    |
|                   | Neg   | 0                | 72  | 72    |
|                   | Total | 14               | 72  | 86    |
| Sensitivity       |       | 100% (14/14)     |     |       |
| Specificity       |       | 100% (72/72)     |     |       |

| Salmonella spp. |       | Reference method |     |       |
|-----------------|-------|------------------|-----|-------|
|                 |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M        | Pos   | 0                | 0   | 0     |
|                 | Neg   | 0                | 81  | 81    |
|                 | Total | 0                | 81  | 81    |
| Sensitivity     |       | -                |     |       |
| Specificity     |       | 100% (81/81)     |     |       |

| Toxoplasma gondii |       | Reference method |     |       |
|-------------------|-------|------------------|-----|-------|
|                   |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M          | Pos   | 0                | 0   | 0     |
|                   | Neg   | 0                | 81  | 81    |
|                   | Total | 0                | 81  | 81    |
| Sensitivity       |       | -                |     |       |
| Specificity       |       | 100% (81/81)     |     |       |

| Cryptosporidium spp. |       | Reference method |     |       |
|----------------------|-------|------------------|-----|-------|
|                      |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M             | Pos   | 0                | 0   | 0     |
|                      | Neg   | 0                | 81  | 81    |
|                      | Total | 0                | 81  | 81    |
| Sensitivity          |       | -                |     |       |
| Specificity          |       | 100% (81/81)     |     |       |

| Feline coronavirus |       | Reference method |     |       |
|--------------------|-------|------------------|-----|-------|
|                    |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M           | Pos   | 39               | 0   | 39    |
|                    | Neg   | 0                | 47  | 47    |
|                    | Total | 39               | 47  | 86    |
| Sensitivity        |       | 100% (39/39)     |     |       |
| Specificity        |       | 100% (47/47)     |     |       |

| Campylobacter spp. |       | Reference method |     |       |
|--------------------|-------|------------------|-----|-------|
|                    |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M           | Pos   | 2                | 0   | 2     |
|                    | Neg   | 0                | 79  | 79    |
|                    | Total | 2                | 79  | 81    |
| Sensitivity        |       | 100% (2/2)       |     |       |
| Specificity        |       | 100% (79/79)     |     |       |

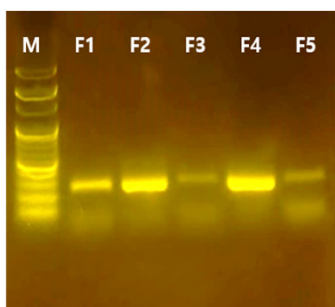
| Giardia lamblia |       | Reference method |     |       |
|-----------------|-------|------------------|-----|-------|
|                 |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M        | Pos   | 6                | 0   | 6     |
|                 | Neg   | 0                | 77  | 77    |
|                 | Total | 6                | 77  | 83    |
| Sensitivity     |       | 100% (6/6)       |     |       |
| Specificity     |       | 100% (77/77)     |     |       |

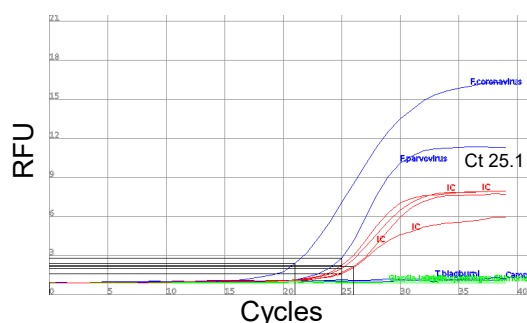
| Tritrichomonas blagburni (formerly T. foetus) |       | Reference method |     |       |
|-----------------------------------------------|-------|------------------|-----|-------|
|                                               |       | Pos              | Neg | Total |
| Vcheck M                                      | Pos   | 6                | 0   | 6     |
|                                               | Neg   | 0                | 75  | 75    |
|                                               | Total | 6                | 75  | 81    |
| Sensitivity                                   |       | 100% (6/6)       |     |       |
| Specificity                                   |       | 100% (75/75)     |     |       |

**Tabelle 2.** Gesamt-Sensitivität und -Spezifität des Vcheck M Feline Diarrhea 8-Panels im Vergleich zur Referenzmethode

|             | Feline parvovirus | Feline coronavirus | Salmonella spp. | Campylobacter spp. | Toxoplasma gondii | Giardia lamblia | Cryptosporidium spp. | Tritrichomonas blagburni (formerly T. foetus) |
|-------------|-------------------|--------------------|-----------------|--------------------|-------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------------------------|
| Sensitivity | 100% (14/14)      | 100% (39/39)       | -               | 100% (2/2)         | -                 | 100% (6/6)      | -                    | 100% (6/6)                                    |
| Specificity | 100% (72/72)      | 100% (47/47)       | 100% (81/81)    | 100% (79/79)       | 100% (81/81)      | 100% (77/77)    | 100% (81/81)         | 100% (75/75)                                  |



**Abbildung 1.** Bild eines Agarosegels mit konventionellen PCR-Ergebnissen für Feline-Parvovirus-positive Proben



**Abbildung 2.** Amplifikationskurven, die von Vcheck M für die Feline-Parvovirus-positive Probe (Probenname: F1) erstellt wurden

# Vcheck M Canine Anemia 8

Vergleichende Bewertung von Vcheck M Canine Anemia 8 mit Echtzeit-PCR zum Nachweis von 8 Krankheiten, die bei Hunden Anämie verursachen

BIONOTE study

## EINLEITUNG

Anämie bezeichnet eine verminderte Anzahl zirkulierender roter Blutkörperchen, Hämoglobin oder beides. Es handelt sich nicht um eine spezifische Krankheit, sondern um das Ergebnis eines anderen Krankheitsprozesses oder -zustands. Für diagnostische Tests werden Blutproben entnommen. Auf diese Weise kann eine spezifischere Behandlung festgelegt werden, die auf die Diagnose der der Anämie zugrunde liegenden Krankheit abgestimmt ist. Der Tierarzt verwendet in der Regel serologische Tests und PCR-Tests, um eine Anämie verursachende Krankheit bei Hunden zu diagnostizieren. Früher mussten PCR-Testproben an ein externes Labor geschickt werden, aber mit dem Vcheck M ist der PCR-Test in der Tierklinik möglich.

## ZWECK

Das Ziel dieser Studie ist es, die diagnostische Sensitivität und Spezifität des neu entwickelten Vcheck M Canine Anemia 8 Panel und Vcheck M Canine Vector 8 Panel (POCT PCR-Kit) im Vergleich zur laborbasierten Echtzeit-PCR zu bewerten.

## MATERIALIEN UND METHODEN

Insgesamt wurden 74 Vollblutproben von Hunden ausgewertet, die in Laboren in Korea und Paraguay sowie in einer Tierklinik in Malaysia mit einem Antikörper-Schnelltest oder einer PCR positiv getestet wurden. Die Tests wurden von SD Biosensor Inc., MDx R&D Department, unter Verwendung der Vcheck M Canine Anemia 8-Kassette oder der Vcheck M Canine Vector 8-Kassette mit dem Vcheck M10-Analysegerät durchgeführt. Für Vergleichsanalysen wurde ein Reagenz eines Drittanbieters mit Echtzeit-PCR verwendet.

## ERGEBNISSE

Der Vcheck M zeigte bei allen 74 getesteten Vollblutproben von Hunden Übereinstimmung mit den laborgestützten Echtzeit-PCR-Ergebnissen. Basierend auf diesen Ergebnissen zeigte der Vcheck M im Vergleich zur laborgestützten Echtzeit-PCR eine Sensitivität und Spezifität von 100 % für *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp. und *Babesia* spp. Detaillierte Vergleiche des Vcheck M mit der Referenzmethode sind in den Tabellen 1 und 2 beschrieben.

## SCHLUSSFOLGERUNG

In dieser Studie wurden 15 Diskrepanzen zwischen dem Antikörper-Schnelltest und dem Vcheck M beobachtet. Es wird angenommen, dass sich die Hunde entweder in der frühen Phase der Infektion befanden oder mit Krankheiten infiziert waren, die bei Hunden Anämie verursachen, und sich anschließend erholt hatten.

Darüber hinaus zeigte die erste konventionelle PCR vor dem Test, die in einem Labor in Paraguay durchgeführt wurde, 29 Diskrepanzen im Vergleich zu den in dieser Studie erzielten Vcheck M-Ergebnissen. Als diese abweichenden Proben jedoch in dieser Studie erneut mit Echtzeit-PCR getestet wurden, stimmten die Ergebnisse mit den Vcheck M-Ergebnissen überein. Daher scheint Vcheck M zuverlässiger zu sein als die herkömmliche PCR vor dem Test. Diese Ergebnisse bestätigten, dass das Vcheck M Canine Anemia 8 Panel nicht nur in Bezug auf die Benutzerfreundlichkeit, sondern auch in Bezug auf die klinische Leistung hervorragend ist.

| Sample Information         |                  |             | Evaluation                            |                                |                                 |
|----------------------------|------------------|-------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Site                       | Pre-test on site | Sample size | Site                                  | Vcheck M10 analyzer            | Confirmatory Test               |
| Laboratory (Korea)         | Real-time PCR    | 3           | SD Biosensor Inc., MDx R&D Department | Vcheck M Canine Anemia 8 panel | N/A                             |
| Animal hospital (Malaysia) | Antibody Rapid   | 31          |                                       | or                             | "P" kit (UK) with real-time PCR |
| Laboratory (Paraguay)      | Conventional PCR | 40          |                                       | Vcheck M Canine Vector 8 Panel |                                 |

**Tabelle 1.** Sensitivität und Spezifität des Vcheck M Canine Anemia 8-Panels im Vergleich zur laborgestützten Echtzeit-PCR für jeden Erreger

| <i>Ehrlichia</i> spp. |       | Real-time PCR |     |       |
|-----------------------|-------|---------------|-----|-------|
|                       |       | Pos           | Neg | Total |
| Vcheck M              | Pos   | 16            | 0   | 16    |
|                       | Neg   | 0             | 21  | 21    |
|                       | Total | 16            | 21  | 37    |
| Sensitivity           |       | 100% (16/16)  |     |       |
| Specificity           |       | 100% (21/21)  |     |       |

| <i>Hepatozoon</i> spp. |       | Real-time PCR |     |       |
|------------------------|-------|---------------|-----|-------|
|                        |       | Pos           | Neg | Total |
| Vcheck M               | Pos   | 3             | 0   | 3     |
|                        | Neg   | 0             | 0   | 0     |
|                        | Total | 3             | 0   | 3     |
| Sensitivity            |       | 100% (3/3)    |     |       |
| Specificity            |       | -             |     |       |

| <i>Mycoplasma haemocanis</i> |       | Real-time PCR |     |       |
|------------------------------|-------|---------------|-----|-------|
|                              |       | Pos           | Neg | Total |
| Vcheck M                     | Pos   | 3             | 0   | 3     |
|                              | Neg   | 0             | 0   | 0     |
|                              | Total | 3             | 0   | 3     |
| Sensitivity                  |       | 100% (3/3)    |     |       |
| Specificity                  |       | -             |     |       |

| <i>Anaplasma</i> spp. |       | Real-time PCR |     |       |
|-----------------------|-------|---------------|-----|-------|
|                       |       | Pos           | Neg | Total |
| Vcheck M              | Pos   | 6             | 0   | 6     |
|                       | Neg   | 0             | 15  | 15    |
|                       | Total | 6             | 15  | 21    |
| Sensitivity           |       | 100% (6/6)    |     |       |
| Specificity           |       | 100% (15/15)  |     |       |

| <i>Babesia</i> spp. |       | Real-time PCR |     |       |
|---------------------|-------|---------------|-----|-------|
|                     |       | Pos           | Neg | Total |
| Vcheck M            | Pos   | 5             | 0   | 5     |
|                     | Neg   | 0             | 3   | 3     |
|                     | Total | 5             | 3   | 8     |
| Sensitivity         |       | 100% (5/5)    |     |       |
| Specificity         |       | 100% (3/3)    |     |       |

| <i>Leptospira interrogans</i> |       | Real-time PCR |     |       |
|-------------------------------|-------|---------------|-----|-------|
|                               |       | Pos           | Neg | Total |
| Vcheck M                      | Pos   | 0             | 0   | 0     |
|                               | Neg   | 0             | 10  | 10    |
|                               | Total | 0             | 10  | 10    |
| Sensitivity                   |       | -             |     |       |
| Specificity                   |       | 100% (10/10)  |     |       |

**Tabelle 2.** Gesamt-Sensitivität und -Spezifität des Vcheck M Canine Anemia 8 Panels im Vergleich zu laborbasierten Echtzeit-PCR-Tests

| Vcheck M    | <i>Ehrlichia</i> spp. | <i>Hepatozoon</i> spp. | <i>Mycoplasma haemocanis</i> | <i>Anaplasma</i> spp. | <i>Rickettsia</i> spp. | <i>Babesia</i> spp. | <i>Leptospira interrogans</i> | <i>Borrelia</i> spp. |
|-------------|-----------------------|------------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------|---------------------|-------------------------------|----------------------|
| Sensitivity | 100% (16/16)          | 100% (3/3)             | 100% (3/3)                   | 100% (6/6)            | -                      | 100% (5/5)          | -                             | -                    |
| Specificity | 100% (21/21)          | -                      | -                            | 100% (15/15)          | -                      | 100% (3/3)          | 100% (10/10)                  | -                    |

# Vcheck M Canine Anemia 8

## Diagnose der *Babesia* bei Hunden Infektion durch Vergleich von Mikroskopie und Vcheck M10-Analysegerät zusammen mit dem Anämiestatus in Russland

### EINLEITUNG

Die Babesiose bei Hunden ist eine weltweit verbreitete, durch Zecken übertragene hämoprotozoäre Erkrankung von erheblicher klinischer Bedeutung. Diese Krankheit wird hauptsächlich durch zwei Arten von *Babesia* verursacht: *Babesia canis* und *Babesia gibsoni*. Die Babesiose bei Hunden ist durch hämolytische Anämie, Fieber und Splenomegalie gekennzeichnet, die durch die Protozoenparasitierung der roten Blutkörperchen verursacht werden [1]. In Russland ist die Babesiose bei Hunden weit verbreitet. Die gemeldete Prävalenz reicht von niedrigen 12 % in der Region Rostow bis zu hohen 50 % bis 75 % in der Stadt Rjasan und der umliegenden Region [2]. Dieses breite Spektrum an Prävalenz und klinischen Erscheinungsformen, das von asymptomatischen bis hin zu schweren Fällen reicht, unterstreicht den Bedarf an zuverlässigen Diagnosemethoden in der Tierarztpraxis. Es gibt drei Hauptmethoden zur Diagnose von Babesia-Infektionen: mikroskopische Identifizierung, serologische Tests und Nukleinsäure-basierte Nachweismethoden. Allerdings ist kein einzelner Test perfekt für die Diagnose einer *Babesia* Infektion geeignet, sodass manchmal zusätzliche Tests erforderlich sind. Daher zielt diese Studie darauf ab, die diagnostische Wirksamkeit der traditionellen mikroskopischen Untersuchung mit dem BIONOTE Vcheck M10-Analysegerät beim Nachweis einer *Babesia* Infektion bei Hunden mit klinischen Symptomen einer Anämie zu vergleichen.

### ZIELSETZUNG

Das Ziel dieser Studie bestand darin, die diagnostische Sensitivität und Spezifität des Vcheck M10-Analysegeräts (Point-of-Care-PCR; POC-PCR) im Vergleich zur herkömmlichen mikroskopischen Untersuchung zu bewerten.

### MATERIALIEN UND METHODEN

Von 64 ausgewerteten Blutproben von Hunden wurden die Hämatokritwerte (HCT) während der CBC-Untersuchungen bestimmt. Dabei wurden 30 Hunde mit niedrigen HCT-Werten ( $HCT < 40\%$ ) und 34 Hunde mit normalen HCT-Werten ( $40\% \leq HCT < 60\%$ ) ermittelt. 56 Proben wurden einer mikroskopischen Untersuchung unterzogen, während die restlichen 8 Proben ausschließlich mit dem Vcheck M10-Analysegerät ausgewertet wurden. Zur Bestätigung und zum Vergleich der 56 mikroskopischen Ergebnisse wurde das Vcheck M10-Analysegerät entweder mit der Vcheck M Canine Vector 8-Panel- (CV8) oder der Vcheck M Canine Anemia 8-Panel- (CA8) Kartusche verwendet (Tabelle 1).

Evaluated by 'B' animal hospital in Russia

Das Vcheck M10-Analysegerät verwendet Echtzeit-PCR, um DNA von *Babesia* spp. (einschließlich *B. gibsoni*, *B. canis canis*, *B. canis vogeli*, *B. canis rossi*) und anderen Krankheitserregern gleichzeitig nachzuweisen.

(Vcheck M CV8 panel detects *Ehrlichia* spp., *Hepatozoon* spp., *Mycoplasma haemocanis*, *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp., *Babesia* spp., *Leishmania* spp. and *Bartonella* spp. while Vcheck M CA8 panel detects *Ehrlichia* spp., *Hepatozoon* spp., *Mycoplasma haemocanis*, *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp., *Babesia* spp., *Leptospira interrogans* and *Borrelia* spp..)

**Tabelle 1.** Probenmaterial und Equipment

| Equipment Used | Low HCT values (HCT < 40%) | Normal HCT values (40% ≤ HCT < 60%) | Total |
|----------------|----------------------------|-------------------------------------|-------|
| Microscopic    | 29                         | 27                                  | 56    |
| Vcheck M10     | 30                         | 34                                  | 64*   |

\* 8 Proben wurden ausschließlich mit dem Vcheck M10-Analysegerät ausgewertet

### ERGEBNISSE

Die mikroskopische Untersuchung der 56 Proben ergab, dass 21 Hunde mit *Babesia* spp. infiziert waren, während 35 Hunde negativ getestet wurden. Die Vcheck M CV8/CA8-Testergebnisse für *Babesia* spp. zeigten, dass 22 der insgesamt 56 Proben positiv und 34 negativ getestet wurden. Im Vergleich zur mikroskopischen Untersuchung zeigte der Vcheck M CV8/CA8 für *Babesia* spp. eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 97.1 %. Außerdem wurden die HCT-Werte dieser 56 Proben mit den Testergebnissen des Vcheck M CV8/CA8 *Babesia* spp. verglichen (Tabelle 3). Zusätzlich zu diesen 56 Proben bestätigten die Testergebnisse des Vcheck M CV8/CA8 bei einem Hund eine Infektion mit *Hepatozoon*, identifizierten zwei Hunde mit *Anaplasma* spp. und ergaben, dass fünf Hunde, bei denen zuvor Babesiose diagnostiziert worden war, bei der aktuellen Untersuchung negativ getestet wurden.

**Table 2.** Sensitivity and specificity of the Vcheck M CV8 or CA8 for detecting *Babesia* spp. compared with microscopic method

| <i>Babesia</i> spp. | Microscopic method |     |       |
|---------------------|--------------------|-----|-------|
|                     | Pos                | Neg | Total |
| Vcheck M10 analyzer | Pos                | Neg | Total |
|                     | 21                 | 1   | 22    |
|                     | 0                  | 34  | 34    |
|                     | 21                 | 35  | 56    |
| Sensitivity         | 100% (21/21)       |     |       |
| Specificity         | 97.1% (34/35)      |     |       |

**Table 3.** Comparison of Vcheck M CV8 or CA8 results for *Babesia* spp. with HCT values

| <i>Babesia</i> spp.                 | Vcheck M10 analyzer |     | Total |
|-------------------------------------|---------------------|-----|-------|
|                                     | Pos                 | Neg |       |
| Low HCT values (HCT < 40%)          | 18                  | 11  | 29    |
| Normal HCT values (40% ≤ HCT < 60%) | 4                   | 23  | 27    |
| Total                               | 22                  | 34  | 56    |

## SCHLUSSFOLGERUNG

Es gibt keinen perfekten Test zur Diagnose einer Infektion mit *Babesia* spp. bei Hunden, weshalb ein umfassender diagnostischer Ansatz erforderlich ist. Die mikroskopische Untersuchung mit ihrer begrenzten Empfindlichkeit (0,001 % Parasitämie-Erkennungsrate) wird nicht als alleiniges Screening-Instrument empfohlen. Antikörpertests, die auf Antikörpertitern basieren, können zwar auf eine aktuelle oder frühere Infektion hinweisen, können jedoch zu falsch negativen Ergebnissen führen, insbesondere bei jungen oder frühen Infektionen [1]. In dieser Studie wurden mit dem Vcheck M10-Analysegerät positive Ergebnisse in Fällen nachgewiesen, in denen die mikroskopische Untersuchung negative Ergebnisse ergab, was das Potenzial für eine höhere Empfindlichkeit mit PCR-basierter Technologie unterstreicht. Daher können PCR-basierte Technologien wie das Vcheck M10-Analysegerät eine höhere Empfindlichkeit bei der Erkennung von *Babesia* spp. bieten und möglicherweise Infektionen identifizieren, die bei der Mikroskopie übersehen wurden.

Darüber hinaus diagnostiziert das Vcheck M10-Analysegerät nicht nur Babesiose genau, sondern führt auch ein Screening auf andere Krankheitserreger wie *Hepatozoon* und *Anaplasma* spp. durch. Außerdem deuten die negativen Ergebnisse von Vcheck M bei Hunden mit früheren Infektionen darauf hin, dass die PCR-basierte Überwachung eine wertvolle Ergänzung zu Antikörpertests für die Behandlungsüberwachung darstellen könnte. Aus diesen Gründen stellt das Vcheck M10-Analysegerät einen bedeutenden Fortschritt dar, da es vergleichbare Ergebnisse wie die Mikroskopie liefert, acht Krankheitserreger gleichzeitig untersucht und die Behandlungsüberwachung bei bestimmten Infektionen erleichtert. Die Verwendung des Vcheck M10-Analysegeräts in Verbindung mit anderen Tests gewährleistet eine zuverlässigere Erkennung von Infektionen, unterstützt die Differentialdiagnose und verbessert das klinische Management insgesamt.

## QUELLEN

1. Greene, C. E. (2012). *Infectious diseases of the dog and cat*. 4th ed. St. Louis, Mo., Elsevier/Saunders.
2. Domatskiy, V.N. Babesiosis of dogs distribution in the Russian Federation (review). *Bull. KrasGAU* 2022, 10, 100–108.

---

# Notizen



---

# Notizen



VER.01  
[www.bionote.co.kr](http://www.bionote.co.kr)

BIONOTE, Inc.

30, Samsung 1-ro 4-gil, Hwaseong-si, Gyeonggi-do, 18449, Republic of Korea  
TEL: 82-31-211-0516 FAX: 82-31-8003-0618

