

Blutgruppenbestimmung beim Hund: Auch bei der ersten Transfusion von großem Vorteil.

Hunde weisen keine präformierten Blutgruppen auf. Bei der ersten Transfusion trifft das Blut des Spenders damit nicht auf Antikörper. Dadurch kommt es auch bei Transfusion einer falschen Blutgruppe nicht direkt zur Abstoßung bzw. Transfusionsreaktion. Die Auseinandersetzung des Empfängers mit dem fremden Blut bleibt jedoch nicht aus. Nach 3-5 Tagen beginnt dessen Antikörperproduktion. Danach werden die transfundierten Zellen massiv angegriffen: Es kommt zum Zerfall der übertragenen Zellen. Ist der Patient bis dahin wiederhergestellt, kann er diese zusätzliche Belastung und den Verlust der übertragenen Zellen sicherlich verkraften. Aber auch starke Patienten würden von einer größeren Überlebensspanne der Erythrozyten profitieren – und schwächere brauchen sie unbedingt.

Zur Bestimmung der transfusionsmedizinisch bedeutsamsten Blutgruppen stehen außerdem Testkarten zur Verfügung, die vor der Transfusion innerhalb von 10 Minuten Auskunft über die richtige Blutgruppe geben. Außerdem sind Blutprodukte zur blutgruppengerechten Transfusion im Handel verfügbar. Es gibt also keine wirklich stichhaltigen Gründe, in der Tiermedizin auf die blutgruppengerechte Transfusion zu verzichten, die in der Humanmedizin längst anerkannter Status ist.

Deshalb soll hier die Durchführung der Blutgruppenbestimmung mit Hilfe der

Rapid Vet H Canine Blutgruppentestkarte (Agrolabo/dms, Turin)

gezeigt werden.

Der Test differenziert zwischen DEA 1.1 positiv und negativ.

Testprinzip:

Der Test beruht auf einer Agglutinationsreaktion, die entsteht, wenn ein Erythrozyt mit DEA 1.1 Oberflächenantigen mit einem DEA 1.1-spezifischen monoklonalen Antikörper aus Mäusen interagiert, der auf die Testkarte auflyophilisiert ist. Der Antikörper wird mit einem Lösungsmittel verflüssigt und sorgfältig mit dem Blut des Spenders bzw. Patienten vermischt. Alle DEA 1.1-positiven Erythrozyten reagieren mit dem Antikörper und agglutinieren. Reaktionen mit DEA 1.1-negativen Erythrozyten sind ausgeschlossen. Die gut sichtbare Agglutination ist daher beweisend.

Eine gewisse Zahl von Probanden kann eine Auto-Agglutination aufweisen, die von den eigenen Serumfaktoren des Probanden abhängt. Wenn diese Reaktion während des Tests auftritt, kann sie nicht von einer DEA 1.1-Agglutination unterschieden werden, solange das Probandenserum nicht sorgfältig abgetrennt und die Erythrozyten nicht sorgfältig gewaschen werden. Deshalb sind alle Proben auch mit dem "Auto-Agglutinations-Test" zu untersuchen.

Reagenzien und Materialien:

Agglutinations-Testkarten: Jede Karte hat drei definierte Reaktionszonen, die mit "DEA 1.1 positive Kontrolle" (DEA 1.1 Positive Control), "Auto-Agglutination Saline Screen" und "Patientenprobe" (Patient Test) beschriftet sind. Die Karten sind gemeinsam mit einem Säckchen Trocknungsmittel einzeln gasdicht eingeschweißt. Sie können bei Raumtemperatur oder in einem Kühlschrank oder Gefrierschrank gelagert werden.

Verdünner: Die klare Kunststoffflasche enthält 0,02mol/L phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS), eingestellt auf pH 7.4. Ein Tropfen hat ein Volumen von 40 µl. Kühl lagern (2-7°C).

Positivkontrolle: Die weiße Kunststoffflasche enthält biologisches Material. Ein Tropfen hat ebenfalls ein Volumen von 40 µl. Kühl lagern (2-7°C).

Eine Polyethylentüte enthält für jeden Test 2 **Kunststoffpipetten** und 3 **Rührspatel**.

Lagerung, Stabilität:

Die Autoagglutinations-Karte kann bei Raumtemperatur gelagert werden und ist unbegrenzt

Die Agglutinations-Karten sind ab dem Herstellungsdatum für 19 Monate bei Raumtemperatur (20-25°C) stabil. Jede Karte trägt ein individuelles Verfallsdatum. Die Lagerung im Kühlschrank verlängert die Haltbarkeit nicht signifikant, vermeidet aber nicht bekannte Temperaturschwankungen und schützt die Testkarte vor der Überschreitung der erlaubten Lagertemperatur. Vor Testdurchführung muss die Testkarte nicht auf Raumtemperatur gebracht werden.

Das Lösungsmittel ist bei Lagerung zwischen 2 und 7°C ab dem Herstellungstag 1 Jahr haltbar, es trägt ein Verfallsdatum.

Die Kontrolllösungen sind bei Lagerung zwischen 2 und 7°C sechs Monate ab Herstellung haltbar. Sie tragen ein individuelles Verfallsdatum.

Jedes RapidVetH-Testkit hat ein individuelles Haltbarkeitsdatum, das durch die Laufzeit der am kürzesten haltbaren Komponente bestimmt ist. Obgleich einzelne Komponenten zu diesem Zeitpunkt noch nicht abgelaufen sind, dürfen sie nicht mit anderen Komponenten anderer Testkits zusammen benutzt werden.

Testdurchführung:

Entnehmen Sie mindestens 0,4 ml Blut in ein EDTA-beschichtetes Röhrchen (rot). Der Test ist mit 0,1 ml durchführbar.

Entnehmen Sie die Testkarte und legen Sie sie auf eine ebene Arbeitsfläche.

Beschriften Sie die Karte mit den Daten des Probanden und dem Testdatum nahe dem obersten Reaktionsfeld.

Füllen Sie einen Tropfen Lösungsmittel in das Reaktionsfeld "Auto-Agglutination".

Nehmen Sie etwas gut gemischtes Vollblut des Probanden in die Pipette auf. Halten Sie hierfür die Plastikpipette zwischen Daumen und Zeigefinger in der Nähe des flachen, verschlossenen Endes, Drücken Sie sie fest zusammen und lassen Sie den Druck erst nach, wenn Sie die Pipette aufrecht in die Probe eingeführt haben. Geben Sie einen Tropfen (40 µl) der aufgenommenen Probe auf das Reaktionsfeld. Hierfür halten Sie die Pipette direkt über das Reaktionsfeld und drücken Sie vorsichtig darauf. Ein Tropfen aus der Pipette (40 µl) soll heraustropfen. Mischen Sie die Materialien ca. 10 Sekunden mit einem Rührstab auf dem Reaktionsfeld. Drücken Sie den Rührspatel fest auf die Reaktionskarte. Benutzen Sie alle Materialien nur einmal, um eine Kreuzkontamination zu vermeiden.

mit einem Rührstab auf dem Reaktionsfeld. Drücken Sie den Rührspatel fest auf die Reaktionskarte. Benutzen Sie alle Materialien nur einmal, um eine Kreuzkontamination zu vermeiden.

Ein kleiner Teil sowohl der gesunden als auch kranken Hunde autoagglutinieren. Wenn dies zu beobachten ist, muss der Test unterbrochen und ein Erythrozytenwaschgang zwischengeschaltet werden. Wiederholen Sie den Test damit, nachdem Sie die Reaktionsfläche mit einem Zellstofftupfer getrocknet haben. Bei autoagglutinierenden Probanden ist die Blutgruppe nicht feststellbar. Sie sind als Spender auszuschließen. Für Empfänger kommt der Kreuzprobe dann noch größere Bedeutung zu. Sie können die Testkarte mit einem Zellstofftupfer abwischen, trocknen lassen und mit dem Trocknungsmittel wieder gasdicht in den Beutel einschließen. Sie steht für einen weiteren Test zur Verfügung.

Wenn Sie im Test fortfahren, sichern Sie die Tüte und das Trocknungsmittel.

Vermerken Sie das Datum auf der Testkarte, wenn Sie die Blutgruppenbestimmung an einem anderen Tag ausführen als den Autoagglutinationstest.

Legen Sie die Testkarte auf eine ebene Arbeitsfläche.

Bringen Sie jeweils einen Tropfen Lösungsmittel (40 µl) auf die unteren beiden Reaktionsfelder. Das Lösungsmittel bringt die lyophilisierten Antikörper wieder in Lösung.

Schwenken Sie das Fläschchen mit der Kontrolllösung sowie das EDTA-Röhrchen mit der Probe vorsichtig, um alle festen Bestandteile zu resuspendieren.

Schrauben Sie die Kappe der Flasche der Kontrolllösung ab und stellen Sie die Flasche vor und die Kappe hinter die Karte auf den Tisch.

Geben Sie einen Tropfen Positiv-Kontroll-Lösung in die Reaktionsfläche "DEA 1.1 Positive Control". Verwenden Sie einen neuen Rührspatel, um die gesamte Reaktionsvertiefung ca. 10 Sekunden kräftig umzurühren. Üben Sie dabei kräftig Druck auf die Karte aus.

Das Auto-Agglutinationsfeld ist Ihre Negativ-Kontroll-Reaktionsfläche.

Nehmen Sie wieder Probenmaterial beschrieben in eine Pipette auf und geben Sie einen Tropfen auf die Reaktionsfläche "Patient Test". Verwenden Sie einen neuen Rührspatel, um die gesamte Reaktions-

vertiefung ca. 10 Sekunden kräftig umzurühren. Üben Sie dabei kräftig Druck auf die Karte aus.

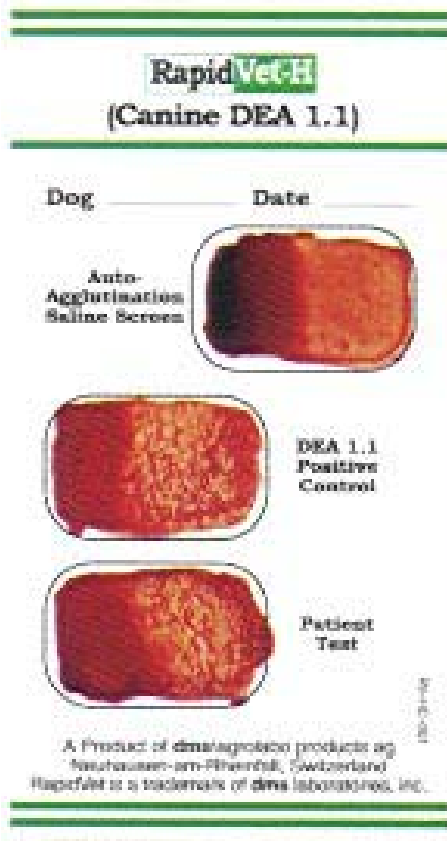
Schwenken Sie die Karte mit einer transaxialen Bewegung 2 Minuten, ohne Material aus den verschiedenen Reaktionsflächen miteinander zu vermischen.

Halten Sie die Karte schräg (etwa 10° gegen die Tischplatte), damit überschüssiges Blut an den Rand der Reaktionsfläche fließt. Sie erreichen 10° einfach, wenn Sie eine Kante der langen Kartenseite auf den Beutel mit dem Trocknungsmittel legen.

Lesen Sie den Test ab. Die Reaktion ist als positiv zu bezeichnen, wenn der überwiegende Teil der Reaktionsfläche agglutiniert ist.

Lassen Sie die Karte eintrocknen. Nachdem Sie sie in die Plastiktüte zurückgegeben haben, heften Sie sie innen an die Blutspenderkarte an der dafür vorgesehenen Stelle oder die Patientenkarte mit einem Bürohefter fest. Sie wird zur lebenslangen Dokumentation dort aufbewahrt.

Verschließen Sie alle Gefäße. Bevor Sie die Reaktionslösungen in die Testbox zurücksetzen, stoßen Sie die Flaschen kurz auf den Arbeitstisch, damit noch am Flaschenhals anheftende Tropfen in die Stammlösung zurückfallen und nicht eintrocknen.



oder Fibringerinnsel bilden. Lagern Sie alle Reagenzien aufrecht! Sobald sich Fibrin-auflagerungen gebildet haben, ist die Dosierung der Reagenzien nicht mehr zuverlässig - der Test könnte falsche Ergebnisse liefern! Sollte dies dennoch passieren, sollte die Tropfspitze von der Flasche entfernt und alle Pipettierschritte mit 40µl-Pipetten durchgeführt werden.

Wenn der Test ordnungsgemäß durchgeführt wurde, sollte sich eine deutliche Agglutination auf der Positiv-Kontrollfläche ergeben haben. Hiermit sind die anderen Flächen zu vergleichen. Wenn sich auch auf der Reaktionsfläche der Probe ("Patient Test") eine entsprechende Agglutination einstellt und der Auto-Agglutinations-Test negativ war, so ist der Patient DEA 1.1-positiv. Stellt sich keine Agglutination ein, ist er DEA 1.1-negativ.

Die Eigenschaft DEA 1.1-positiv wird deutlich in rot in die Spenderkarte eingetragen.

Jede Granulation, die mehr als 2 Minuten im Anschluss an das Testende auftritt, ändert das Ergebnis nicht mehr. Die Geschwindigkeit der Agglutination und die Größe der Zellklumpen eines DEA 1.1-positiven Probanden können sich von der Positivkontrolle unterscheiden. Anders als beim Menschen besitzen Hunde gleichzeitig unterschiedliche Blutgruppen. In solchen Fällen tragen die Erythrozyten verschiedene Blutgruppenantigene, die in unterschiedlicher Weise ebenfalls mit dem Testantikörper reagieren können.

Ist der Patient sehr anämisch, kann die Agglutinationsreaktion sehr diskret sein.

Vorsichtsmaßnahmen:

Vermeiden Sie auf jeden Fall ein Vertauschen der Kappen der Reaktionsflaschen. Sie würden dadurch die Testflüssigkeiten kreuzkontaminieren. Der Testkit wäre damit wertlos.

Für verlässliche Testergebnisse ist die genaue Befolgung der obigen Testanleitung notwendig.

Vorsichtsmaßnahmen:

- Vermeiden Sie auf jeden Fall ein Vertauschen der Kappen der Reaktionsflaschen. Sie würden dadurch die Testflüssigkeiten kreuzkontaminieren. Der Testkit wäre damit wertlos.
- Für verlässliche Testergebnisse ist die genaue Befolgung der obigen Testanleitung notwendig.
- Verwenden Sie stets neues Verbrauchsmaterial: Für jeden Schritt eine neue, unbenutzte Pipette sowie einen neuen Rührspatel. Gebrauchte Materialien verschleppen Antigen und gefährden das Testergebnis.

- Lassen Sie bei jedem Test die Kontrollen mitlaufen - auch wenn Sie mehrere Tiere gleichzeitig testen. Die Kontrollen sind der Beweis, dass der Test ordentlich durchgeführt wurde.
- Da die Haltbarkeitsdauer der verschiedenen Testbestandteile unterschiedlich ist, laufen die Teile zu unterschiedlichen Zeiten ab. Die Haltbarkeit des am kürzesten haltbaren Bestandteiles entscheidet über die Laufzeit des ganzen Tests. Die Verwendung abgelaufener Testbestandteile gefährdet die Testergebnisse.
- Das Lösungsmittel wird in einer Flasche mit Schraubverschluss geliefert, um bakterielle oder andere Kontaminationen zu vermeiden. Andere Lösungsmittel sollten nicht verwendet werden.
- Die Qualität der Patientenblutprobe hat großen Einfluss auf das Testergebnis. Schwerwiegende Hämolyse, hochgradige Bilirubinämie oder Lipidämie oder Anämie gefährden das Ergebnis. Als Spender sind solche Tiere ohnehin ungeeignet.
- Die Patientenblutprobe soll in ein EDTA-Blutröhrchen entnommen werden. Ist die entnommene Menge kleiner als 0,4 ml, stört die dem Röhrchen zugesetzte EDTA-Menge.