

Blutgruppenbestimmung bei der Katze:

Die Blutgruppenbestimmung ist lebenswichtig.

Katzen weisen präformierten Blutgruppen auf. Tiere mit Blutgruppe A weisen in der Regel große Mengen Anti-B-Antikörper auf, Katzen mit Blutgruppe B haben oft Anti-A-Antikörper. Schon bei der ersten Transfusion trifft das Blut des Spenders damit auf Antikörper. Dadurch kommt es auch bei Transfusion kleinster Mengen sofort zu einer heftigen Abstoßung bzw. Transfusionsreaktion, die der Patient nur selten überlebt. Die Auseinandersetzung des Empfängers mit dem fremden Blut ist durch Steroide und Antihistaminika nicht zu unterdrücken.

Zur Bestimmung der transfusionsmedizinisch bedeutsamsten Blutgruppen stehen 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 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 Feline Blutgruppentestkarte (Agrolabo/dms, Turin)

gezeigt werden.

Hier ist der **RapidVetH Feline A, B, AB-Test** beschrieben. Der Test identifiziert die Erythrozytenantigene A, B und AB.

Testprinzip:

Der Test basiert auf einer Agglutinations-Reaktion, die stattfindet, wenn die Oberflächenantigene A, B oder AB der Erythrozytenzellmembran mit spezifischen lyophilisierten Antigenen reagieren. Die lyophilisierten Antigene sind normalerweise farblos, können auf den Reaktionsfeldern aber auch gelblich bis rosa erscheinen.

Typ B-Katzen haben natürlich vorkommende Antikörper gegen das Erythrozytenantigen A in hoher Konzentration. Der Test nutzt diese Antikörper, um Typ A-Blut zu identifizieren.

Typ A-Katzen haben nur wenige, instabile und kurzlebige Anti-B-Antikörper. Deshalb ist das Serum von Katzen mit Blutgruppe A nicht brauchbar für eine Testdurchführung. Typ B-Erythrozyten sind charakterisiert durch die NeuAc2G03-Form der Neuraminsäure, die im Gangliosid anzutreffen ist. Gleichzeitig fehlt NeuGc, das Typ A-Erythrozyten aufweisen. Für diese Form des Gangliosids ist eine spezifische Bindungskapazität für ein Lektin, *Triticum vulgare*, nachgewiesen. Der Test benutzt das spezifisch bindende *Triticum vulgare*-Lectin, um das Vorhandensein von Typ B-Erythrozyten nachzuweisen.

In beiden Fällen wird das auf der Reaktionsfläche der Testkarte lyophilisierte Antiserum mit dem Vollblut des Probanden gut vermischt. Die Erythrozyten reagieren spezifisch mit ihrem Antiserum, Typ-AB Erythrozyten reagieren mit beiden Antiseren. Nach der Reaktion entsteht eine gut sichtbare Agglutination. Das Aussehen der Agglutination auf den beiden Reaktionsflächen sieht völlig verschieden aus, weil die Reaktionen ganz unterschiedlich sind.

Ein Teil der Probanden weist Autoagglutinationen unterschiedlichen Grades auf, die von Serumfaktoren der Probanden ausgelöst wird. Sobald ein Proband diese Autoagglutination im Test entwickelt, kann die Blutgruppe erst nach einem Erythrozytenwaschgang bestimmt werden. Vor der Blutgruppenbestimmung muss deshalb für jeden Probanden ein Auto-Agglutinations-Test durchgeführt werden.

Reagenzien und Materialien:

Agglutinations-Testkarten: Jede Testkarte hat drei definierte Reaktionszonen, die mit "Auto-Agglutination Saline Screen" (Auto-Agglutinations-Test), "Typ A Patient Test" und "Typ B Patient Test" beschriftet sind. Die Karten sind gemeinsam mit einem Säckchen Trocknungsmittel einzeln gasdicht eingeschweißt. Die Karten müssen in einem Gefrierschrank aufbewahrt werden. Bei

+2 - +7°C halten sie sich im Kühlschrank 6 Monate. Nach dem Inverkehrbringen haben Sie eine Mindesthaltbarkeit von 5 Monaten. Sie tragen ein Verfallsdatum.

Da alle Katzen entweder A oder B oder AB als Blutgruppe haben, muss bei ordnungsgemäßer Testdurchführung mindestens eine Reaktionsfläche Agglutination aufweisen. Daher ist der Test selbstprüfend. Die Kontrollen können von den Benutzern bezogen werden, die eine Positivkontrolle mitlaufen lassen wollen.

Das Testkit trägt das Verfallsdatum der am kürzesten laufenden Komponente. Auch wenn einzelne Komponenten länger brauchbar bleiben, kann nicht empfohlen werden, diese in Verbindung mit anderen Verbrauchsmaterialien aus anderen Testkits weiterzuverwenden.

Testdurchführung:

Entnehmen Sie in ein EDTA-Röhrchen eine Blutprobe von mindestens 0,4 ml Volumen. Wenn Sie zu wenig Blut entnehmen, verdünnt das im Röhrchen vorhandene EDTA die Erythrozytenantigene unzulässig. Der Test benötigt zu seiner Durchführung 150 µl.

Entnehmen Sie die Karte aus der Kunststofftüte und legen Sie sie auf eine ebene Arbeitsfläche.

Vermerken Sie auf der Karte das Datum und die Probandendaten.

Tragen Sie einen Tropfen Lösungsmittel auf das Reaktionsfeld "Auto-Agglutination Saline Screen" auf.

Nehmen Sie mit der Pipette etwas Probandenblut auf und geben Sie hiervon 40 µl (1 Tropfen) auf das Reaktionsfeld. 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.

Ein kleiner Prozentsatz sowohl kranker als auch gesunder Katzen zeigt Auto-Agglutination. 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 Auto-Agglutinationstest.

Geben Sie je einen Tropfen Lösungsmittel auf die Reaktionsflächen "Patient Test". Das Lösungsmittel bringt die lyophilisierten Antisera wieder in Lösung.

Schwenken Sie die Patientenprobe und ggfs. auch die Kontrolllösungen, um die Erythrozyten bzw. Antigene gleichmäßig in Lösung zu bringen.

Bei Verwendung von Kontrolllösungen verwenden Sie eine weitere Testkarte. Verarbeiten Sie dann die Kontrolllösungen Anti-A und Anti-B entsprechend der Probe, um eine Positivkontrolle zu erhalten.

Nehmen Sie mit der Pipette etwas Probandenblut auf und geben Sie hiervon je 40 µl (1 Tropfen) auf die beiden Reaktionsfelder "Patient Test". Verwenden Sie einen neuen Rührspatel, um die gesamte Reaktionsvertiefung 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 Testkarte 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 in der 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 Fibrinauflagerungen 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.

Ergebnisse:

Wenn der Test ordnungsgemäß durchgeführt worden ist, muss in mindestens einer der Reaktionsflächen "Patient Test" eine Agglutination stattgefunden haben. Wenn im Feld "Typ A" Agglutination stattgefunden hat, ist der Proband Träger von Blutgruppe A. Hat im Feld "Typ B" Agglutination stattgefunden, ist der Proband Träger von Blutgruppe B. Hat in beiden Feldern Agglutination stattgefunden, liegt Blut von Typ AB vor.

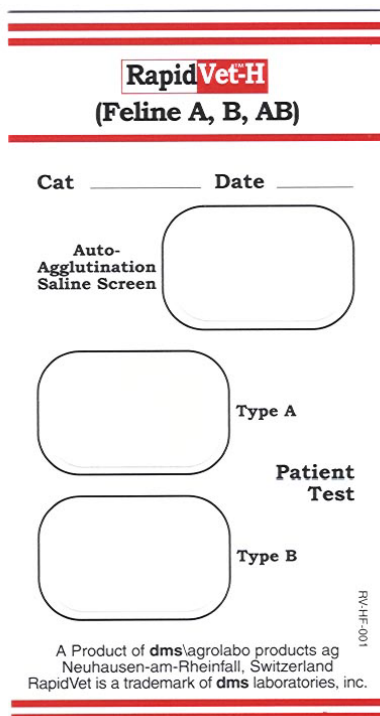
Jede feinste Granulation, die nach mehr als 2 Minuten auftritt, ist unspezifisch und darf nicht berücksichtigt werden. Die Agglutinationsbilder

von A und B unterscheiden sich z.T. erheblich. Während im Feld B gewöhnlich wenige wie große Amöben aussehende Clots auftreten, ist in Feld A eine große Zahl diskreter, kleiner Aggregate vorhanden.

Wenn der Patient stark anämisch ist, könnten zu wenig Erythrozyten vorhanden sein, wenn der Proband Blutgruppe A aufweist. Dies liegt an den sterischen Besonderheiten des Antikörpers. Wenn der Proband einen sehr niedrigen Hämatokrit aufweist oder keine Agglutination aufweist, kann der Test ohne PBS wiederholt oder eine zentrifugierte Blutprobe verwendet werden.

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.
- 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.



RapidVet-H
(Feline A, B, AB)

Cat _____ Date _____

Auto-Agglutination Saline Screen

Type A

Type B

Patient Test

A Product of dmslabo products ag
Neuhausen-am-Rheinfall, Switzerland
RapidVet is a trademark of dms laboratories, inc.

RV/HF-001

Aufgrund der unterschiedlichen Antikörper sehen die positiven Reaktionen der Testfelder A und B vollkommen unterschiedlich aus.

