

Aus der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I  
der Justus-Liebig-Universität Gießen  
Innere Krankheiten der Kleintiere

**Antierythrozytäre Antikörper nach  
Vollbluttransfusion beim Hund; Nachweis und  
klinische Bedeutung für die Anämietherapie**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von  
**Thomas Widmann**

Gießen 2002

Aus der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I  
der Justus-Liebig-Universität Gießen  
Innere Krankheiten der Kleintiere  
Betreuer: Prof. Dr. E.-G. Grünbaum

**Antierythrozytäre Antikörper nach  
Vollbluttransfusion beim Hund; Nachweis und  
klinische Bedeutung für die Anämietherapie**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von  
**Thomas Widmann**  
Tierarzt aus Kirchberg in Tirol/Österreich

Gießen 2002

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

---

Dekan: Prof. Dr. Dr. h. c. B. Hoffmann

1. Berichterstatter: Prof. Dr. E.-G. Grünbaum

2. Berichterstatter: Prof. Dr. R. Gerstberger

Tag der mündlichen Prüfung: 03.07.2002



**INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1 EINLEITUNG</b> .....	<b>4</b>
1.1 Aufgabenstellung.....	4
<b>2 LITERATURÜBERSICHT</b> .....	<b>6</b>
2.1 Anämie .....	6
2.1.1 Diagnostik.....	6
2.1.2 Einteilung.....	7
2.1.3 Therapie .....	9
2.2 Immunologische Grundlagen der Transfusionsmedizin.....	10
2.2.1 Definition Blutgruppen .....	10
2.2.2 Erythrozytenantigene (DEA-System).....	12
2.2.3 Immunologische Reaktionen gegen Blutgruppenantigene.....	17
2.2.3.1 Alloantikörper und ihre Bildung.....	17
2.2.3.2 Vorkommen und klinische Bedeutung natürlicher Antikörper .....	18
2.2.3.3 Transfusionsreaktionen .....	18
2.3 Bluttransfusion.....	23
2.3.1 Indikation zur Bluttransfusion.....	24
2.3.1.1 Vollblut.....	25
2.3.1.2 Blutkomponenten.....	26
2.3.2 Spenderauswahl.....	29
2.3.3 Technik der Blutentnahme.....	31
2.3.4 Herstellung von Blutkomponenten.....	33
2.3.5 Lagerung und Konservierung von Blut und Blutprodukten.....	33
2.3.6 Technik der Bluttransfusion .....	35
2.3.7 Kreuztest .....	36
2.4 Methodik der Serologie.....	38
2.4.1 Serumgewinnung.....	38
2.4.2 Erythrozytengewinnung .....	39
2.4.3 Nachweis antierythrozytärer Antikörper .....	39
<b>3 MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>42</b>
A. Erster Teil: Transfusionsversuch.....	45

---

3.1 Spender: Auswahl und Blutgruppentypisierung .....	45
3.2 Empfänger: Auswahl und Blutgruppentypisierung .....	48
3.3 Bluttransfusion.....	50
3.3.1 Technik der Blutentnahme.....	50
3.3.2 Technik der Blutübertragung .....	51
3.4 Klinische Untersuchung der Spender und Empfänger.....	52
3.5 Labordiagnostische Untersuchung der Spender und Empfänger .....	52
3.5.1 Blutuntersuchung.....	53
3.5.2 Urinuntersuchung .....	54
3.6 Nachweis der Alloimmunisierung.....	55
3.6.1 Blutentnahme bei den Spendern und Separation der Erythrozyten.....	55
3.6.2 Nachweis antierythrozytärer Antikörper .....	56
B. Zweiter Teil: Patienten.....	58
3.7 Anämiediagnostik .....	58
3.8 Indikation zur Bluttransfusion.....	59
3.9 Auswahl der Blutspender.....	59
3.10 Durchführung der Transfusion .....	60
3.11 Probengewinnung und -aufbereitung.....	60
3.12 Nachweis antierythrozytärer Antikörper .....	61
3.13 Statistische Methoden .....	61
<b>4 ERGEBNISSE .....</b>	<b>63</b>
A. Erster Teil: Transfusionsversuch.....	63
4.1 Klinische Untersuchung .....	63
4.2 Blutuntersuchung.....	66
4.3 Urinuntersuchung .....	71
4.4 Nachweis antierythrozytärer Antikörper .....	71
4.4.1 Kreuztest .....	72
4.4.2 Hämolysetest.....	72
4.4.3 Direkter Agglutinationstest.....	74
4.4.4 Indirekter Agglutinationstest .....	77
B. Zweiter Teil: Patienten.....	85
4.5 Häufigkeit von Anämien und Vollbluttransfusionen im Patientengut .....	86

---

4.6	Klinische Untersuchung .....	97
4.7	Blutuntersuchung.....	100
4.8	Urinuntersuchung .....	105
4.9	Nachweis antierythrozytärer Antikörper .....	107
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>113</b>
A.	Erster Teil: Transfusionsversuch.....	113
5.1	Klinische Untersuchung .....	114
5.2	Blutuntersuchung.....	116
5.3	Urinuntersuchung .....	121
5.4	Nachweis antierythrozytärer Antikörper .....	122
5.4.1	Kreuztest .....	123
5.4.2	Hämolysetest.....	125
5.4.3	Direkter Agglutinationstest.....	126
5.4.4	Indirekter Agglutinationstest .....	127
B.	Zweiter Teil: Patienten.....	133
5.5	Häufigkeit von Anämien und Vollbluttransfusionen im Patientengut .....	134
5.6	Klinische Untersuchung .....	137
5.7	Blutuntersuchung.....	138
5.8	Urinuntersuchung .....	141
5.9	Nachweis antierythrozytärer Antikörper .....	142
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>150</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>154</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>157</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>184</b>

## Abkürzungsverzeichnis

---

### Im Text verwendete Abkürzungen

ACD	=	Acidum citricum, Dextrose
AIHA	=	Autoimmune hämolytische Anämie
AITP	=	Autoimmune Thrombozytopenie
ALT	=	Alaninaminotransferase
AP	=	Alkalische Phosphatase
AST	=	Aspartataminotransferase
ATA	=	Antithrombozytäre Antikörper
ATP	=	Adenosintriphosphat
bzw.	=	beziehungsweise
C	=	Celsius
C3	=	Komplementfaktor 3
ca.	=	zirka
CD	=	Cluster of Differentiation
CEA	=	Canine Erythrocyte Antigen
CPDA-1	=	Citrat, Phosphat, Dextrose, Adenin
DEA	=	Dog Erythrocyte Antigen
d.h.	=	das heißt
DIC	=	Disseminated Intravascular Coagulation
DLA	=	Dog Lymphocyte Antigen
2,3-DPG	=	2,3-Diphosphoglycerat
EDTA	=	Ethylendiamin-Tetraessigsäure
et al.	=	et alii
etc.	=	et cetera
FBI-Mischling	=	Foxhound-Mischling der Harlan Winkelmann GmbH
Fc	=	fragment crystalline
FFP	=	Fresh Frozen Plasma
FP	=	Frozen Plasma
g	=	Gramm, Fallbeschleunigung ( $g=9,81 \text{ m/sec}^2$ )
G-CSF	=	Granulocyte-Colony Stimulating Factor
ggr.	=	geringgradig
GLDH	=	Glutamat-Dehydrogenase
GOT	=	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	=	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
h	=	Stunde
hgr.	=	hochgradig
HLA	=	Human Leucocyte Antigen
h.s.	=	hoch signifikant
HTLV	=	Human T-Cell Leucemia Virus

## Abkürzungsverzeichnis

---

IAP	=	Integrin-assoziiertes Protein
i.e.	=	id est
IgA	=	Immunglobulin A
IgE	=	Immunglobulin E
IgG	=	Immunglobulin G
IgM	=	Immunglobulin M
IHA	=	Immunhämolytische Anämie
IL	=	Interleukin
IMT	=	Immunmedierte Thrombozytopenie
IU	=	International Unit
kg	=	Kilogramm
KM	=	Körpermasse
l	=	Liter
LDH	=	Laktatdehydrogenase
M	=	Männlich, molar
MCH	=	Mean Corpuscular Hemoglobin
MCHC	=	Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
MCV	=	Mean Corpuscular Volume
mgr.	=	mittelgradig
MHC	=	Major Histocompatibility Complex
MHCCafa	=	MHC Canis familiaris
min	=	Minute
MK	=	Männlich-kastriert
ml	=	Milliliter
mm	=	Millimeter
MPS	=	Monozytäres Phagozytensystem
MTS	=	Micro Typing System
MVK I	=	Medizinische und Gerichtliche Veterinärklinik I, Innere Krankheiten der Kleintiere, Justus-Liebig-Universität Gießen
µl	=	Mikroliter
µm	=	Mikrometer
n	=	Probandenzahl
NaCl	=	Natriumchlorid
NI	=	Neonatale Isoerythrolyse
Nr.	=	Nummer
n.s.	=	nicht signifikant
O <sub>2</sub>	=	Sauerstoff
o.b.B.	=	ohne besonderen Befund
p	=	Signifikanz
PAF	=	Plättchenaktivierender Faktor
PBS	=	Phosphate Buffered Saline

## Abkürzungsverzeichnis

---

PCR	=	Polymerase Chain Reaction
PCV	=	Packed Cell Volume
PD	=	Polydipsie
PLT	=	Platelets
pRBC	=	Packed Red Blood Cells
p.T.	=	Post Transfusionem
PTT	=	Partielle Thromboplastinzeit
PU	=	Polyurie
rEPO	=	Rekombinantes Erythropoetin
REM	=	Rasterelektronenmikroskop
RES	=	Retikuloendotheliales System
Rh	=	Rhesus-Blutgruppen
s	=	Standardabweichung
s.	=	signifikant
S.	=	Seite
sec	=	Sekunde
SEM	=	Standardfehler des Mittelwertes
SF	=	Streuaktoren
SFP	=	Stored Frozen Plasma
SIRP $\alpha$	=	Signal Regulatory Protein alpha
s.s.	=	schwach signifikant
TNF- $\alpha$	=	Tumor Necrosis Factor-alpha
TRALI	=	Transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz
TZ	=	Thrombinzeit
u.a.	=	unter anderem
usw.	=	und so weiter
V.	=	Vena
v.a.	=	vor allem
V.a.	=	Verdacht auf
VK	=	Variationskoeffizient
vWF	=	von Willebrand-Faktor
W	=	Weiblich
WB	=	Whole Blood
WBC	=	White Blood Cells
WK	=	Weiblich-kastriert
$\xi$	=	Arithmetischer Mittelwert
$\xi_g$	=	Geometrischer Mittelwert
z.B.	=	zum Beispiel
ZNS	=	Zentralnervensystem
z.T.	=	zum Teil

# 1 EINLEITUNG

Bluttransfusionen sind in der Veterinärmedizin als therapeutische Maßnahme bei einer Vielzahl von Erkrankungen indiziert (MEYERS et al., 1989; HOHENHAUS, 1992a; CALLAN, 2000a). Während in der Humanmedizin heute fast ausschließlich Blutkomponenten (Erythrozytenkonzentrat, Thrombozytenkonzentrat, Plasma, etc.) übertragen werden (GREENE, 1985; NOLTE, 1986a; HARRELL et al., 1997b), überwiegt beim Tier wegen der einfacheren technischen Durchführung in der Praxis noch die Vollbluttransfusion (HOHENHAUS, 1992a; HOWARD et al., 1992; KERL und HOHENHAUS, 1993; LUBAS, 1996).

Transfusionszwischenfälle als Folge einer Antikörperbildung gegen die Erythrozyten des Spenders sind beim Hund vielfach beschrieben (WRIGHT, 1936; KERL und HOHENHAUS, 1993; CALLAN et al., 1995; GIGER et al., 1995; CALLAN et al., 1996; HARRELL et al., 1997b). Häufig wurden dabei mehr oder weniger auffällige klinische Symptome und labordiagnostische Veränderungen beobachtet (CALLAN et al., 1996; HARRELL et al., 1997b). Allerdings fehlen gezielte Untersuchungen zum Nachweis von antierythrozytären Antikörpern nach Vollbluttransfusionen beim Hund und deren Relation zu klinischen Symptomen.

## 1.1 Aufgabenstellung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die für Transfusionszwischenfälle verantwortlichen antierythrozytären Antikörper nachzuweisen und deren klinische Bedeutung zu klären. Dadurch sollten Erkenntnisse über die posttransfusionellen Immunisierungsprozesse gewonnen werden, um die Effizienz von Transfusionen zu steigern und Schäden beim Empfänger zu vermeiden.

Dazu wurden einerseits Transfusionsversuche nach vorheriger Blutgruppentypisierung an gesunden Hunden im Rahmen eines genehmigten Tierversuches durchgeführt, andererseits Daten von Patienten aus der Medizinischen und Gerichtlichen Veterinärklinik I, Innere Krankheiten der Kleintiere (MVK I), die Vollbluttransfusionen erhalten haben, ausgewertet.

Sowohl bei den Tierversuchshunden als auch bei den Patienten wurde nach Antikörpern gegen die Erythrozyten der Spender im Serum der Empfänger gesucht und diese nach ihrer Reaktionsart als Hämagglutinine oder Hämolytine, nach ihrem Temperaturoptimum der Reaktion als Kälte- oder Wärmeantikörper sowie nach ihrer unterschiedlichen Nachweisbarkeit als komplette oder inkomplette Antikörper differenziert.

Des Weiteren erfolgte eine Auswertung der klinischen und labordiagnostischen Veränderungen sowohl bei den gesunden Hunden des Transfusionsversuches als auch bei den Patienten in Hinblick auf das Auftreten von antierythrozytären Antikörpern.

Zuletzt wurde die Häufigkeit von Anämien im Patientengut der MVK I im Vergleich zu anderen Erkrankungen mittels statistischer Methoden ermittelt und Untersuchungen hinsichtlich Rasse, Geschlecht und Alter der erkrankten Hunde durchgeführt.

## 2 LITERATURÜBERSICHT

### 2.1 Anämie

Als Anämie oder Blutarmut bezeichnet man die Verminderung von Erythrozytenzahl, Hämoglobinkonzentration oder Hämatokritwert unter die tierartspezifischen und altersentsprechenden Referenzwerte, wobei nur einer, zwei oder alle drei Parameter erniedrigt sein können (HIRSCHBERGER, 1997; KÖCK und HIRSCHBERGER, 1999; TVEDTEN und WEISS, 2000). Dies geht mit einer Verminderung der Sauerstofftransportkapazität des Blutes einher, und ihr Auftreten ist im Verlauf vieler klinischer und subklinischer Erkrankungen möglich (ROGERS, 2000). Die Blutarmut kann von einer Form in die andere übergehen und dabei unterschiedliche klinische Symptome hervorrufen (KÖCK und HIRSCHBERGER, 1999).

#### 2.1.1 Diagnostik

Abhängig vom Ausprägungsgrad, drängt sich schon mit der Anamnese in manchen Fällen der Verdacht auf das Vorliegen einer Anämie auf. Meistens sind aber die auftretenden Symptome unspezifisch, wie z.B. Mattigkeit, Leistungsschwäche und Tachy-Dyspnoe. Bei der klinischen Untersuchung eines Patienten mit Anämie lassen sich häufig blasse Schleimhäute, Tachykardie mit einem Pulsus durus, systolische Strömungsgeräusche sowie z.T. Ikterus feststellen (ROGERS, 2000). Blutungen, die zu einem akuten und hochgradigen Blutverlust über ein Drittel des regulären Blutvolumens führten, können Schocksymptome verursachen (KÖCK und HIRSCHBERGER, 1999).

Neben der klinischen Untersuchung kommen vor allem labordiagnostische Methoden bei der Diagnostik von Anämien zum Einsatz (HIRSCHBERGER, 1997). An erster Stelle steht die Untersuchung des roten Blutbildes zur definitiven Feststellung der Blutarmut, daran anschließend die Betrachtung der Erythrozytenmorphologie und die Bestimmung der Retikulozytenzahl (TVEDTEN und WEISS, 2000). Zur genaueren Einteilung der Anämie werden weitere

hämatologische, serologische und Knochenmarkuntersuchungen durchgeführt (HIRSCHBERGER, 1997).

### 2.1.2 Einteilung

Die Einteilung der Anämien kann nach der Morphologie (mikro-, normo- oder makrozytär) und dem Hämoglobingehalt (hypo-, normo- oder hyperchrom) der Erythrozyten erfolgen. Dazu müssen die Erythrozytenindizes MCV (Mean Corpuscular Volume), MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin) und MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration) aus den Werten des Hämatokritwertes, des Hämoglobins und der Erythrozytenzahl berechnet werden (TVEDTEN und WEISS, 2000). Diese Einteilung gibt ungefähre Hinweise auf die Ätiologie der vorliegenden Blutarmut (HIRSCHBERGER, 1997; KÖCK und HIRSCHBERGER, 1999).

Das Ziel eines Klinikers ist jedoch die Einteilung nach der Pathogenese (HIRSCHBERGER, 1997; SCHAEFER, 1999), da sowohl die Prognose als auch die Therapie davon abhängen (KÖCK und HIRSCHBERGER, 1999). Als die zwei grundsätzlichen Ursachen für eine Anämie kommen entweder eine verminderte Bildung oder ein erhöhter Verlust von Erythrozyten in Frage (TVEDTEN und WEISS, 2000; ROGERS, 2000). Zur Unterscheidung dieser zwei Formen ist die absolute Zahl der Retikulozyten entscheidend (FERNANDEZ und GRINDEM, 2000): Ist diese auch bei wiederholten Bestimmungen unter  $60 \times 10^9/l$ , dann liegt eine nichtregenerative Anämie auf Grund einer verminderten Erythropoese vor (HIRSCHBERGER, 1997; ROGERS, 2000). Hingegen spricht man von einer regenerativen Anämie, wenn die Retikulozytenzahl über  $80 \times 10^9/l$  liegt. Bei Werten zwischen  $60$  und  $80 \times 10^9/l$  müssen Kontrolluntersuchungen über z.T. auch längere Zeit hinweg durchgeführt werden, um einen eindeutigen Befund zu erhalten (FERNANDEZ und GRINDEM, 2000). Beim Hund dauert es im Allgemeinen zwei bis fünf Tage, bis nach einem akuten Blutverlust über die Aktivierung des Knochenmarks die Retikulozytenzahl deutlich ansteigt (TVEDTEN, 1999; ROGERS, 2000).

Eine regenerative Anämie kann wiederum zwei Ursachen haben, nämlich einerseits Blutverluste auf Grund von Blutungen, andererseits übermäßiger Abbau

von Erythrozyten (FERNANDEZ und GRINDEM, 2000). Im ersten Fall spricht man von einer Blutungsanämie, im zweiten von hämolytischer Anämie. Diese zwei Formen einer Blutarmut können durch gezielte klinische, labordiagnostische und physikalische Untersuchungen unterschieden werden (TVEDTEN und WEISS, 2000).

Bei einer Blutungsanämie kann man meist die Symptome der Blutung am Patienten feststellen, wie z.B. Petechien, Hämatome, Epistaxis oder Meläna (MAHONY, 2000; CALLAN, 2000b). Zusätzlich ist typischerweise das Gesamteiweiß im Serum erniedrigt. Liegt die Ursache der Blutung in einer Störung des Blutgerinnungssystems, können auch Veränderungen der Thrombozytenzahl oder der Gerinnungsfaktoren nachgewiesen werden (TVEDTEN und WEISS, 1999). Bei chronischen Blutungen, wie zum Beispiel Ulzera der Magen- und Dünndarmschleimhaut, kommt es nach längerer Zeit zu einem deutlichen Eisenmangel, der sich als eine mikrozytäre, hypochrome Anämie manifestiert (KÖCK und HIRSCHBERGER, 1999).

Hämolytische Anämien zeigen als häufigste klinische Symptome eine Hämoglobinurie und Ikterus (GIGER, 2000b). Im Labor sind hämolytisches oder ikterisches Blutplasma und eine Erhöhung der neutrophilen Granulozyten (PALTRINIERI et al., 1998; SCHULTZE, 2000), des Bilirubin I und der LDH die häufigsten Befunde (SCHAEFER, 1999). Oftmals findet man auch eine Sphärozytose der Erythrozyten (vor allem bei immunhämolytischen Anämien) und Heinz-Innenkörperchen (TVEDTEN und WEISS, 1999).

Nichtregenerative Anämien als Folge einer mangelhaften Erythropoese können durch primäre oder sekundäre Knochenmarkerkrankungen verursacht werden (ROGERS, 2000). Ab einem Kapazitätsverlust der pluripotenten Stammzellen von über 90% kann der physiologische Verbrauch nicht mehr gedeckt werden und als Konsequenz entwickelt sich eine Panzytopenie (LUND, 2000). Dementsprechend variieren die klinischen Symptome und die labordiagnostischen Veränderungen (TVEDTEN und WEISS, 1999). Bei primären Störungen der Erythropoese sind abgesehen von blassen Schleimhäuten keine typischen Symptome zu erwarten (COTTER, 2000). Die Anzeichen für sekundäre Knochenmarkerkrankungen hängen von der Grunderkrankung ab und sind daher vielfältig. PALTRINIERI et al. (2000) geben als wesentlichen Parameter bei nichtregenerativen Anämien eine verminderte Aktivität der Pyruvatkinase der Erythrozyten an. Als spezifische

Ursachen für nichtregenerative Anämien kommen Entzündungen, Nierenerkrankungen, Tumoren, Lebererkrankungen, Mangelernährung (Vitamin B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C, Folsäure, Eisen), endokrine Erkrankungen und Intoxikationen (Blei) vor (TVEDTEN und WEISS, 1999; FERNANDEZ und GRINDEM, 2000).

### 2.1.3 Therapie

Wie bei jeder anderen Erkrankung wird auch bei Anämien eine ätiologische Therapie angestrebt (SCHAEFER, 1999). Diese ist aber oftmals nicht möglich, wenn nämlich die Grunderkrankung als solche nicht therapierbar ist (TVEDTEN und WEISS, 1999). Deshalb kann in vielen Fällen nur eine symptomatische Behandlung durchgeführt werden. Je nach Art der Anämie besteht sie darin, eine Blutung zu stoppen, eine Hämolyse zu beenden oder die Erythropoese zu steigern (CALLAN, 2000a), um damit dem Organismus Zeit und die Möglichkeit zu geben, neue Erythrozyten nachzubilden und die Anämie zu überstehen. Besonders bei regenerativen Anämien wird das Hauptaugenmerk darauf gelegt, die Begleiterscheinungen der Anämie zu bekämpfen. Hier spielt neben dem Einsatz von Medikamenten die Vollbluttransfusion eine wichtige Rolle (KUBANKEK und WAGNER, 1996).

Die Feststellung einer Anämie alleine ist keine Diagnose, sondern nur ein Befund einer zugrunde liegenden Erkrankung und bedarf einer ursächlichen Abklärung (ROGERS, 2000). Eine Anämie ohne Diagnose kann daher nur dann eine Indikation zur Transfusion sein, wenn sie lebensbedrohliche Dimensionen annimmt (KUBANKEK und WAGNER, 1996). Die Übertragung von Blut dient vor allem dazu, einen Mangel an Blut bzw. seiner Komponenten für eine gewisse Zeit zu beheben. Das ist insofern von großer Bedeutung, da die Transfusion alleine die Anämie nicht heilt, sondern nur eine vorübergehende Stabilisierung bewirken kann (PICHLER und TURNWALD, 1985). Diese ist aber oftmals ausreichend, um unter Umständen lebensrettend zu sein (CALLAN, 2000a). In der Behandlung von Anämien beim Hund setzt sich zunehmend der Einsatz von Erythrozytenkonzentraten (Packed Red Blood Cells, pRBC) gegenüber Vollbluttransfusionen durch (STONE et al., 1992; CALLAN et al., 1996; CALLAN, 2000a).

In den letzten Jahren wurden Blutersatzstoffe entwickelt, die z.T. auch bei Anämien des Hundes zum Einsatz kamen (modifizierte Hämoglobinlösungen z.B. Oxyglobin®, BIOPURE, Boston, USA, Perfluorocarbon-Lösung, rekombinantes Hämoglobin). Sie bewirken im Wesentlichen eine Erhöhung der Sauerstofftransportkapazität und wurden v.a. bei akuten hämolytischen Anämien infundiert (KILLINGSWORTH, 1984; VLAHAKES et al., 1990; HARRINGER et al., 1992; HOWARD et al., 1992; RENTKO, 1992; WASCHKE et al., 1994; LANGERMANS et al., 1996; HUGHES et al., 1996; RENTKO, 2000; TSAI et al., 2000; GIGER, 2000a; CALLAN, 2000a).

Auch die Applikation von Zytokinen, wie z.B. Erythropoetin (rekombinantes humanes oder kanines Erythropoetin, rEPO) oder Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF), wurde zur Stimulation des Knochenmarks bei Patienten mit Tumoren, Neutropenien oder chronischem Nierenversagen regelmäßig durchgeführt (SMITH, 1991; BORNHÄUSER et al., 1997; COWGILL et al., 1998; BOONE et al., 1998; SCHAEFER, 1999; RANDOLPH et al., 1999; NEUMANN et al., 1999; KUFFER-FRANK et al., 1999; LUND, 2000; GIGER, 2000a).

Obwohl in den Frühzeiten der veterinärmedizinischen Transfusionsmedizin heterologe Blutübertragungen bzw. Interspezies-Transfusionen (d.h. Blut von verschiedenen Spezies) durchaus gebräuchlich waren (NOLTE, 1986a), gelten sie heute als vollkommen kontraindiziert (SMITH et al., 1989; HAARER, 1992). Nur bei Vögel wie z.B. Papageien wird diese Art der Transfusion unter Umständen noch durchgeführt (HOEFER, 1992).

## 2.2 Immunologische Grundlagen der Transfusionsmedizin

### 2.2.1 Definition Blutgruppen

Blutgruppen sind definiert als erbliche, antigene Determinanten von Blutbestandteilen, die nach Übertragung auf ein allogenetisches Individuum eine Immunantwort induzieren (LANDSTEINER, 1931; GRÜNBAUM, 1993) und sich deshalb mittels spezifischer Antikörper nachweisen lassen (ANDREWS, 2000).

Sie sind speziesspezifisch (BULL, 1989; GIGER, 2000a), können auch von anderen Körperzellen exprimiert werden (RUBINSTEIN et al., 1968) und bleiben lebenslang erhalten (KOCH und NIEßEN, 1973). Deshalb werden sie auch für Abstammungskontrollen oder gerichtsmedizinische Untersuchungen eingesetzt (STORMONT, 1982; MARGAN, 1996).

Im weiteren Sinn können also alle möglichen Blutkomponenten (z.B. Serumproteine, Oberflächenstrukturen von Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten, intrazelluläre Komponenten) als Blutgruppen bezeichnet werden. So ist beim Hund z.B. das Dog Lymphocyte Antigen-System (DLA) bzw. MHCCafa mit drei Genloci als Haupthistokompatibilitätskomplex (Major Histocompatibility Complex, MHC) beschrieben (BULL, 1982; BULL et al., 1987; BULL, 1989; HALE und GERLACH, 2000).

Im engeren Sinn meint der Ausdruck Blutgruppen allerdings immunogene Membranbestandteile auf den Erythrozyten, welche durch Agglutination oder Hämolyse nach Reaktion mit spezifischen Antikörpern nachgewiesen werden (MELNICK und COWGILL, 1937; BULL, 1989; GRÜNBAUM, 1993; DAHR, 1996).

Der Blutgruppenphänotyp beschreibt die serologisch bestimmbaren Blutgruppeneigenschaften. Die dem Genotyp zugehörigen Gene lassen sich nicht immer aus der Serologie ableiten. Sie sind in der Regel durch Familienuntersuchungen zu ermitteln (COLLING und SAISON, 1980a; DAHR, 1996), da Blutgruppen nach den Mendelschen Regeln vererbt werden (COHEN und FULLER, 1953; BULL, 1989; GRIOT-WENK et al., 1996).

In der Blutgruppenserologie werden je nach ihrer Herkunft zwei Antikörperarten unterschieden: Einerseits gibt es präformierte, gegen Erythrozytenantigene der eigenen Tierart gerichtete, sogenannte natürliche Antikörper (Isoantikörper, Normalantikörper), andererseits nach Immunisation gebildete Antikörper (Alloantikörper, Immunantikörper). Heteroantikörper sind gegen Blutgruppenantigene anderer Spezies gerichtet (KOCH und NIEßEN, 1973; GRÜNBAUM, 1993).

Die natürlichen oder Isoantikörper sind schon ohne vorherigen Kontakt mit anderen Blutgruppenantigenen vorhanden und können daher auch bei einer Ersttransfusion zu Zwischenfällen führen, wenn blutgruppenungleiches Blut übertragen wird. Das ABO-System des Menschen (LANDSTEINER, 1900) oder

das AB-System der Katze basiert auf solchen präformierten Antikörpern (AUER und BELL, 1981; GIGER und BÜCHELER, 1991; HAARER und GRÜNBAUM, 1993a; GRIOT-WENK et al., 1996).

Im Gegensatz dazu entstehen Immunantikörper oder Alloantikörper erst nach einem Kontakt mit blutgruppenungleichem Blut, wie z.B. nach einer Transfusion oder Schwangerschaft. Dabei gibt es stärkere und schwächere immunogene Blutgruppensysteme (YOUNG et al., 1951a), dementsprechend sind die Reaktionen bei Folgetransfusionen mit Blut derselben Blutgruppenantigene unterschiedlich. Das DEA 1-System des Hundes oder das Rhesus-System (Rh) beim Menschen (LANDSTEINER und WIENER, 1940) sind ein Beispiel für diese Antikörperart (SWISHER, 1954; SWISHER und YOUNG, 1961).

### 2.2.2 Erythrozytenantigene (DEA-System)

Die Blutgruppenantigene im engeren Sinn als vererbte, charakteristische Oberflächenantigene der Erythrozyten (ANDREWS, 2000) bestehen aus Glykolipiden oder Glykoproteinen, die Bestandteile der Zellmembran sind (HALE, 1995; DAHR, 1996). Beim Hund bezeichnet man diese erythrozytären Blutgruppensysteme als DEA (Dog Erythrocyte Antigen), welche mit fortlaufenden Ziffern nummeriert werden. Bei gesunden Hunden sind diese Oberflächenmerkmale mitverantwortlich für die Erkennung der körpereigenen Zellen (HALE, 1995). Da die Blutgruppenantigene auch Rezeptoren für die Bindung von Viren, Bakterien oder Parasiten darstellen können, sind sie außer für immunbedingte Transfusionsreaktionen auch für sekundäre immunhämolytische Anämien verantwortlich (HALE, 1995; DAHR, 1996).

Zum Nachweis der Blutgruppen beim Hund werden Agglutinations- und Hämolysetests eingesetzt (SWISHER et al., 1953a; TIZARD, 2000a). Die Oberflächenantigene auf den Erythrozyten können mittels polyklonaler Antikörper, die von Hunden nach Alloimmunisation (SUZUKI et al., 1975) gewonnen werden, oder unter Einsatz monoklonaler Antikörper bestimmt werden. Zur Zeit steht nur ein monoklonaler Antikörper von der Maus gegen das Blutgruppenmerkmal DEA 1.1 zur Verfügung (ANDREWS et al., 1992; KOHN et al., 1998). Polyklonale Antikörper können an mehreren Epitopen der unterschiedlichen

Oberflächenstrukturen binden und dadurch eine geringere Spezifität als monoklonale Antikörper aufweisen (CORATO et al., 1997; MORITZ et al., 1998; HONGO, 1999; MORITZ et al., 1999).

Das derzeit gültige Schema des DEA-Systems beinhaltet neun Antigene, nämlich DEA 1.1, 1.2, 1.3, 3, 4, 5, 6, 7 und 8, wobei für DEA 1.3, 6 und 8 keine Antisera zur Typisierung mehr verfügbar sind (HALE, 1995; ANDREWS, 2000). Teilweise wird für die Blutgruppen beim Hund noch die ältere Klassifikation mit Buchstaben oder der Abkürzung CEA (Canine Erythrocyte Antigen) verwendet (TANGNER, 1982; ANDREWS, 2000). Mehrere Autoren schlagen hingegen eine modifizierte Bezeichnung der Hundebloodgruppen mit Groß- und Kleinbuchstaben und Zahlen vor, um die verschiedenen Allele der Blutgruppengenotypen zu unterscheiden (COLLING und SAISON, 1980a; ANDREWS, 2000). Die Nomenklatur mit Buchstaben bedeutet nicht, dass es sich um die selben morphologischen Oberflächenstrukturen handelt, die bei anderen Tierarten oder dem Mensch den selben Buchstaben besitzen (COHEN und FULLER, 1953; SWISHER und YOUNG, 1961; MOORE, 1976).

In der Tabelle 1 wird ein Überblick über die Blutgruppen beim Hund und ihre Häufigkeit in der Population gegeben (nach COHEN und FULLER (1953), SWISHER und YOUNG (1961), KAMEL und EZZAT (1968c), BOWDLER et al. (1971), SYMONS und BELL (1992a), HALE (1995), GIGER (1998) und ANDREWS (2000)).

Tabelle 1: Blutgruppen beim Hund und ihre Häufigkeit

DEA-System	„Alte“ Klassifikation	„Vorgeschlagene“ Klassifikation	Häufigkeit in der Population (%)
1.1	A, A <sub>1</sub> , CEA 1	Aa <sub>1</sub>	33-55
1.2	A <sup>2</sup> , A <sub>2</sub> , CEA 2	Aa <sub>2</sub>	4-22
1.3	A <sub>3</sub>	Aa <sub>3</sub>	Keine Angaben
3	B, CEA 3	Ba	5-31
4	C, CEA 4	Ca	29-100
5	D, CEA 5	Da	8-25
6	F, CEA 6	Fa	60-99
7	Tr, CEA 7	Tr <sup>Tr</sup> , Tr <sup>0</sup>	8-54
8	He, CEA 8	Keine Angaben	17-40

Die großen Variationen in den Häufigkeitsverteilungen der einzelnen Blutgruppen lassen sich durch geografische und rassebedingte Unterschiede erklären oder basieren auf geringen Probandenzahlen (SYMONS und BELL, 1992a; KOHN et al., 1998; GIGER, 1998).

Die Blutgruppen beim Hund werden unabhängig voneinander nach den Mendelschen Regeln vererbt, so dass ein Hund mehrere Blutgruppen gleichzeitig besitzen kann (KAMEL und EZZAT, 1968b; TIZARD, 2000a). Eine Ausnahme davon sind die Gruppen DEA 1.1, 1.2 und 1.3. Hierbei handelt es sich um ein Blutgruppensystem mit multiplen Allelen (d.h. es ist ein polymorphes System), wobei jedes Individuum nur einen Phänotyp aufweisen kann. Das dritte Allel im Blutgruppensystem A, DEA 1.3, wurde 1991 von SYMONS und BELL (1991) beschrieben und bisher nur in Australien nachgewiesen. Bei dem A-System handelt es sich also um ein dreifaktorielles System mit vier möglichen Phänotypen (nämlich DEA 1.1, 1.2, 1.3 und DEA 1 negativ), die autosomal dominant vererbt werden. Bei Fehlen aller Allele ist der betreffende Hund DEA 1 negativ (HALE, 1995).

Das Blutgruppensystem DEA 1 mit den Allelen 1.1, 1.2 und 1.3 und dem Nulltyp DEA 1<sup>-</sup> besitzt die höchste immunologische Potenz (SWISHER und YOUNG, 1961) und ist deshalb von größter klinischer Bedeutung bei Transfusionen. Es wird angenommen, dass Antikörper gegen eines der drei Antigene eine Kreuzreaktion mit den anderen Antigenen dieses Blutgruppensystems zeigen können (ANDREWS, 2000). Ca. 60-70% aller Hunde besitzen ein DEA 1-Antigen, wobei natürliche Antikörper nicht nachgewiesen sind (TIZARD, 2000a).

Das DEA 3-System ist ein einfaktorielles System mit zwei Phänotypen, wobei DEA 3<sup>+</sup> dominant gegenüber DEA 3<sup>-</sup> ist. Natürlich vorkommende Antikörper wurden bei ca. 20% aller DEA 3-negativen Hunde gefunden (HALE, 1995). Nach Immunisierung können bei blutgruppenungleichen Transfusionen hinsichtlich der Blutgruppe DEA 3 schwere akute Transfusionsreaktionen auftreten (ANDREWS, 2000). Die Inzidenz in der Hundepopulation scheint rasseabhängig zu sein, denn HALE (1995) berichtete von 23% DEA 3-positiven Hunden in einer Greyhoundpopulation im Vergleich zu ca. 6% in der Gesamtpopulation.

Der Blutgruppe DEA 4 liegt ebenfalls ein einfaktorielles System mit zwei Phänotypen zugrunde, allerdings wurden bisher noch keine natürlich vorkommenden Antikörper gefunden (ANDREWS, 2000). Annähernd alle untersuchten Hunde besaßen diese Blutgruppe, die Inzidenz lag bei 98% (SWISHER et al., 1962). Obwohl DEA 4-negative Hunde nach Immunisierung durch Transfusionen Antikörper gegen dieses Antigen produzieren, zeigen sie weder einen beschleunigten Abbau der übertragenen Erythrozyten (SWISHER et al., 1962) noch eine neonatale Isoerythrolyse (YOUNG et al., 1951a). Hunde mit nur dieser Blutgruppe werden deshalb als „Universalspender“ bezeichnet (HALE, 1995).

Bei dem Blutgruppensystem DEA 5 ist ebenfalls eine einfaktorielle genetische Basis mit zwei Phänotypen nachgewiesen. Natürlich vorkommende Antikörper gegen dieses Antigen treten bei ca. 10% aller DEA 5-negativen Hunde auf (YOUNG et al., 1952; SWISHER et al., 1962). Die Inzidenz in der Hundepopulation liegt bei etwa 23-30% (HALE, 1995). Nach Immunisierung beschrieben SWISHER et al. (1962) eine Sequestration der transfundierten Erythrozyten und deren Abbau innerhalb von drei Tagen. Eine Isoerythrolyse bei neugeborenen Hundewelpen ließ sich nicht auslösen (YOUNG et al., 1952).

Das DEA 6-System ist ein einfaktorielles System mit zwei Phänotypen (so wie auch DEA 3, 4 und 5) und hat mit fast 100% Inzidenz eine sehr weite Verbreitung (SWISHER und YOUNG, 1961), wobei Rasse- und regionale Unterschiede in seiner Häufigkeit vorkommen (ANDREWS, 2000). Natürliche Antikörper wurden bisher nicht nachgewiesen, doch nach Immunisation findet ein beschleunigter Abbau der transfundierten Erythrozyten statt (SWISHER und YOUNG, 1961).

Das DEA 7-System besteht aus einem löslichen Antigen (Tr-Antigen) mit einer ähnlichen Struktur wie die Blutgruppe A beim Menschen und unterscheidet sich damit wesentlich von den anderen Blutgruppensystemen (BOWDLER et al., 1971; COLLING und SAISON, 1980b; BULL, 1982). Es handelt sich um ein zweifaktorielles System mit drei Phänotypen (COLLING und SAISON, 1980b) und kommt bei etwa 40-54% aller Hunde vor (BOWDLER et al., 1971; COLLING und SAISON, 1980a). Das Tr-Antigen ist nicht integraler Bestandteil der Erythrozytenmembran, sondern wird von Gewebezellen produziert und auf der Oberfläche der roten Blutzellen adsorbiert (GIGER, 1998). Die Expression dieses Antigens kontrolliert ein epistatisches Sekretorgan (COLLING und SAISON, 1980b; TIZARD, 2000a). Etwa 15-50% aller untersuchten DEA 7-negativen Hunde besitzen natürliche Antikörper gegen DEA 7 (SYMONS und BELL, 1992b), allerdings nur in geringen Titern (BULL, 1989; FELDMAN, 1999). Immunisierte Hunde zeigen einen antikörpervermittelten Abbau der Erythrozyten innerhalb von 72 Stunden nach Transfusion (HALE, 1995).

Über das Blutgruppenantigen DEA 8 ist wenig bekannt, zumal keine Testseren mehr verfügbar sind (ANDREWS, 2000; TIZARD, 2000a). Seine Inzidenz wird mit 40-45% angegeben (HALE, 1995).

Zusätzlich zu den oben angeführten wurden noch mehrere andere Blutgruppenantigen beschrieben und als neue Blutgruppensysteme vorgeschlagen (RUBINSTEIN et al., 1968; HALL, 1970; SUZUKI et al., 1975; EJIMA et al., 1980; COLLING und SAISON, 1980a; SYMONS und BELL, 1992a). In den meisten Fällen aber wurden keine Vergleiche mit den etablierten Blutgruppensystemen durchgeführt und die verwendeten Antiseren sind für Vergleichsstudien nicht mehr verfügbar.

### 2.2.3 Immunologische Reaktionen gegen Blutgruppenantigene

Erythrozyten besitzen charakteristische Oberflächenmoleküle an der Zellmembran, die als Antigen wirken können und durch welche die Blutgruppen determiniert werden (TIZARD, 2000c). Die meisten dieser Erythrozytenantigene sind ein integraler Bestandteil der Zellmembran und bestehen aus Glykoproteinen oder Glykolipiden, deren Funktion meist unbekannt ist (HALE, 1995; CORATO et al., 1997). Bei einer Übertragung von Erythrozyten auf einen Hund mit anderem Phänotyp können diese Antigene eine Immunantwort verursachen, welche gegen die transfundierten roten Blutzellen gerichtet ist und diese durch intravaskuläre Hämolyse oder extravaskulären Abbau zerstört (WEISBACH und ECKSTEIN, 1996). Die durch Antikörper verursachte Zellzerstörung wird klassifiziert als Überempfindlichkeitsreaktion vom Typ II (ABBAS et al., 2000b).

Diese Hypersensitivitätsreaktion vom zytotoxischen Typ beginnt mit der Bindung von Antikörpern der IgG- oder IgM-Klasse an die Antigene der Zellmembran, wodurch Immunkomplexe entstehen. Dadurch werden das Komplementsystem oder zytotoxische Killerzellen aktiviert und die betroffenen Erythrozyten abgebaut. Diese Reaktion läuft innerhalb von einigen Minuten bis einigen Tagen ab (ABBAS et al., 2000b; TIZARD, 2000c).

Die verschiedenen Erythrozytenantigene variieren in ihrer Struktur und damit in ihrer antigenen Potenz, so dass sie auch von unterschiedlicher klinischer Relevanz sind (ABBAS et al., 2000b). Außer den membrangebundenen Antigenen gibt es noch lösliche Moleküle, die frei im Serum, Speichel oder anderen Körperflüssigkeiten nachweisbar sind und passiv auf den Oberflächen der roten Blutzellen adsorbiert werden. Ein Beispiel dafür ist das DEA 7-Antigen (früher als Tr-Antigen bezeichnet) (HALE, 1995; TIZARD, 2000c).

#### 2.2.3.1 Alloantikörper und ihre Bildung

Antigene, die nicht bei allen Individuen einer Spezies vorkommen, können deshalb bei anderen Individuen dieser Spezies, denen diese Antigene fehlen, eine Immunantwort auslösen (von DUNGERN und HIRSCHFELD, 1910). Solche Antigene werden Alloantigene genannt (ältere Nomenklatur: Isoantigene), die von

ihnen induzierten Antikörper sind Alloantikörper (bzw. Isoantikörper) (WEISBACH und ECKSTEIN, 1996). Typische Vertreter von Alloantigenen sind die Blutgruppenantigene (TIZARD, 2000c). Die gegen Blutgruppen gebildeten Antikörper sind die wesentliche Ursache für immunologische Transfusionsreaktionen (WEISBACH und ECKSTEIN, 1996).

### 2.2.3.2 Vorkommen und klinische Bedeutung natürlicher Antikörper

Eine Antikörperbildung gegen fremde Blutgruppenantigene kann nicht nur nach Kontakt mit dem betreffenden fremden erythrozytären Antigen stattfinden, sondern auch ohne dass der Organismus fremden roten Blutzellen ausgesetzt war. Diese Antikörper werden als natürliche Antikörper bezeichnet (SWISHER und YOUNG, 1961; DUDOK DE WIT et al., 1967) und entstehen nach einem Kontakt mit ähnlichen oder identischen Epitopen, die in der Natur weit verbreitet sind (SWISHER und YOUNG, 1961). Solche heterophilen Antigene sind normale strukturelle Bestandteile z.B. auf Bakterien, Protozoen, Helminthen oder pflanzlichen Zellen (DAHR, 1996).

Allerdings kommen natürliche Antikörper nicht gegen alle Blutgruppenantigene vor, sind nicht bei jedem Hund nachweisbar (SYMONS und BELL, 1992b) und treten nur in niedrigen Titern auf (DUDOK DE WIT et al., 1967; LUBAS, 1996). Damit ist die klinische Relevanz der natürlich vorkommenden Antikörper beim Hund gering (SWISHER und YOUNG, 1961). Hierin besteht ein wesentlicher Unterschied zum Menschen und zu der Katze, bei denen natürlich vorkommende Antikörper eine große klinische Bedeutung in der Transfusionsmedizin besitzen (DUDOK DE WIT et al., 1967). Die beim Hund beschriebenen, natürlich vorkommenden Antikörper sind im Kapitel 2.2.2 (Seite 12) angeführt.

### 2.2.3.3 Transfusionsreaktionen

CAPON und SACHER (1989) und ROELCKE (1996) unterscheiden zwei Gruppen der unerwünschten Wirkungen von Transfusionen: Einerseits nichtinfektiöse

Nebenwirkungen und andererseits durch Blut übertragene Infektionserkrankungen (FREEMAN et al., 1994; LESTER et al., 1995; KORDICK und BREITSCHWERDT, 1997). Um die Übertragung von Infektionserkrankungen durch Blutprodukte zu vermeiden, werden in der Humanmedizin neben den serologischen Tests auch molekularbiologische Untersuchungen wie z.B. PCR und Techniken zur Inaktivierung von Krankheitserregern eingesetzt (NICHOLS und BOECKH, 2000).

Die nichtinfektiösen Nebenwirkungen sind in nichtimmunologische und in immunologische Transfusionsreaktionen einzuteilen (GRÜNBAUM, 1969; GREENE, 1985; FELDMAN, 2000). Nichtimmunologische Transfusionsreaktionen können durch folgende Faktoren ausgelöst werden:

- bakterielle oder parasitäre Kontamination der Blutkonserve (DIETZ und NAGEL, 1959; CAPON und SACHER, 1989; TABOADA et al., 1992; FREEMAN et al., 1994; KORDICK und BREITSCHWERDT, 1997),
- Hypervolämie (HARRELL et al., 1997a; BROOKS, 2000),
- Embolie durch Thromben oder Luft (KLEIN et al., 1989; STONE et al., 1994; BROOKS, 2000),
- physikalisch oder chemisch bedingte Hämolyse (CAPON und SACHER, 1989; CALLAN, 2000a),
- Zitratintoxikation mit darauf folgender Hypokalzämie (ARCHER und FRANKS, 1961; KILLEN et al., 1971; HARRELL et al., 1997a),
- Hypothermie (TURNWALD und PICHLER, 1985; HOHENHAUS, 2000b),
- chemische Bestandteile der Blutbeutel wie z.B. Weichmacher (ROELCKE, 1996).

Diese Arten von Transfusionsreaktion sind durch eine ordnungsgemäße Durchführung der gesamten Transfusion leicht zu vermeiden (HARRELL et al., 1997b). In der vorliegenden Arbeit wird das Hauptaugenmerk auf die immunologisch ausgelösten Transfusionsreaktionen gelegt.

Sind bei einer Bluttransfusion die Erythrozyten des Spenders identisch mit denen des Empfängers, dann findet keine Immunisierung statt. Wenn allerdings der

Empfänger natürliche Antikörper gegen die Spendererythrozyten besitzt, kann eine Agglutination oder Hämolyse der übertragenen roten Blutzellen auftreten, die weiterhin zu einer Opsonisierung und Phagozytose führen (HARRELL et al., 1997a). Dieses Problem ist beim Hund nur von untergeordneter Bedeutung, weil bei dieser Spezies natürlich vorkommende (präformierte) Antikörper relativ selten, und wenn, dann nur mit niedrigem Titer und geringer Affinität nachweisbar sind (DUDOK DE WIT et al., 1967).

Besitzen die Spendererythrozyten allerdings andere antigene Strukturen als die Empfängererythrozyten, d.h. wird blutgruppenungleich transfundiert, kann es zu einer Stimulierung des Immunsystems im Empfänger kommen und Antikörper (Alloantikörper) gegen die übertragenen roten Blutzellen werden gebildet (CAPON und SACHER, 1989; HARRELL et al., 1997a). Diese Alloantikörper führen zu einer Elimination der Erythrozyten mit den korrespondierenden Alloantigenen. Bei Folgetransfusionen mit dem selben Spender findet eine Boosterung mit daraus resultierender sofortiger Zerstörung der übertragenen Erythrozyten statt (PEDERSEN, 1999).

Der übermäßige Abbau einer großen Zahl von Erythrozyten führt zu deutlichen pathologischen Reaktionen im Sinne einer Typ II Überempfindlichkeitsreaktion (HARRELL et al., 1997a; TIZARD, 2000c), deren Stärke auch von der Menge der betroffenen roten Blutzellen abhängt. Die schwersten Reaktionen treten auf, wenn große Mengen an inkompatiblen Blut auf einen vorher immunisierten Hund übertragen werden, denn daraus resultiert eine massive Hämolyse (Hämolytische Transfusionsreaktion) mit Komplementaktivierung (CAPON und SACHER, 1989; PEDERSEN, 1999).

Auf Grund der Hämolyse steigt das freie Hämoglobin im Blutplasma (Hämoglobinämie) und es kann in weiterer Folge zu einer Hämoglobinurie kommen (SWISHER, 1954). Bei Menschen und auch beim Hund wird freies Hämoglobin im Blutplasma an das Plasmaeiweiß Haptoglobin gebunden und über das retikuloendotheliale System (RES) eliminiert. Nur wenn die Bindungskapazität des Haptoglobins überschritten wird, kommt es zur Ausscheidung des freien Hämoglobins über die Nieren (CAPON und SACHER, 1989; JAIN, 1993; THOMAS, 2000). Bei Akkumulation von Immunkomplexen an der Basalmembran des Glomerulums oder von Hämoglobin in den Nierentubuli kann sich eine Niereninsuffizienz entwickeln. Wahrscheinlich wird das posttransfusionelle akute

Nierenversagen beim Menschen aber durch die Ablagerung von Fibrinthromben in den Nierenkapillaren und dadurch verursachte Störung der Vaskularisation (Hypoperfusion und tubuläre Ischämie) ausgelöst (CAPON und SACHER, 1989; RAMSEY, 1994).

Bei Hunden und Katzen hingegen ist beschrieben, dass sie chromoproteinurämische Nephropathien nicht oder nur selten entwickeln (YUILE et al., 1949; HARDAWAY et al., 1956; SWISHER und YOUNG, 1961; GIGER und BÜCHELER, 1991). WEISS (1999) hält ein Nierenversagen in Folge einer Hämoglobinämie nur dann für möglich, wenn auch eine ischämische oder toxische Tubulusschädigung vorliegt.

Zusätzlich können bei einer hämolytischen Transfusionsreaktion die lysierten Erythrozyten die Blutgerinnung aktivieren und eine disseminierte intravasale Koagulation (DIC) mit Thrombozytopenie verursachen (HARDAWAY et al., 1956; CAPON und SACHER, 1989; RAMSEY, 1994; HARRELL et al., 1997a).

Die Aktivierung des Komplementsystems führt zur Freisetzung von Anaphylatoxin und vasoaktiven Substanzen und zur Degranulation von Mastzellen. Infolgedessen kann es zu einer Schocksymptomatik mit Blutdruckabfall (BLISS et al., 1959; CAPON und SACHER, 1989), Bradykardie und Atemstillstand kommen. Weitere häufig beschriebene klinische Symptome sind vermehrte Salivation, Erbrechen in Folge einer erhöhten Magensäureproduktion und Durchfall (BLISS et al., 1959), Tachykardie, Tachypnoe und Durchfall (ARCHER und FRANKS, 1961), Unruhe, Zittern, Dyspnoe, unwillkürlicher Harnabsatz, Vomitus, Fieber, Urtikaria und Schwäche (BARTH und SAGER, 1991) sowie Fieber, Gesichtssödem und Erbrechen (CALLAN et al., 1996; HARRELL et al., 1997a). Keines dieser Symptome ist allerdings pathognomonisch für eine immunmedierte Transfusionsreaktion, sondern kann auch durch die primäre Erkrankung verursacht sein (KERL und HOHENHAUS, 1993; HARRELL et al., 1997a).

Eine besondere Form der Transfusionsreaktion ist die neonatale Isoerythrolyse (NI) oder auch Hämolyse der Neugeborenen genannt, die bei vielen verschiedenen Spezies auftreten kann (YOUNG et al., 1949; YOUNG et al., 1951b; LEIDINGER und LEIDINGER, 1997; WITTEK, 1999; ANDREWS, 2000), und v.a. bei Katzen als eine Ursache für das „Fading Kitten Syndrome“ (LUBAS, 1996) große klinische Bedeutung hat (HAARER, 1992; HAARER und

GRÜNBAUM, 1993a; CASAL et al., 1996). Dabei werden die Muttertiere durch frühere Transfusionen oder den Übertritt von fetalen Erythrozyten über die Plazenta während der Trächtigkeit, wenn die Nachkommen andere Blutgruppen besitzen als sie selbst, immunisiert (HALE, 1995). Eine weitere Möglichkeit besteht darin, dass die Mutter natürlich vorkommende Isoantikörper gegen die erythrozytären Antigene der Nachkommen besitzt (GRIOT-WENK et al., 1996). Diese gegen die roten Blutzellen des Fetus gerichteten Alloantikörper werden mit dem Kolostrum vom Neugeborenen aufgenommen (CASAL et al., 1996), gelangen über die für Antikörper noch durchgängige Darmschleimhaut in dessen Blutgefäßsystem und verursachen dort eine rapide Zerstörung der Erythrozyten (HARRELL et al., 1997a).

Bei Schweinen und Pferden ist auch eine neonatale Thrombozytopenie beschrieben, welche analog zur NI auf der Übertragung von antithrombozytären Antikörpern auf das Neugeborene über die Plazenta oder das Kolostrum beruht (SCOTT, 2000a).

Neben den Erythrozytenantigenen können noch andere Bestandteile des transfundierten Blutes, v.a. Leukozyten (HARRELL et al., 1997a; BROWNLEE et al., 2000) und Thrombozyten (SCHARINGER, 1997; KIEFEL und KROLL, 1997; WARDROP et al., 1997b; KOHN et al., 2000b), aber auch Serumeiweiße (BLISS et al., 1959; BROOKS, 2000) eine immunologische Reaktion bei dem Empfänger hervorrufen (GEBHARDT, 1997). Auch die Freisetzung von Zytokinen, wie z.B. TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor-alpha), IL-1, -6 und -8 (Interleukine), durch Leukozyten kann Transfusionszwischenfälle mit Fieber, Schock, DIC und Stimulierung von Entzündungszellen verursachen (RAMSEY, 1994).

ABRAMS-OGG et al. (1993) z.B. beschrieben bei 17% aller Hunde, die mit Gammastrahlen behandeltes Thrombozytenkonzentrat erhalten hatten, klinische Symptome einer Transfusionsreaktion mit Fieber, Urtikaria, Vomitus und Anaphylaxie. Bei immunsupprimierten Patienten (z.B. Hunde, die einer Chemotherapie unterzogen werden) ist es möglich, dass durch die übertragenen Leukozyten eine Graft-versus-host-Reaktion auftritt (HÖCKER, 1991; FELDMAN, 2000).

Immunreaktionen auf Fremdeiweiße zeigten als klinische Symptome häufig Urtikaria und Gesichtssödeme (HENSON et al., 1994; FINEMAN, 1996; CALLAN et al., 1996; HARRELL et al., 1997b).

Wegen der Gefahren von Transfusionsreaktionen wird geraten, einen strengen Maßstab für die Indikation zur Bluttransfusion anzulegen, und sofern es möglich ist, Blutkomponenten anstatt Vollblut einzusetzen (KILLINGSWORTH, 1984; KRISTENSEN und FELDMAN, 1995). Zur Bestimmung der Notwendigkeit einer Bluttransfusion wurden Schemata, die klinische Symptome und labordiagnostische Befunde des Patienten beinhalten, in Anlehnung an die Humanmedizin erstellt (KERL und HOHENHAUS, 1993; REITEMEYER et al., 1999; REITEMEYER et al., 2000)

## 2.3 Bluttransfusion

Die Bluttransfusion ist als Organübertragung von einem Individuum einer Art auf ein anderes (Homoioplastik) definiert (OTTE, 1956) und wird als Form einer kurzlebigen Gewebstransplantation verstanden (BULL, 1982; ABBAS et al., 2000b), die dem schwerkranken Patienten Unterstützung bringt, bis der zugrundeliegende Krankheitsprozeß unter Kontrolle ist (HAARER, 1992).

Das Ziel der Bluttransfusion ist der temporäre Ersatz von Blut- bzw. Plasmavolumen mit seinen darin gelösten Stoffen, da Blut durch synthetische Produkte nicht zur Gänze ersetzbar ist (HAARER, 1992; FELDMAN, 2000).

Beim Einsatz von Blutkörperchen legt man besonderen Wert auf die O<sub>2</sub>-Transportkapazität der Erythrozyten und bei der Übertragung von maximal fünf Tage altem Blut auf die hämostyptische Aktivität der Thrombozyten (CALLAN, 2000a). Leukozyten weisen eine sehr kurze Halbwertszeit auf und sind daher im Empfängerorganismus nur von beschränktem Wert. Ob der vorübergehende Ersatz der Blutkörperchen auch wirklich über die maximal mögliche Zeitspanne ausgenutzt wird, ist abhängig von der Überlebenszeit der Transplantate im Empfänger (YOUNG et al., 1952; HAARER, 1992).

Die Überlebenszeit der transfundierten Blutzellen richtet sich zum einem nach dem pathophysiologischen Zustand des Empfängerorganismus, zum anderen kann sie bei mangelnder Kompatibilität durch immunologische Prozesse erheblich verkürzt werden (GRÜNBAUM, 1969). So fallen z.B. bei Patienten mit immunhämolytischer Anämie (IHA) durch Zerstörung der im Kreislauf vorhandenen Erythrozyten um so mehr Zellen dem Abbau anheim, je mehr z.B. nach einer Bluttransfusion vorhanden sind. Mit diesem vorzeitigen Transplantatabbau wird der ohnehin geschwächte und sich am Rand der Kompensation haltende Organismus zusätzlich belastet (HAARER, 1992; FELDMAN, 2000).

### 2.3.1 Indikation zur Bluttransfusion

Die Indikationen zur Bluttransfusion werden in der Literatur zur humanen und kaninen Transfusionsmedizin getrennt nach den benötigten Komponenten angegeben (HARRELL et al., 1997b), um den geschwächten Blutkreislauf und die überbeanspruchten und schlecht versorgten Organe nicht mit unnötigen Blutbestandteilen zu überlasten (FELDMAN, 2000). Bei Patienten mit öfter zu wiederholenden Transfusionen oder mit der Aussicht auf eine Knochenmarkstransplantation werden in der Humanmedizin zur Vermeidung von Sensibilisierungen gegenüber HLA-Antigenen Leukozyten-, Thrombozyten- und plasmaarme Erythrozytenkonzentrate übertragen (HAARER, 1992; KUBANKEK und WAGNER, 1996).

Die Diagnose einer bestimmten Erkrankung stellt fast nie eine zwingend notwendige Indikation zur Bluttransfusion dar (REITEMEYER et al., 1999). Vielmehr entscheidet der klinische Zustand des Patienten über eine aktuell bestehende Indikation zur Transfusionstherapie (KERL und HOHENHAUS, 1993; FELDMAN, 2000). Dabei wird den Laborparametern Hämatokritwert, Erythrozytenzahl und Hämoglobinkonzentration eine Funktion als Entscheidungshilfe zuerkannt (HOHENHAUS, 1992a), da sie eine unzureichende Gewebperfusion und Sauerstoffversorgung anzeigen und die Gefährdung des Patienten durch Schock oder Hypoxie andeuten (CALLAN, 2000a).

Klinische Symptome sind bei chronischen Anämien in der Regel ab einem Hämatokritwert unter 0,12 bis 0,15 l/l zu erwarten. Bei perakuten und akuten Anämien wie z.B. bei massiven Blutungen können die Kompensationsmechanismen des Körpers den Hämatokritwert und die Hämoglobinkonzentration längere Zeit z.B. während der ersten sechs Stunden des Schockes konstant halten (CALLAN, 2000a). Deshalb stellen die Parameter des roten Blutbildes keine verlässlichen Indikatoren für die eigentliche Situation des Patienten dar, die erst durch klinische Symptome beurteilbar wird (HARRELL et al., 1997b).

Klare Kontraindikationen für eine Blutübertragung sind Fälle von Inkompatibilität und die Interspezies transfusion (Heterologe Transfusion) (HAARER, 1992). ARCHER und FRANKS (1961) geben als weitere Kontraindikation für Vollbluttransfusionen das Vorliegen einer Hämokonzentration an. HOEFER (1992) hingegen hält die Interspezies transfusion bei Vögeln wie z.B. Papageien für vertretbar.

### 2.3.1.1 Vollblut

Das gewonnene Blut vom Blutspender mit dem Antikoagulans wird in der Transfusionsmedizin als Vollblut (Whole Blood, WB) bezeichnet. In den meisten tierärztlichen Praxen wird bei der Blutübertragung Vollblut verwendet (HOWARD et al., 1992). Ist das Vollblut nicht älter als acht Stunden, dann sind sowohl die Sauerstofftransportkapazität der Erythrozyten als auch die Koagulationsfähigkeit der Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren noch erhalten (HOWARD et al., 1992; ABRAMS-OGG, 2000; CALLAN, 2000a). Mit länger gelagertem Vollblut kann im Empfänger nur noch die Sauerstofftransportkapazität positiv beeinflusst werden.

Die wichtigste Indikation zum Einsatz von Vollblut liegt bei Patienten mit Anämie und gleichzeitigem Mangel an Gerinnungsfaktoren vor (FELDMAN et al., 1995), wie z.B. bei einer Kumarinvergiftung sowie bei Hunden mit DIC (FELDMAN, 2000). Wird Vollblut bei Patienten mit Gerinnungsstörungen ohne gleichzeitige Blutarmut eingesetzt, besteht das Risiko einer iatrogenen Polyzythämie. Die Dosierung für Vollblut beträgt je nach Hämatokritwert des Empfängers 13 bis 22 ml/kg Körpergewicht (GRÜNBAUM, 1969; HOHENHAUS, 2000a).

### 2.3.1.2 Blutkomponenten

Neben Vollblut werden in der Tiermedizin in letzter Zeit zunehmend Blutkomponenten eingesetzt (STONE et al., 1992; HENSON et al., 1994; CALLAN et al., 1996; HARRELL et al., 1997b; FELDMAN, 2000; KOHN et al., 2000a). Blutkomponenten werden durch fraktionierte Zentrifugation von Vollblut bzw. im Fall von Leukozytenkonzentraten durch spezielle Filter (BROWNLEE et al., 2000) gewonnen. Drei Gründe sprechen für die Herstellung von Blutkomponenten (REITEMEYER et al., 2000; HOHENHAUS, 2000a): Erstens die maximale Ausnutzung des nur begrenzt zur Verfügung stehenden Rohstoffes Blut, zweitens die Optimierung der möglichen Aufbewahrungszeiten der einzelnen Blutbestandteile und drittens die Vermeidung einer bakteriellen Kontamination der Blutkonserve.

Voraussetzung dafür ist die Blutentnahme unter aseptischen Kautelen in sterile Einmalblutbeutel, welche schon das Antikoagulans enthalten und zusätzlich zum Primärbeutel mit Satellitenbeuteln versehen sind. Die handelsüblichen Beutel, welche auch in der Humanmedizin verwendet werden, fassen 450 ml Vollblut. Die Entnahme und Aufbewahrung des Spenderblutes in Beutel ermöglicht die Separation des Blutes in seine Bestandteile und minimiert mechanische Traumata für die Blutzellen. Weitere Vorteile der Beutel gegenüber Glasflaschen sind der geringer Platzbedarf bei der Lagerung und das fehlende Risiko von Glasbruch (GREENE, 1985; HOHENHAUS, 2000a). Außerdem führen Glasflaschen zur Inaktivierung von Thrombozyten und sind daher bei Transfusionen zur Behandlung einer Thrombozytopenie nicht zielführend (GREENE, 1985; ABRAMS-OGG, 2000).

**Erythrozytenkonzentrat** erhält man nach Zentrifugation des Vollblutes und Abtrennung des Plasmaüberstandes in einen Satellitenbeutel. Es hat etwa einen Hämatokritwert von 0,8 l/l. Eine Einheit Erythrozytenkonzentrat entspricht der Menge an roten Blutzellen, die in 450 ml Vollblut enthalten sind und hat ein Volumen von ca. 200 ml. Die Hauptindikation ist die Erhaltung oder Wiederherstellung der Sauerstofftransportkapazität, die notwendig ist, um die Organe ausreichend zu versorgen. Es wird deshalb vor allem bei Anämien in Folge von Blutverlust, Hämolyse oder Knochenmarkerkrankungen eingesetzt (KERL und HOHENHAUS, 1993; CALLAN et al., 1996). CALLAN (2000a) gibt

auch eine Eisenmangelanämie als passende Indikation für die Übertragung von roten Blutzellen an.

Der Hämatokritwert oder die Hämoglobinkonzentration alleine dienen nicht als Entscheidungskriterium für die Notwendigkeit einer Transfusion von Erythrozytenkonzentrat. Vielmehr sind das klinische Allgemeinbefinden des Patienten, der kardiovaskuläre Status, der geschätzte Blutverlust, die Chronizität der Anämie und das Regenerationsvermögen des Knochenmarks für die Entscheidung zur Bluttransfusion ausschlaggebend (REITEMEYER et al., 2000; HOHENHAUS, 2000a).

**Blutplasma** wird durch Zentrifugation des Vollblutes mit anschließendem Überführen des Plasmaüberstandes in einen Satellitenbeutel hergestellt. Es enthält Elektrolyte, Albumin, Globulin, Gerinnungsfaktoren, andere Proteine und gelöste Stoffwechselprodukte (BROOKS, 2000). Als frisch gefrorenes Plasma (Fresh Frozen Plasma, FFP) wird Blutplasma bezeichnet, wenn es innerhalb von maximal sechs Stunden nach Blutentnahme bei unter  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren wird, später verarbeitetes Vollblut bekommt die Bezeichnung gefrorenes Plasma (Frozen Plasma, FP bzw. Stored Frozen Plasma, SFP) (FELDMAN, 2000; BROOKS, 2000). Nur bei FFP bleibt die Aktivität der labilen Gerinnungsfaktoren (v.a. Faktor VIII und V) erhalten. Als maximale Lagerungsdauer wird ein Jahr bei  $-20^{\circ}\text{C}$  angegeben (BROOKS, 2000).

Die Indikationen für den Einsatz von Plasma sind ein angeborener oder erworbener Mangel an Blutgerinnungsfaktoren (z.B. bei Kumarinvergiftung, Hämophilie A und B, von Willebrand-Krankheit, Vitamin K-Mangel und Leberinsuffizienz), eine disseminierte intravasale Gerinnung (DIC), ein Kreislauf- oder septischer Schock, als Kolostrumersatz und bei Albumin- oder Immunglobulinmangel (DODDS, 1992; HOHENHAUS, 1992a; KRISTENSEN und FELDMAN, 1995; FELDMAN et al., 1995; MISCHKE et al., 1996; BROOKS, 2000). Die empfohlene Dosis an frisch gefrorenem Plasma beträgt 6 bis 12 ml/kg Körpermasse mit einer maximalen Transfusionsgeschwindigkeit von 3 bis 6 ml/min (BROOKS, 2000).

Zu einer deutlichen Beeinflussung des Albuminspiegels sind aber wesentlich größere Mengen nötig, da zur Anhebung des Albumins um 10 g/l ca. 45 ml/kg Körpermasse (KM) transfundiert werden muss (HÄNIES et al., 1996;

HOHENHAUS, 2000a). Allerdings sind diese Angaben zur Dosierung von Plasma relativ unzuverlässig, denn v.a. das Albumin kann innerhalb kurzer Zeit vom intravasalen in den extravasalen Raum übertreten (GREENE, 1985).

**Kryopräzipitat** (bei Kälte unlösliches Globulin) ist eine Subfraktion des Blutplasmas, welche nach Auftauen von frisch gefrorenem Plasma bei 1 bis 6° C durch Zentrifugation als weißliches Präzipitat gewonnen wird. Es enthält vor allem die Gerinnungsfaktoren VIII und XIII sowie den von Willebrand-Faktor (vWF), Fibrinogen und Fibronektin (KILLINGSWORTH, 1984; BROOKS, 2000). Sein Einsatz ist deshalb zum Ersatz dieser Substanzen (STOKOL und PARRY, 1998; FELDMAN, 2000) und bei Verbrennungen angezeigt (DODDS, 1992). Der Vorteil gegenüber frisch gefrorenem Plasma liegt im geringeren Volumen des Kryopräzipitates. Wegen der aufwändigen Herstellungsweise wird es in der Veterinärmedizin jedoch selten eingesetzt (HOHENHAUS, 2000a).

Der nach der Kryopräzipitation verbleibende Überstand wird **Kryosupernatant** (Kryosuper) genannt und enthält die restlichen Plasmabestandteile (BROOKS, 2000). Sein Einsatz zielt v.a. auf den Ersatz der Vitamin K-abhängigen Gerinnungsfaktoren ab, und als Indikationen werden daher Kumarinvergiftung, Hämophilie B und Leberfunktionsstörungen angegeben (DODDS, 1992; FELDMAN et al., 1995).

**Thrombozytenkonzentrate** werden durch Zentrifugation von Vollblut hergestellt, und sind unter ständiger Bewegung bei 22° C über maximal fünf Tage lagerbar (ABRAMS-OGG et al., 1993; BUX, 1996; ALLYSON et al., 1997). MITCHELL et al. (1994) hingegen beschreiben das manuelle Schwenken des Thrombozytenkonzentrates alle 24 Stunden als gleichwertig zur kontinuierlichen Agitation. Thrombozytentransfusionen werden in der Veterinärmedizin selten durchgeführt, da einerseits die Herstellung der Thrombozytenkonzentrate aufwändig und die Lagerzeit beschränkt sind und andererseits bei einer immunmedierten Thrombozytopenie (IMT), welche beim Hund die häufigste Ursache einer Thrombozytopenie ist, die transfundierten Blutplättchen ebenso schnell abgebaut werden wie die des Patienten (FINEMAN, 1996; ABRAMS-OGG, 2000; SCOTT, 2000a).

Indikationen für den Einsatz von Thrombozytentransfusionen sind Thrombozytopenien (verursacht durch eine verminderte Produktion),

Knochenmarktransplantationen, Chédiak-Higashi-Syndrom und immunbedingte Thrombozytopenien mit Vincristin-beladenen Blutplättchen (ABRAMS-OGG et al., 1993; ABRAMS-OGG, 2000; HOHENHAUS, 2000a).

Zur Abtrennung von neutrophilen Granulozyten als **Granulozytenkonzentrate** aus dem Vollblut (Leukapherese) werden spezielle Zellseparatoren oder –filter verwendet. Da die Funktion der Granulozyten schon einige Stunden nach der Blutentnahme stark eingeschränkt ist (GEBHARDT, 1997), muss die Herstellung und Transfusion von Granulozytenkonzentraten sehr schnell erfolgen (NICHOLS und BOECKH, 2000). Als maximale Lagerungszeit gibt ABRAMS-OGG (2000) 24 Stunden an.

Angezeigt ist der Einsatz von neutrophilen Granulozyten bei Hunden mit ausgeprägter Neutropenie, wie z.B. bei einer Parvovirusinfektion (HOHENHAUS, 2000a), Knochenmarksuppression oder Sepsis (ABRAMS-OGG, 2000). Wegen der Schwierigkeiten in der Herstellung von Leukozytenkonzentraten und der Gefahr der Übertragung von leukozytenassoziierten Krankheitserregern werden zunehmend Zytokine (z.B. Granulozyten-koloniestimulierender Faktor, G-CSF) zur Stimulierung der Leukozytenproduktion im Knochenmark eingesetzt (KUFFER-FRANK et al., 1999).

Die Bearbeitung von Blutprodukten (v.a. Erythrozytenkonzentrate) mit Leukozytenfilter wird in der Humanmedizin auch durchgeführt, um eine mögliche Übertragung von Krankheitserregern wie z.B. humane lymphotrope Retroviren (Human T-Cell Leucemia Virus, HTLV) durch die weißen Blutzellen zu vermeiden (NICHOLS und BOECKH, 2000).

### 2.3.2 Spenderauswahl

Wegen der möglichen Gefahren sowohl für den Spender als auch den Empfänger dürfen nur gesunde Hunde als Blutspender eingesetzt werden. Ähnlich wie in der Humanmedizin gibt es mehrere Ausschlußgründe für eine Blutspende, nämlich wenn erstens der Spender noch nicht ausgewachsen (d.h. unter 1,5 Jahre) oder sehr alt ist, zweitens selbst schon einmal eine Bluttransfusion erhalten hat und drittens nicht regelmäßig geimpft und entwurmt ist (GIGER, 2000a). BARTH und

SAGER (1991) schlossen auch trächtige oder läufige Hündinnen von der Blutspende aus, BÜCHELER und COTTER (1992) solche, die kürzlich Medikamente bekommen haben (außer Prophylaxe gegen Dirofilariose). Um einen möglichen Blutspender als geeignet zu erkennen, ist eine sorgfältige klinische Untersuchung vor jeder Blutspende unerlässlich. Hunde mit schlechtem Allgemeinzustand oder anderen Symptomen einer Erkrankung sind von einer Blutspende auszuschließen (HOHENHAUS, 2000a).

Der ideale Spenderhund sollte mehr als 25 kg wiegen, damit er mindestens 450 ml Vollblut spenden kann. BARTH und SAGER (1991) geben als Entnahmemenge bei Einmalspendern 15 ml/kg KM an. Außerdem ist ein ruhiges Temperament (GREENE, 1985) und ein trockener Hals erwünscht, um die Punktion der Vena jugularis externa zu erleichtern (BÜCHELER und COTTER, 1992; HOHENHAUS, 1992b).

Bei jedem Blutspender müssen die Blutgruppen bestimmt werden, zumindest die am meisten immunogene Blutgruppe DEA 1.1 (KOHN et al., 1998). In Gebieten, in denen durch Blut übertragbare Infektionserkrankungen vorkommen, wird empfohlen, durch die Erhebung des Infektionsstatus des Spenders vor einer Blutspende diese auszuschließen (BÜCHELER und COTTER, 1992; FELDMAN, 2000; HOHENHAUS, 2000a).

Für Dauerblutspender gaben GRÜNBAUM und GOTTER (1973b) mittlere Entnahmemengen von 14 ml/kg KM alle drei bis vier Wochen an. Zur Unterstützung der Blutregeneration setzten sie eiweiß- und mineralstoffreiche Futtermittel ein und führten eine Eisen- und Vitamin B-Substitution durch. BÜCHELER und COTTER (1992) empfehlen, Hunde maximal alle acht Wochen als Blutspender einzusetzen.

Vor jeder Blutspende sollte außerdem eine Blutuntersuchung bei dem Spender durchgeführt werden, welche zumindest die Parameter Hämoglobin, Hämatokritwert und Erythrozytenzahl sowie bei Bedarf die Gerinnungsparameter Thrombozytenzahl, Gerinnungsfaktoren und -zeiten und den von Willebrand-Faktor (vWF) umfaßt (HOHENHAUS, 1992b; HOHENHAUS, 2000a).

### 2.3.3 Technik der Blutentnahme

In der Veterinärmedizin kommen sowohl evakuierte Glasflaschen als auch Blutbeutelssysteme, welche in der Humanmedizin ausschließlich verwendet werden, zum Einsatz (NOLTE, 1988; KAUFMAN, 1992). Wegen der oben angeführten Gründe gelangen allerdings auch beim Hund zunehmend die Plastikbeutel in Gebrauch. Sowohl bei den Flaschen als auch bei den Beuteln wird ein Antikoagulans benötigt, damit das gewonnene Blut nicht gerinnt. Beim Hund wird dafür fast ausschließlich 3,8%-iges Natrium-Zitrat im Verhältnis 1:9 zum Vollblut verwendet. Es ist auch möglich, Heparin in einer Dosis von 625 IU/50 ml Vollblut einzusetzen (HOHENHAUS, 2000a). Diese Antikoagulanzen alleine haben keinerlei konservierende Wirkung auf die Blutbestandteile, so dass so gewonnenes Blut innerhalb von acht Stunden transfundiert werden soll (MOONEY, 1992).

Um vor allem die Überlebenszeit der Erythrozyten zu verlängern, kommen verschiedene Konservierungsstoffe zum Einsatz, die eine unterschiedlich lange Halbwertszeit der roten Blutzellen gewährleisten (NOLTE, 1988). Alle diese Konservierungsstoffe enthalten Natrium-Zitrat als Antikoagulans und zusätzlich Stoffe, die für den Metabolismus der Erythrozyten und zur Stabilisierung des Milieus im Blutbeutel während der Lagerung notwendig sind (HOHENHAUS, 2000a).

Das Blut muss mittels aseptischer Methoden gewonnen werden, d.h. alle verwendeten Geräte müssen steril, pyrogenfrei und für den Einmalgebrauch hergestellt werden. Bei dem Spender werden die Haare über der Entnahmestelle geschoren und die Haut wie für einen chirurgischen Eingriff desinfiziert (GRÜNBAUM, 1969; BARTH und SAGER, 1991). Dazu eignet sich am besten 70%-iger Isopropyl-Alkohol und anschließend 2%-ige Jodlösung. Nach der Desinfektion darf die Haut an der Punktionsstelle nicht mehr berührt werden (HOHENHAUS, 2000a).

Bei ruhigen Hunden ist eine Sedation für die Blutspende nicht notwendig. Ist es allerdings nicht gewährleistet, dass der Spenderhund über 10 bis 15 Minuten ruhig hält, dann erscheint eine Sedation sinnvoll (BARTH und SAGER, 1991). Dazu werden möglichst wenig kreislaufdepressive Medikamente verwendet (HOHENHAUS, 2000a). Acepromazin als Sedativum sollte vermieden werden, da

es als Phenothiazinderivat ein Potenzial zur Hemmung der Thrombozytenfunktion hat (ABRAMS-OGG et al., 1993). Klinische Auswirkungen auf das Empfängertier durch die in der Blutkonserve zu erwartenden Rückstände an Metaboliten des verwendeten Narkotikums wurden bisher nicht beobachtet (BARTH und SAGER, 1991).

Als geeignetes Blutgefäß zur Entnahme größerer Blutmengen hat sich die Vena jugularis externa erwiesen (GRÜNBAUM und GOTTER, 1973b; PICHLER und TURNWALD, 1985). Der Blutspendehund wird mit gerade nach dorsal gestrecktem Hals und Kopf fixiert, entweder in Seitenlage, in Brust-Bauchlage oder im Stehen. Wichtig ist alleine, dass Kopf und Hals ruhig gestellt sind. Durch Druck auf die Vena jugularis externa in der Drosselgrube staut sich das Gefäß an, so dass es perkutan punktiert werden kann (KOHN et al., 2000a).

Der Blutbeutel soll möglichst tief gehalten werden, damit das Blut durch die Schwerkraft in den Beutel fließen kann. Es besteht aber auch die Möglichkeit, durch Anlegen eines Vakuums den Blutstrom zu beschleunigen (KAUFMAN, 1992; EIBERT und LEWIS, 1997). Die Füllung des Beutels wird mit einer Federwaage oder automatischer Kippwaage ermittelt (SCHNEIDER, 2000). Ist der Entnahmebeutel gefüllt, löst man erst den Stau in der Drosselgrube, entfernt die Punktionskanüle und übt mit einem sterilen Tupfer mindestens über zwei Minuten einen Druck auf die Punktionsstelle aus, um einer Hämatombildung vorzubeugen (SCHNEIDER, 2000).

Alle Blutbeutel werden mit den Identifikationsdaten des Spenders, seinen Blutgruppen, dem Datum der Blutspende und dem Verfallsdatum gekennzeichnet (BARTH und SAGER, 1991). Eine separate Blutprobe des Spenders wird für die Durchführung des Kreuztests, für eine Kontrolle der Blutgruppen oder andere Untersuchungen auf die selbe Art gekennzeichnet und an dem Entnahmebeutel befestigt. Anschließend an die Blutspende soll das Vollblut sofort zur Komponentenherstellung weiterverarbeitet werden (HOHENHAUS, 2000a).

### 2.3.4 Herstellung von Blutkomponenten

Sollen Blutkomponenten aus dem gewonnenen Vollblut hergestellt werden, dann muss das unmittelbar nach der Blutentnahme geschehen, vor allem, um die Aktivität der Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren zu konservieren (MOONEY, 1992). Für die Zentrifugation des Vollblutes gibt es unterschiedliche Literaturangaben: 25 min bei 5000 g und 1-6° C (KERL und HOHENHAUS, 1993), 4 min bei 1000 g (ABRAMS-OGG et al., 1993), 15 min bei 5000 g und 3-6° C (LUBAS, 1996), 6 min bei 4050 g und 4° C (BROWNLEE et al., 2000), 15 min bei 3600 g und 4-6° C (KOHN et al., 2000a). Nach der Zentrifugation werden die einzelnen Komponenten mit einer Plasmaquetsche in die jeweiligen Satellitenbeutel durch die angeschweißten Verbindungsschläuche überführt und anschließend die Schläuche abgeklemmt, ohne dass eine Kontamination von außen stattfinden kann (KERL und HOHENHAUS, 1993; HOHENHAUS, 2000a). Zur Gewinnung von Leukozyten, v.a. neutrophilen Granulozyten (Leukapherese) aus frischem Vollblut werden spezielle Filter eingesetzt, die je nach Bauart und Material der Filter auch die Thrombozyten mit entfernen (BROWNLEE et al., 2000).

Die Produktion und Lagerung von Blutkomponenten erlaubt eine Behandlung der Patienten nur mit den Blutbestandteilen, die tatsächlich benötigt werden. Da Plasma im Gegensatz zu Blutzellen tiefgefroren werden kann und so mindestens ein Jahr seine Aktivität behält (v.a. die der Gerinnungsfaktoren), wird durch die Herstellung von Blutkomponenten eine insgesamt bessere Ausnützung des wertvollen Rohstoffes Blut erreicht (HOHENHAUS, 2000a).

### 2.3.5 Lagerung und Konservierung von Blut und Blutprodukten

Blut und Blutprodukte sollen so gelagert werden, dass deren Qualität möglichst lange erhalten bleibt (NOLTE, 1986b). Das bedeutet für die einzelnen Blutkomponenten unterschiedliche Lagerungsbedingungen (HOHENHAUS, 1992a; KAUFMAN, 1992).

An lagerungsbedingten Veränderungen sind eine Abnahme des intrazellulären ATP und des 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG), sowie ein Abfall des pH-Wertes

und ein Anstieg des Ammoniak beschrieben (PICHLER und TURNWALD, 1985; SMITH et al., 1989; WARDROP et al., 1994). Erythrozyten nehmen im Laufe der Lagerung zunehmend eine Sphärozytenform an, woraus eine verminderte Verformbarkeit resultiert (TANGNER, 1982).

Wird Vollblut oder Erythrozytenkonzentrat gelagert, dann soll dies bei Kühlschranktemperatur (1 bis 6° C) ohne häufige Temperaturschwankungen geschehen (MOONEY, 1992). BARTH und SAGER (1991) empfehlen eine regelmäßige visuelle Kontrolle auf Hämolyseanzeichen, ohne dabei die Konserven zu bewegen, damit die mechanischen Einflüsse minimiert werden. Optimal sind spezielle Blutbankkühlschränke mit Thermometer und Temperaturalarm (HOHENHAUS, 2000a).

Um die Lagerungsfähigkeit von Erythrozyten zu verlängern, werden Konservierungsstoffe zusätzlich zum Natrium-Zitrat als Antikoagulans verwendet (siehe Kapitel 2.3.3, S. 31). Zur Zeit sind zwei verschiedene Lösungen im Gebrauch, nämlich ACD und CPDA-1: ACD (Acidum citricum, Dextrose) enthält neben Natrium-Zitrat noch Dextrose und ermöglicht eine Lagerung von Erythrozyten über 3 Wochen im Kühlschrank (SWISHER et al., 1953b; BÜCHELER und COTTER, 1992). CPDA-1 (Citrat, Phosphat, Dextrose, Adenin) beinhaltet zusätzlich noch Phosphat und Adenin und wird üblicherweise in der Transfusionsmedizin benutzt. Die Überlebenszeit der Erythrozyten beträgt damit bis zu 35 Tage (BÜCHELER und COTTER, 1994; WARDROP et al., 1998; HOHENHAUS, 2000a). GRÜNBAUM und GOTTER (1973a) geben die Lagerungszeit für Vollblut mit ACD-Stabilisator und zusätzlich Adenin und Guanodin mit bis zu vier Wochen an.

In jüngerer Zeit wurden weitere Zusatzstoffe entwickelt, die dem Erythrozytenkonzentrat zugesetzt werden, nachdem das Plasma abzentrifugiert worden ist. Sie sollen als Nährstoffe einer verlängerten Überlebenszeit der roten Blutzellen bis zu 44 Tage gewährleisten. Für den Hund wurden Nutrice<sup>®</sup> (MILES PHARMACEUTICAL DIVISION) und Adsol<sup>®</sup> (FENWAL LABORATORIES, BAXTER HEALTH CARE) evaluiert (WARDROP et al., 1994; WARDROP et al., 1997a; HOHENHAUS, 2000a).

Das Blutplasma mit den Gerinnungsfaktoren soll bei mindestens –20° C gelagert werden (SCHNEIDER, 2000). Da haushaltsübliche Tiefkühlgeräte maximal –18° C

leisten, sind diese für die Lagerung von Plasma nur eingeschränkt geeignet, da bei dieser Temperatur die Aktivität der Gerinnungsfaktoren nur für etwa 3 Monate erhalten bleibt (HOHENHAUS, 2000a).

Thrombozytenkonzentrat kann bei Raumtemperatur (20 bis 24° C) unter ständigem sanftem Schwenken bis zu ca. fünf Tage lang aufbewahrt werden (NOLTE, 1986b; GEBHARDT, 1997; KLEIN et al., 1999). Allerdings leidet die Funktionsfähigkeit der Blutplättchen bei der Lagerung, so dass empfohlen wird, sie so schnell wie möglich nach der Gewinnung zu transfundieren (HOHENHAUS, 2000a).

In der Humanmedizin wurde der Einsatz von lyophilisierten oder tiefgefrorenen Thrombozyten mit gutem Erfolg durchgeführt (READ et al., 1995), allerdings haben sich diese Arten der Plättchenkonservierung beim Hund als nicht sehr erfolgreich erwiesen (ALLYSON et al., 1997).

Neutrophile Granulozyten besitzen keine Lagerungsfähigkeit (GEBHARDT, 1997) und sollen deshalb sofort nach der Blutspende übertragen werden (KRISTENSEN und FELDMAN, 1995; HOHENHAUS, 2000a).

### 2.3.6 Technik der Bluttransfusion

Vor jeder Transfusion muss das zu übertragende Blut auf pathologische Veränderungen untersucht werden, v.a. wenn es längere Zeit gelagert wurde. Eine Braunverfärbung zeigt eine mögliche bakterielle Kontamination an (HOHENHAUS, 2000a). Die Beschriftung der Blutkonserven muß überprüft und mit den Daten in der Krankenakte verglichen werden. Die Ergebnisse der Blutgruppentypisierung und des Kreuztestes werden in der Krankenakte eingetragen. Damit beugt man einer Verwechslung von Blutbeuteln und einer daraus resultierenden möglichen Verabreichung von inkompatiblen Blut vor (HOHENHAUS, 2000a).

Außer physiologischer Kochsalzlösung (0,9%-ige NaCl) dürfen keine anderen Infusionslösungen oder Medikamente gleichzeitig mit der Blutkonserve verabreicht werden, damit keine Hämolyse der Erythrozyten oder Koagulation des Blutes auftritt (HOHENHAUS, 2000a; CALLAN, 2000a).

Sowohl Vollblut als auch Blutkomponenten werden mittels eines Transfusionsbesteckes mit integriertem Filter (170 µm) über einen Venenverweilkatheter übertragen (FELDMAN, 2000; CALLAN, 2000a). Als maximale Transfusionsgeschwindigkeit für Vollblut wird bei normovolämischen Hunden 10-20 ml/kg KM pro Stunde angegeben (CALLAN, 2000a), als Gesamtmenge an Vollblut oder Plasma empfiehlt FELDMAN (2000) 22 ml/kg KM pro Tag. Bei Hunden mit Herzinsuffizienz sollten nicht mehr als 4 ml/kg pro Stunde transfundiert werden (FELDMAN, 2000; REITEMEYER et al., 2000).

Bei sehr kleinen Hunden, z.B. Welpen oder bei Hunden mit Kreislaufkollaps, kann die Transfusion auch über einen intraossären Katheter erfolgen (HOHENHAUS, 2000a). Von einer intraperitonealen Applikation wird wegen der mäßigen Resorption abgeraten (CALLAN, 2000a).

Unabhängig von der Applikationsart und -menge empfiehlt CALLAN (2000a) eine geringe Transfusionsrate zu Beginn der Blutübertragung für ca. fünf Minuten unter klinischer Kontrolle des Empfängers (Herzfrequenz, Atemfrequenz und kapilläre Rückfüllungszeit) und das Ende der Transfusion nach spätestens vier Stunden. Zusätzlich sollen Blutplasma und Urin in Hinblick auf freies Hämoglobin untersucht werden.

### 2.3.7 Kreuztest

Die Indikation des Kreuztestes ergibt sich aus der Notwendigkeit einer Prophylaxe immunologisch bedingter Transfusionskomplikationen (HAARER, 1992; GRÜNBAUM und HAARER, 1993; WARDROP, 2000). Mit dem Kreuztest werden natürlich vorkommende bzw. bei Folgetransfusionen nach Immunisation gebildete Antikörper nachgewiesen (GIGER, 2000a). Beim Hund wurde früher oft auf diese serologische Untersuchung verzichtet, da natürlich vorkommende Antikörper nur selten auftreten (KAMEL und EZZAT, 1968a; GIGER et al., 1995) und die Bildung von in vivo relevanten Antikörpern erst immunologisch durch vorausgegangene Fremdblutkontakte induziert werden muss (HOHENHAUS, 1992a). Außerdem erschien einigen Autoren der technische Aufwand einer sicheren Blutgruppenserologie in Notfallsituationen als nicht akzeptabel (VANAMAN, 1984; KERL und HOHENHAUS, 1993).

Inzwischen setzte sich aber weitgehend die Auffassung durch, dass nicht nur immunologische Sofortreaktionen, sondern auch Unverträglichkeitsreaktionen vom verzögerten Typ zu vermeiden sind (HARRELL et al., 1997b). Außerdem ist die serologische Kontrolle nötig, um überhaupt einen nützlichen Effekt der Transfusion gewährleisten zu können. Die Therapie soll so wenig wie möglich belastend für den ohnehin geschwächten Patienten sein und darüber hinaus den Transfusionsnutzen mit höchstmöglicher Effizienz gewährleisten (FELDMAN, 2000).

Dies läßt sich nur durch eine möglichst lange Überlebenszeit der transfundierten Erythrozyten erzielen, die nur bei blutgruppengleicher Übertragung gewährleistet ist (BULL, 1982; GIGER und BÜCHELER, 1991). Die Transfusion kann also nur zum Erfolg führen, wenn serologische Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger besteht (GRÜNBAUM, 1969; GRÜNBAUM und HAARER, 1993), die ihre Steigerung durch eine Blutgruppengleichheit innerhalb aller Blutgruppensysteme erfährt (SWISHER und YOUNG, 1961; HARRELL et al., 1997a).

Auf der Suche nach einer Methode zur Überprüfung der Transfusionssicherheit lehnten OTTE (1956), GRÜNBAUM (1969), GIGER und BÜCHELER (1991) und GRÜNBAUM und HAARER (1993) die als in vivo-Test ausgerichtete biologische Vorprobe nach Oehlecker (OEHLECKER, 1928) ab, da sie durch die intravenöse Verabreichung kleiner Spenderblutvolumina geeignet ist, immunologische Reaktionen auszulösen und klinisch relevante Veränderungen nicht sichtbar macht (AUER et al., 1982; AUER und BELL, 1983; GIGER und AKOL, 1990).

In der Transfusionsmedizin beim Hund wurde die Bedeutung des Kreuztests zum Teil kontrovers diskutiert. Nach Meinung einiger Autoren ist er nur in Kombination mit zusätzlichen Typisierungstests und einer gründlichen Anamnese bezüglich früher erfolgter Transfusionen sinnvoll (PICHLER und TURNWALD, 1985). Diese Autoren bestehen zudem auf der erneuten Durchführung des Kreuztests vor jeder Wiederholungstransfusion mit bekannten Empfänger- und Spenderpartnern, da eine Sensibilisierung trotz Verabreichung typisierten und gekreuzten Blutes möglich erscheint (OTTE, 1956; GRÜNBAUM, 1969; FELDMAN, 2000; GIGER, 2000a; KOHN et al., 2000a). Allerdings werden durch den Kreuztest weder antileukozytäre noch antithrombozytäre Antikörper nachgewiesen. Deshalb kann

auch bei einem negativen Kreuztest der Empfänger eine Transfusionsreaktion mit den entsprechenden klinischen Symptomen zeigen (BULL, 1982).

Wegen der Schwierigkeiten der Blutgruppentypisierung sehen manche Autoren den Kreuztest als ausreichenden Ersatz für eine serologische Transfusionsabklärung an (KILLINGSWORTH, 1984; GREENE, 1985; HOWARD et al., 1992; HOHENHAUS, 2000b). Demgegenüber halten andere eine Typisierung der Dauerspender zur serologischen Absicherung von Bluttransfusionen für ausreichend (KERL und HOHENHAUS, 1993).

Läßt sich der Kreuztest auf Grund einer Autoagglutination oder Hämolyse der Patientenerythrozyten (wie z.B. bei immunhämolytischen Anämien) nicht eindeutig beurteilen, wird empfohlen, nur Blut von DEA 1.1-negativen Spenderhunden zu verwenden (GIGER, 2000a) und während der Transfusion ein möglichst lückenloses klinisches Monitoring durchzuführen (CALLAN et al., 1996; HARRELL et al., 1997b).

## 2.4 Methodik der Serologie

Die Blutproben, die der Bereitstellung von Serum und Erythrozyten zur Blutgruppentypisierung bzw. zum Nachweis von antierythrozytären Antikörpern dienen, können mit oder ohne Zusatz von Antikoagulanzen gewonnen werden (DUDOK DE WIT et al., 1967).

### 2.4.1 Serumgewinnung

Zur Serumgewinnung verwendet man venöses Blut ohne Zusatz von Antikoagulanzen, welches ca. 30 bis 60 Minuten bis zum vollständigen Abschluß der Blutgerinnung und Kontraktion des Blutgerinnsels stehen gelassen wird (EPSTEIN und OTTENBERG, 1909; GRÜNBAUM, 1969; HALL, 1970). DOHERR (1972) empfiehlt, vor der Zentrifugation mittels eines Glasstäbchens den Blutkuchen vorsichtig von der Wand des Serumröhrchens zu lösen. Anschließend wird das Blutserum durch Zentrifugation vom Blutkuchen getrennt und abpipettiert.

Je nach Verwendung wird das Serum sofort weiterverarbeitet oder portioniert und bei mindestens  $-20^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren (HAARER, 1992).

#### 2.4.2 Erythrozytengewinnung

Die roten Blutzellen, die für serologische Untersuchungen benötigt werden, können auf zwei Arten gewonnen werden: Einerseits durch Zentrifugieren von ungerinnbar gemachtem Vollblut (AUER und BELL, 1981) und andererseits durch Aufbrechen des Blutkuchens von geronnenem Blut (DUDOK DE WIT et al., 1967; GRÜNBAUM, 1969; HALL, 1970). Erythrozyten aus ungerinnbar gemachtem Blut müssen vor dem Gebrauch gewaschen werden (EPSTEIN und OTTENBERG, 1909), was bei den roten Blutzellen, die aus einem Koagulum gewonnen werden, nicht notwendig ist.

HAARER (1992) verglich beide Methoden an Katzenblutproben und kam zu dem Ergebnis, dass sie hinsichtlich der Nachweisempfindlichkeit von Antikörperkonzentrationen und der Reaktionsstärke gleichwertig sind. Lediglich die technische Handhabung gestaltete sich einfacher bei der Verwendung von Erythrozyten aus antikoagulierten Proben, da sie schonender und gerinnselfrei gewonnen werden können (HAARER, 1992).

#### 2.4.3 Nachweis antierythrozytärer Antikörper

Die üblichen Methoden zum Nachweis von antierythrozytären Antikörpern beruhen auf dem Prinzip einer Antigen-Antikörperbindung, die sich entweder als Hämolyse oder Agglutination der beteiligten Erythrozyten zeigt (SALAMA und MUELLER-ECKHARDT, 1996; HITZLER, 1997). Somit wird das selbe Testprinzip wie zur Blutgruppentypisierung verwendet (YOUNG et al., 1952).

Unter Hämolyse versteht man die Auflösung von Erythrozyten durch antikörpervermittelte Komplementaktivierung (WEISBACH und ECKSTEIN, 1996). Hämolisierende Antikörper werden komplette oder inkomplette Hämolsine genannt, je nachdem, ob sie bereits zur Hämolyse von unbehandelten oder nur

von enzymbehandelten roten Blutzellen führen (YOUNG et al., 1952; SALAMA und MUELLER-ECKHARDT, 1996).

Mit dem Hämolysetest werden antierythrozytäre Antikörper nachgewiesen, die über eine Komplementaktivierung an der Zelloberfläche die Zellmembran zerstören und dadurch das Hämoglobin freisetzen. Nach Inkubation und Zentrifugation wird der Überstand visuell (d.h. semiquantitativ) oder fotometrisch auf Hämolyse geprüft (HITZLER, 1997).

Die Hämagglutination (Verklumpung der Erythrozyten) entsteht durch eine spezifische Bindung von Antikörpern an die Zellen, die nicht kovalent und deshalb grundsätzlich reversibel ist. Durch einfache physikalische Maßnahmen (z.B. Ansäuerung, Temperaturänderung) läßt sich ein spezifischer Antikörper wieder von seiner Bindungsstelle trennen (eluieren) (SALAMA und MUELLER-ECKHARDT, 1996).

Der Agglutinationstest (direkte Agglutination) kann auf Objektträgern, auf Platten (z.B. Lauerplättchen), in Röhrchen, in Kapillaren, in Mikrotiterplatten oder im „Micro Typing System“ (MTS-Karten) durchgeführt werden (HITZLER, 1997). Je nach Antikörperavidität und –stärke kann die Reaktion sofort, nach kurzer (5-10 min) oder längerer Inkubation (30 min) abgelesen werden. Beim Röhrchentest lassen sich die Reaktionen durch kurzes Zentrifugieren nach der Inkubation verstärken (SALAMA und MUELLER-ECKHARDT, 1996; HITZLER, 1997).

Nach ihrem serologischen Verhalten werden komplette und inkomplette Antikörper unterschieden (WEISBACH und ECKSTEIN, 1996): Komplette Antikörper führen zur sichtbaren Agglutination der Erythrozyten ohne Hilfsmittel, d.h. auch in physiologischem Kochsalzmilieu. Inkomplette Antikörper hingegen zeigen in 0,9 %-iger Kochsalzlösung mit roten Blutzellen keine sichtbare Agglutination (COOMBS et al., 1945; GRÜNBAUM, 1969, 1993). Hierzu bedarf es zusätzlicher Reaktionsbedingungen, z.B. Aufschwemmung der Erythrozyten in Rinderserumalbumin, blutgruppenkompatiblem kaninem Serum, Dextran oder Gelatine, Vorbehandlung der Erythrozyten mit proteolytischen Enzymen (Bromelin, Papain, Trypsin, Ficin) oder Zusatz eines sekundären Antikörpers (Antiglobulintest oder Coombs-Test) (COOMBS et al., 1945; HAMILTON, 1949; COLLING und SAISON, 1980a; SALAMA und MUELLER-ECKHARDT, 1996).

Der Antiglobulintest oder Coombs-Test ist ein Zweiphasentest, mit dem inkomplette Antikörper nachgewiesen werden (YOUNG et al., 1952). In der ersten Phase werden die Erythrozyten mit dem inkompletten Antikörper sensibilisiert und anschließend gewaschen. In der zweiten Phase werden die Zellen durch Zugabe eines gegen kanine Immunglobuline gerichteten sekundären Antikörpers (Antiglobulinserum) sichtbar agglutiniert (COOMBS et al., 1945). Diese Verklumpung wird auch als indirekte Agglutination bezeichnet (SALAMA und MUELLER-ECKHARDT, 1996). Beim direkten Antiglobulintest wird eine bereits in vivo stattgefundenene Sensibilisierung der Erythrozyten mit inkompletten Antikörpern nachgewiesen, während der indirekte Antiglobulintest durch eine in vitro-Sensibilisierung der Erythrozyten mit den inkompletten Antikörpern diese in dem zu untersuchendem Material (z.B. Serum) aufdeckt (SALAMA und MUELLER-ECKHARDT, 1996).

Je nach ihrer optimalen Reaktionstemperatur bei 38° C oder in der Kälte (4° C, 20° C) werden antierythrozytäre Antikörper als Wärme- oder Kälteantikörper bezeichnet (WEISBACH und ECKSTEIN, 1996). Während die Wärmeantikörper auch noch bei niedrigeren Temperaturen mit Erythrozyten reagieren können, zeigen Kälteantikörper schwächere oder keine Reaktionen mehr bei Temperaturen über 20° C (SALAMA und MUELLER-ECKHARDT, 1996).

Die Reaktionsstärke mit den Antikörpern (Hämolyse- und Agglutinationsgrad) wird semiquantitativ von – (negativ) über (+), + bis ++ (stark positiv) abgestuft und als gering-, mittel- oder hochgradig bezeichnet. Außerdem kann durch Verdünnen des zu testenden Serums (Titration) jene Verdünnungsstufe gefunden werden, bei der gerade noch eine positive Reaktion erkennbar ist (Antikörpertiter, Titerstufe) (SALAMA und MUELLER-ECKHARDT, 1996).

Eine quantitative Bestimmung der Antikörper ist möglich durch direkte Markierung oder indirekt durch einen sekundär markierten Antikörper (Radioimmuntest, Enzymimmuntest). Auf Grund der Reaktionsstärke eines Antikörpers mit Erythrozyten in vitro kann nicht immer eine Aussage über die klinische Relevanz des jeweiligen Antikörpers gemacht werden. Hier spielen außer seiner Konzentration auch seine Immunglobulinsubklasse und seine Fähigkeit, Komplement zu aktivieren, eine Rolle (SALAMA und MUELLER-ECKHARDT, 1996).

### 3 MATERIAL UND METHODEN

Ziel und Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit waren:

1. Die für Transfusionszwischenfälle verantwortlichen antierythrozytären Antikörper nach Vollbluttransfusionen beim Hund nachzuweisen und deren klinische Bedeutung zu klären,
2. Die gefundenen Antikörper je nach ihrer Reaktionsart, ihrem Temperaturoptimum und ihrer Nachweisbarkeit einzuteilen,
3. Die klinischen und labordiagnostischen Veränderungen bei Hunden nach Vollbluttransfusionen im Hinblick auf Transfusionszwischenfälle auszuwerten,
4. Die Häufigkeit von Anämien im Patientengut der MVK I zu ermitteln und Untersuchungen hinsichtlich Rasse, Geschlecht und Alter der erkrankten Hunde durchzuführen.

Dazu wurden im ersten Teil Transfusionsversuche an gesunden Hunden und im zweiten Teil Untersuchungen über Hunde, die als Patienten in der MVK I Vollbluttransfusionen erhalten haben, durchgeführt.

Folgende Reagenzien und Geräte kamen in der vorliegende Arbeit zum Einsatz:

Reagenzien

- Testseren zur Typisierung der Blutgruppen DEA 1.1, 1.2, 3, 4, 5 und 7 (MIDWEST ANIMAL BLOOD SERVICES, Stockbridge, USA)
- Testsystem zur Blutgruppentypisierung DEA 1.1: Rapid Vet-H (Canine 1.1) (DMS LABORATORIES, Flemington, USA)
- Testsystem zur Blutgruppentypisierung DEA 1.1: Kit for Blood Typing Dogs for DEA 1.1 (KANSAS STATE UNIVERSITY, Manhattan, USA)
- Rabbit Anti-Dog IgG (H+L), Artikel-Nummer 304-005-003 (JACKSON IMMUNO RESEARCH LABORATORIES, West Grove, USA)
- PBS-Phosphatbuffer (pH 7,42, 0,01 M), Artikel-Nummer 3613 (BAG, Lich)

- 2-Propanol 70% (V/V), Artikel-Nummer 67-63-0 (OTTO FISCHAR GMBH, Saarbrücken)
- Braunol<sup>®</sup> 2000, Artikel-Nummer 3864154 (B. BRAUN MELSUNGEN AG, Melsungen)
- May-Grünwald-Lösung modifiziert, Artikel-Nummer 1424 (MERCK, Darmstadt)
- Azur-Eosin-Methylenblaulösung für die Mikroskopie, Artikel-Nummer 9204 (MERCK, Darmstadt)

#### Geräte

- Sarmix 2 für 32 Blutröhrchen (SARSTEDT, Nümbrecht)
- Kalium-EDTA Probengefäß 1,3 ml, Artikel-Nummer 41.1504.005 (SARSTEDT, Nümbrecht)
- Lithium-Heparin Probengefäß 1,3 ml, Artikel-Nummer 41.1503.005 (SARSTEDT, Nümbrecht)
- Citrat Probengefäß 1,3 ml, Artikel-Nummer 41.1506.005 (SARSTEDT, Nümbrecht)
- Serum Probengefäß 10 ml, Artikel-Nummer 41.1501.329 (SARSTEDT, Nümbrecht)
- Probengefäß 100 µl Brillantkresylblau 1%-ige Lösung, Artikel-Nummer 42.117 (SARSTEDT, Nümbrecht)
- Zweifachbeutel R 6202 CPDA-1, Artikel-Nummer ZGR6223B (BAXTER, Unterschleißheim)
- Hemomed Universal Transfusionsgerät, Artikel-Nummer 60003 (DISPOMED WITT, Gelnhausen-Hailer)
- Federwaage, Artikel-Nummer 739055 (FRESENIUS NPBI, Dreieich)
- Ausstreifzange, Artikel-Nummer 739090 (FRESENIUS NPBI, Dreieich)
- Plombenzange, Artikel-Nummer 739075 (FRESENIUS NPBI, Dreieich)

- 
- Verschußplomben, Artikel-Nummer 739080 (FRESENIUS NPBI, Dreieich)
  - Zentrifuge Hettich Universal/K2S (HETTICH, Tuttlingen)
  - Zentrifuge Biofuge 15 (HERAEUS SEPATECH, Hanau)
  - EPPENDORF-Pipetten 50 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl und 1000 µl (EPPENDORF, Hamburg)
  - EPPENDORF-Pipettenspitzen, Artikel-Nummer 0030 003.004 (gelb) und Artikel-Nummer 0030 015.002 (blau) (EPPENDORF, Hamburg)
  - EPPENDORF-Reaktionsgefäß Safe-Lock 2,0 ml, Artikel-Nummer 0030 120.094 (EPPENDORF, Hamburg)
  - Kanülen Neolus 20 G x 1 1/2", 0,9 x 40 mm, Artikel-Nummer NN-2038R35 (TERUMO CORPORATION, Leuven, Belgien)
  - Venenverweilkatheter Vygoflex 1,2 x 1,7 mm, L 35, Artikel-Nummer 9152.517 VYGON, Aachen)
  - Venenverweilkatheter Kliniject-V, G 18, 1,3 x 45 mm, Artikel-Nummer 1181406 (KLINIKA MEDICAL, Usingen)
  - Brutschrank BM 200 (MEMMERT, Schwabach)
  - Tiefgefriertruhe Deepfroster Typ 6381 (GFL, Burgwedel)
  - Objektträger 76 x 26 mm (3 x 1 inch), geschnitten mit Mattrand, Artikel-Nummer 36 14305 (IDL, Nidderau)
  - Microcellcounter Sysmex F-800 (TOA-MEDICAL-ELECTRONICS, Hamburg)
  - Hämatologiesystem Technicon H\*1 (BAYER DIAGNOSTICS, München)
  - Amelung-Coagulometer KC 4 A (H. AMELUNG GMBH, Lemgo)
  - Autoanalyser Cobas Mira Plus (ROCHE, Basel, Schweiz)
  - Harnblasenkatheter Buster Dog catheter luer lock, Artikel-Nummer 273420 (KRUUSE, Marslev, Dänemark)

- Einmalspritzen Discardit II, Artikel-Nummer 0004-095 (2 ml Spritzen), 0004-143 (5 ml Spritzen) und 0007-086 (10 ml Spritzen) (BECTON DICKINSON, Heidelberg)
- Combur-9-Test, Artikel-Nummer 398 420 (ROCHE DIAGNOSTICS, Mannheim)
- Refraktometer HRMT 18 TC (A. KRÜSS OPTRONIC, Hamburg)
- Rasterelektronenmikroskop DSM 940 (ZEISS, Oberkochen)

Im ersten Abschnitt des Kapitels Material und Methoden werden die eigenen Untersuchungen an den Transfusionsversuchen bei gesunden Hunden dargelegt, im zweiten Abschnitt die an den Patienten, die Vollbluttransfusionen erhalten haben.

## A. Erster Teil: Transfusionsversuch

Alle Untersuchungen an den gesunden Hunden der MVK I wurden im Rahmen des vom Regierungspräsidium Gießen am 09.04.1996 genehmigten Tierversuches Gi 18/13-1/95, lfd. Nr. 21 (gemäß § 8 Abs. 1 Tierschutzgesetz) durchgeführt. Der Transfusionsversuch sollte auch dazu dienen, antierythrozytäre Antikörper zu gewinnen, deren unterschiedliche Reaktionen mit verschiedenen Testmethoden untersucht werden sollten. Um die möglichen Gefahren einer Folgetransfusion besser einschätzen zu können, erfolgten jeweils eine Zweit- und Dritttransfusion.

### 3.1 Spender: Auswahl und Blutgruppentypisierung

Für die Durchführung des Tierversuches standen insgesamt zehn Hunde zur Verfügung, die nach ihren Blutgruppen und ihrer Rasse ausgewählt wurden. Bei allen Hunden handelte es sich um klinikseigene Tiere der MVK I, die als Dauerblutspender gehalten wurden. Die Blutgruppentypisierung wurde sowohl mit den kommerziell erhältlichen Testkartensystemen (DMS LABORATORIES und KANSAS STATE UNIVERSITY) als auch mit den nicht frei im Handel befindlichen

Typisierungsseren (MIDWEST ANIMAL BLOOD SERVICES) nach den Angaben der Hersteller durchgeführt (ANDREWS et al., 1992; KANSAS STATE UNIVERSITY, 2000; DMS LABORATORIES, 2000; MIDWEST ANIMAL BLOOD SERVICES, 2000). Die Blutgruppen aller Probanden wurden mit jedem Testverfahren von zwei unterschiedlichen Personen jeweils doppelt bestimmt (herzlichen Dank an dieser Stelle für die Unterstützung bei den Blutgruppenuntersuchungen und die Kontrolltypisierungen an Frau Dr. N. Prehn, VETERINÄRMEDIZINISCHES LABOR, Ludwigsburg und Frau A. S. Hale, DVM, MIDWEST ANIMAL BLOOD SERVICES, Stockbridge, USA).

Die beiden kommerziellen Tests zur Blutgruppentypisierung beim Hund sind nur für die Bestimmung des Blutgruppenmerkmals DEA 1.1 konzipiert, das heißt, man kann mit diesen Testkarten nur die Aussage machen, ob ein Hund DEA 1.1 positiv oder negativ ist. Das Testsystem beruht auf einem aus Mäusen gewonnenen monoklonalen IgM-Antikörper, welcher gegen das Oberflächenmerkmal DEA 1.1 der Hunderythrozyten gerichtet ist (ANDREWS et al., 1992). Testsysteme auf monoklonaler Basis gegen anderer DEA-Antigene beim Hund sind zur Zeit nicht im Handel erhältlich.

Die Testseren zur Typisierung der Blutgruppen DEA 1.1, 1.2, 3, 4, 5 und 7 (MIDWEST ANIMAL BLOOD SERVICES) sind polyklonale Seren von Hunden, die in regelmäßigen Abständen durch die Injektion kaniner Erythrozyten mit bekannten Blutgruppenmerkmalen immunisiert werden (HALE, 1995).

Alle in Frage kommenden Blutspendehunde wurden vom Untersucher selber hinsichtlich ihrer Blutgruppen mit den beiden Testkartensystemen und den Testseren untersucht. Zur Kontrolle der Ergebnisse erfolgte eine Zweittypisierung mit den Testkarten durch Frau Dr. N. Prehn (VETERINÄRMEDIZINISCHES LABOR, Ludwigsburg) und mittels der Testseren durch Frau A. S. Hale, DVM (MIDWEST ANIMAL BLOOD SERVICES, Stockbridge, USA).

Die Auswahl der Spendertiere für den Transfusionsversuch wurde in Hinblick auf die festgestellten Blutgruppen getroffen. In Tabelle 2 sind die Nummern der Blutspender, deren Geschlecht, Rasse, Alter und die Blutgruppen aufgeführt.

Tabelle 2: Blutspender

Hund Nummer	Geschlecht	Rasse	Alter (Jahre)	Blutgruppen (DEA)
1	W	Beagle	7,1	1.1, 4, 7
2	M	Beagle	10,5	4

Wie die Tabelle 2 zeigt, handelte es sich bei den Blutspendern um zwei Beaglehunde im Alter von 7 und 10 Jahren. Ein Tier war weiblich und eines männlich. Sie mußten folgende Voraussetzungen erfüllen:

1. Körperliche Gesundheit, insbesondere kein Hinweis auf eine Erkrankung des hämatopoetischen Systems,
2. Unterschiedliche Blutgruppen v.a. des Blutgruppenmerkmals DEA 1.1 zum Nachweis einer eventuell stattgefundenen Alloimmunisierung der Empfängertiere.

Zur Überprüfung der Gesundheit wurden die Hunde vor Beginn des Transfusionsversuches klinisch untersucht und des weiteren labordiagnostische (Blutuntersuchung mit Blutbild, Blutchemie und Blutgerinnung, Urinuntersuchung) und physikalische (Röntgenbilder von Thorax und Abdomen im laterolateralen Strahlengang) Untersuchungen durchgeführt. Während des Versuchszeitraumes fanden regelmäßig Kontrolluntersuchungen (Klinik, Hämatologie, Blutchemie, Blutgerinnung, Urin) statt.

Die Blutgruppen der beiden Blutspender sollten möglichst unterschiedlich sein, so dass ein Hund (Hund Nr. 1) neben der als besonders immunogen geltenden Blutgruppe DEA 1.1 (DUDOK DE WIT et al., 1967; CORATO et al., 1997; GIGER, 2000a) noch positiv für die Merkmale DEA 4 und 7 war, der zweite hingegen mit der alleinigen Blutgruppe DEA 4 als „Universalspender“ (HALE, 1995; FELDMAN, 2000) eingesetzt werden konnte (Hund Nr. 2).

### 3.2 Empfänger: Auswahl und Blutgruppentypisierung

Als Empfänger standen acht Hunde zur Verfügung, deren Blutgruppen auf die selbe Weise bestimmt wurden wie bei den Spendern. Die Tabelle 3 zeigt die Nummern der Empfängertiere, jeweils mit Geschlecht, Rasse, Alter und Blutgruppen.

Tabelle 3: Blutempfänger

Hund Nummer	Geschlecht	Rasse	Alter (Jahre)	Blutgruppen (DEA)
3	W	Beagle	6,4	1.1, 4, 7
4	M	FBI-Mischling	2,2	1.1, 4, 5, 7
5	M	Beagle	3,7	1.2, 4
6	M	FBI-Mischling	3,7	1.2, 4
7	M	Beagle	8,3	1.1, 4, 7
8	M	FBI-Mischling	2,0	1.1, 4
9	M	Beagle	4,5	1.2, 4, 7
10	M	FBI-Mischling	2,0	4

Aus der Tabelle 3 geht hervor, dass die Empfängertiere bis auf den Hund Nr. 3 alle männlich und zur einen Hälfte Beagles, zur anderen Hälfte Mischlingshunde waren. Das Alter variierte zwischen zwei und acht Jahren.

Analog zu den zwei Spendertieren wurden die Blutgruppen bestimmt und Untersuchungen zum Gesundheitsstatus (klinische, labordiagnostische und physikalische Untersuchungen) vor und während des Transfusionsversuches vorgenommen.

Die Auswahl der Spender-Empfänger-Kombinationen erfolgte in Hinblick auf das Blutgruppenmerkmal DEA 1.1 und die Rasse, so dass jeder der beiden Spender jeweils für zwei Hunde mit und zwei ohne dem Blutgruppenmerkmal DEA 1.1 spendete: Der Hund Nr. 1 (Blutgruppen: 1.1, 4, 7) war Spender für die Hunde Nr. 3

(Blutgruppen 1.1, 4, 7), Nr. 4 (Blutgruppen 1.1, 4, 5, 7), Nr. 5 (Blutgruppen 1.2, 4) und Nr. 6 (Blutgruppen 1.2, 4). Hund Nr. 2 (Blutgruppe 4) spendete Vollblut für die Hunde Nr. 7 (Blutgruppen 1.1, 4, 7), Nr. 8 (Blutgruppen 1.1, 4), Nr. 9 (Blutgruppen 1.2, 4, 7) und Nr. 10 (Blutgruppe 4). Zusätzlich wurde darauf geachtet, dass die Rasseverteilung unter den Empfängerhunden (Beagles und Mischlinge) ausgeglichen war.

Einen Überblick über die Rassen- und Blutgruppenverteilung der zwei Spender und acht Empfänger gibt Tabelle 4.

Tabelle 4: Rassen- und Blutgruppenverteilung der Versuchshunde

Spender			Empfänger		
Hund Nummer	Rasse	Blutgruppen (DEA)	Hund Nummer	Rasse	Blutgruppen (DEA)
1	Beagle	1.1, 4, 7	3	Beagle	1.1, 4, 7
			4	FBI-Mischling	1.1, 4, 5, 7
			5	Beagle	1.2, 4
			6	FBI-Mischling	1.2, 4

Spender			Empfänger		
Hund Nummer	Rasse	Blutgruppen (DEA)	Hund Nummer	Rasse	Blutgruppen (DEA)
2	Beagle	4	7	Beagle	1.1, 4, 7
			8	FBI-Mischling	1.1, 4
			9	Beagle	1.2, 4, 7
			10	FBI-Mischling	4

Aus der Tabelle 4 geht hervor, in welchen Spender-Empfänger-Kombinationen hinsichtlich der Rasse und der Blutgruppen die Bluttransfusionen durchgeführt wurden.

### 3.3 Bluttransfusion

Nach Abschluss der Blutgruppentypisierung, der daraus resultierenden Einteilung der Hunde in zwei Spender und acht Empfänger und der Feststellung der körperlichen Gesundheit wurde mit dem eigentlichen Transfusionsversuch begonnen, der sich insgesamt über einen Zeitraum von über ein Jahr erstreckte. Während des Versuchszeitraumes wurde regelmäßig mittels klinischer und labordiagnostischer Untersuchungen (Blut und Urin) der Gesundheitsstatus der Probanden überprüft.

Die Transfusionen wurden als Vollbluttransfusionen am Tag 0, 42 und 51 des Versuches durchgeführt. Pro Transfusion erhielt jeder Empfänger ohne zusätzliche Medikation 5 ml Vollblut/kg Körpermasse intravenös über einen zentralen Venenverweilkatheter. An den Tagen 0, 1, 3, 5, 7, 9, 21, 42, 43, 45, 47, 49, 51, 52, 54, 56, 58 und 60 des Versuches wurde Serum von den Empfängern gewonnen und bei  $-70,0^{\circ}\text{C}$  bis zur weiteren Untersuchung aufbewahrt. Zusätzlich wurden an diesen Tagen eine klinische Untersuchung, sowie labordiagnostische Untersuchungen (Blut, Urin) und der Kreuztest auf Objektträgern durchgeführt. Anhand dieses Versuchsprotokolls sollten antierythrozytäre Antikörper bei den Empfängern nachgewiesen werden und klinische sowie labordiagnostische Veränderungen in Folge einer Alloimmunisation im Zusammenhang mit den Transfusionen festgestellt werden.

#### 3.3.1 Technik der Blutentnahme

Die Blutspende zur Herstellung der Vollblutkonserve bei den beiden Spenderhunden erfolgte mit der in der MVK I üblichen Entnahmetechnik: Nach Scheren und Desinfektion des ventralen Halsbereiches wurde die Vena jugularis externa perkutan mit der am Zweifach-Blutbeutelssystem angeschweißten Kanüle

(BAXTER) punktiert und die Blutkonserve durch Schwerkrafftüllung unter ständigem manuellen Schwenken gewonnen. Der Füllungszustand des Entnahmebeutels wurde mit einer Federwaage kontrolliert (FRESENIUS NPBI). Zum Abschluss der Blutentnahme wurde die Punktionsstelle für mindestens zwei Minuten manuell komprimiert, das Restblut im Entnahmeschlauch mit der Ausstreifzange (FRESENIUS NPBI) in den Entnahmebeutel überführt und das Entnahmesystem mit Metallplomben (FRESENIUS NPBI) und Plombenzange (FRESENIUS NPBI) hermetisch verschlossen.

Vor jeder Transfusion und an allen Tagen, an denen die Kontrolluntersuchungen bei den Empfängern durchgeführt wurden, wurde ein Kreuztest auf dem Objektträger (IDL) als praxistauglicher Screeningtest nach der von GRÜNBAUM und HAARER (1993) sowie HAARER und GRÜNBAUM (1993a, b) beschriebenen Methode durchgeführt. Dies diente v.a. dem Ausschluss von natürlich vorkommenden antierythrozytären Antikörpern vor und dem Nachweis einer stattgefundenen Immunisierung nach der Ersttransfusion. Die im Kreuztest auf dem Objektträger erzielten Ergebnisse wurden mit denen des Agglutinationstests im Röhrchen verglichen.

### 3.3.2 Technik der Blutübertragung

Das zur Transfusion gewonnene Vollblut wurde unmittelbar danach dem Empfänger über einen zentralen Venenverweilkatheter (VYGON) in einer Dosierung von 5 ml Vollblut/kg Körpermasse (KM) intravenös über ein handelsübliches Transfusionsbesteck (DISPOMED WITT) zugeführt, mit einer Tropfgeschwindigkeit von ca. 0,2 ml/min/kg KM. Die Hunde erhielten sonst keine zusätzliche Medikation.

Während und nach der Transfusionen wurden der klinische Zustand der Empfänger kontinuierlich über zwölf Stunden überwacht und v.a. in Hinblick auf mögliche Transfusionsreaktionen dokumentiert sowie Blut- und Urinproben zur weiteren Untersuchung asserviert. Die Blutproben wurden mittels Zwei-Spritzen-Technik (BECTON DICKINSON) über den zentralen Venenkatheter entnommen (MILLIS et al., 1995), bei dem Urin handelte es sich teils um spontan abgesetztem Urin, teils wurde er mit einem Harnblasenkatheter (KRUUSE) gewonnen.

Gemäß des Versuchsprotokolls wurden am Tag 42 und 51 des Tierversuches eine Zweit- und Dritttransfusion mit demselben Spender-Empfängerpaar unter denselben Bedingungen durchgeführt. Dadurch sollte eine mögliche Boosterung nachgewiesen werden.

### **3.4 Klinische Untersuchung der Spender und Empfänger**

Die klinische Untersuchung der Spender als auch der Empfänger war notwendig, um einerseits den Gesundheitsstatus der Hunde vor Beginn des Transfusionsversuches festzustellen, andererseits sollten klinische Symptome bei den Blutspendern Hinweise auf Komplikationen durch die Blutspende geben, Veränderungen bei den Empfängern hingegen Transfusionsreaktionen mit klinischer Relevanz anzeigen. Die klinischen Untersuchungen wurden nach den Richtlinien von JAKSCH und GLAWISCHNIG (1990) durchgeführt. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf Veränderungen des Allgemeinbefindens, der inneren Körpertemperatur, der Puls- und Atemfrequenz, des Verdauungsapparates, des Herz-Kreislaufsystems und des ZNS gelegt, da hier am ehesten Symptome einer Transfusionsreaktion zu erwarten waren (HARRELL et al., 1997a). Außer in den ersten zwölf Stunden direkt nach den einzelnen Vollbluttransfusionen wurden vollständige klinische Untersuchungen auch an jenen Tagen unternommen, an denen Serumproben für die Untersuchung auf Antikörper entnommen wurden (d.h. an den Tagen 1, 3, 5, 7, 9, 21, 42, 43, 45, 47, 49, 51, 52, 54, 56, 58 und 60).

### **3.5 Labordiagnostische Untersuchung der Spender und Empfänger**

Neben der klinischen Untersuchung sollten auch labordiagnostische Untersuchungen Hinweise auf das Auftreten von durch Antikörper verursachten Transfusionsreaktionen geben. Deshalb wurden sowohl Blut- als auch Urinuntersuchungen durchgeführt. Auch hierbei wurde einerseits vor jeder Transfusion der Gesundheitszustand von Spender und Empfänger überprüft und andererseits analog zu den klinischen Untersuchungen in den ersten zwölf Stunden nach jeder Blutübertragung und an den Tagen, an denen Serumproben

entnommen wurden, Verlaufsuntersuchungen angestellt. Die Blut- und Urinuntersuchungen fanden im klinisch-chemischen Labor der MVK I statt und wurden von den medizinisch-technischen Assistentinnen durchgeführt.

### 3.5.1 Blutuntersuchung

Während des Transfusionsversuches wurde Blut entweder mit der Zwei-Spritzen-Technik über einen zentralen Venenkatheter (MILLIS et al., 1995) entnommen oder durch perkutane Punktion (TERUMO CORPORATION) der Vena cephalica antebrachii, der Vena saphena lateralis oder der Vena jugularis externa gewonnen. Das Blut wurde in die jeweiligen Blutprobengefäße abgefüllt (SARSTEDT) und anschließend untersucht.

Die Messung der Parameter des roten Blutbildes Hämatokritwert, Erythrozytenzahl und Hämoglobingehalt der Erythrozyten wurde mit EDTA-Blut an den Geräten Sysmex F-800 (TOA-MEDICAL-ELECTRONICS) oder Technicon H\*1 (BAYER DIAGNOSTICS) durchgeführt. Die Retikulozytenzählung erfolgte auf Blutausstrichen nach Färbung mit Brillantkresylblaulösung (SARSTEDT). Zusätzlich wurde noch das freie Hämoglobin im Blutplasma mit den Geräten Sysmex F-800 (TOA-MEDICAL-ELECTRONICS) oder Technicon H\*1 (BAYER DIAGNOSTICS) ermittelt.

Die Gesamtleukozytenzahl wurde aus EDTA-Blut mit den Geräten Sysmex F-800 (TOA-MEDICAL-ELECTRONICS) oder Technicon H\*1 (BAYER DIAGNOSTICS) bestimmt, das Differentialblutbild auf Blutausstrichen nach panoptischer Färbung nach Pappenheim mit der Methode nach May-Grünwald-Giemsa (MERCK).

Als Gerinnungsparameter wurden die Thrombozytenzahl, die Prothrombinzeit (Quick-Test), die partielle Thromboplastinzeit (PTT), die Thrombinzeit (TZ) und die Fibrinogenkonzentration ermittelt. Die Bestimmung der Thrombozytenzahl erfolgte aus EDTA-Blut mit den Geräten Sysmex F-800 (TOA-MEDICAL-ELECTRONICS) oder Technicon H\*1 (BAYER DIAGNOSTICS). Die Gerinnungszeiten und die Fibrinogenkonzentration wurden in Zitratplasma mit der Koagulometermethode nach Schnitger und Gross gemessen (H. AMELUNG).

Die Aktivitäten bzw. Konzentrationen der direkten Leberparameter ALT, AP, GLDH sowie Gesamtbilirubin und direktes Bilirubin wurden aus heparinisiertem Blutplasma mit dem naßchemischen Gerät Cobas Mira Plus (ROCHE) ermittelt.

Die Parameter des Eiweißstoffwechsels Gesamteiweiß und Albumin kamen aus Blutplasma von Heparinblut mit dem Gerät Cobas Mira Plus (ROCHE) zur Bestimmung. Der Globulinanteil stellt die Differenz aus diesen beiden Parametern dar.

Als Parameter des Kohlenhydratstoffwechsels wurde die Glukose mit einem enzymatischen UV-Test in heparinisiertem Blutplasma am Cobas Mira Plus (ROCHE) gemessen.

Die Elektrolytkonzentrationen von Natrium, Chlorid, Kalium, ionisiertem Kalzium und anorganischem Phosphat wurden in heparinisiertem Blutplasma am Cobas Mira Plus (ROCHE) bestimmt.

Die Blutplasmakonzentrationen der beiden Nierenparameter Harnstoff und Kreatinin konnten aus Heparinplasma durch Messung mit dem Cobas Mira Plus (ROCHE) erfasst werden.

### 3.5.2 Urinuntersuchung

Die Untersuchungen des Urins wurden einerseits als notwendig erachtet, um den Gesundheitsstatus der Tierversuchshunde sicherzustellen und andererseits um die Auswirkungen von Transfusionsreaktionen (v.a. von hämolytischen Transfusionsreaktionen) festzustellen. Alle Urinuntersuchungen wurden sofort nach der Gewinnung des Urins durchgeführt.

Das spezifische Gewicht des Harn wurde mittels Refraktometer (A. KRÜSS OPTRONIC) bestimmt. Mit dem Combur-9-Test (ROCHE DIAGNOSTICS) erfolgte die Untersuchung des pH-Wertes, sowie die qualitative bzw. semiquantitative Bestimmung von Eiweiß, Hämoglobin, Glukose, Bilirubin, Urobilinogen, Nitrit und Keton. Die quantitative Bestimmung des Proteins im Urin erfolgte mit dem Cobas Mira Plus (ROCHE). Anschließend wurde nach Zentrifugation des Urins (HETTICH) die mikroskopische Untersuchung des Harnsediments durchgeführt.

### 3.6 Nachweis der Alloimmunisierung

Zum Nachweis der von den Empfängern gegen die Erythrozyten der Spender gebildeten Antikörper kam die selbe Testmethode zum Einsatz, die auch zur Blutgruppentypisierung mit den Testseren (MIDWEST ANIMAL BLOOD SERVICES) verwendet wurde. Zum Unterschied zur Blutgruppentypisierung wurde jetzt nicht bei bekanntem Antikörper (=Testserum) das unbekannte Antigen (=Blutgruppe) nachgewiesen, sondern der in Frage kommende Antikörper (=Alloantikörper des Empfängers) durch das bekannte Antigen (=die vorher typisierten Erythrozyten des Spenders) auf Grund einer Agglutinations- oder Hämolysereaktion festgestellt.

Zur Untersuchung gelangten die von den Empfängern gewonnen Seren (Tag 0, 1, 3, 5, 7, 9, 21, 42, 43, 45, 47, 49, 51, 52, 54, 56, 58 und 60), welche bis zur Durchführung der Tests bei  $-70,0^{\circ}\text{C}$  (GFL) tiefgefroren wurden. Die Durchführung der Kreuztests auf den Objektträgern hingegen erfolgte immer sofort nach der Blutprobenentnahme mit frischen Erythrozyten und unbehandeltem Serum. Die für die Untersuchungen benötigten Erythrozyten wurden jeden Tag neu von dem jeweiligen Blutspender entnommen und für die durchzuführenden Tests präpariert. Alle Agglutinations- und Hämolysetests zum Nachweis der Alloantikörper nahm der Autor selber in dem Labor der MVK I vor.

#### 3.6.1 Blutentnahme bei den Spendern und Separation der Erythrozyten

Von den jeweiligen Blutspendern wurde an den erforderlichen Tagen Blut frisch durch die Zwei-Spritzen-Technik über den zentralen Venenkatheter (VYGON) oder durch perkutane Punktion der V. cephalica antebrachii, saphena lateralis oder jugularis externa entnommen und in EDTA-Blutprobenröhrchen ungerinnbar gemacht. Nach Zentrifugation über 1 min bei 1000 g (HERAEUS SEPATECH) wurde das Plasma abpipettiert und das Erythrozytenkonzentrat mit ca. der zehnfachen Menge an PBS (BAG) aufgeschwemmt. Daran anschließend fand eine dreimalige Waschung der Erythrozyten mit PBS statt, um Kontaminationen mit Plasmaresten, Leukozyten und Thrombozyten auszuschließen. Dazu wurden

die aufgeschwemmten Erythrozyten ca. 2 min auf dem Rollenmischer (SARSTEDT) bewegt und danach 1 min bei 1000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die Erythrozyten in frischem PBS resuspendiert. Nach der dritten Waschung wurde eine 4%-ige Erythrozytensuspension in PBS hergestellt, die für die Tests zur Anwendung kam.

### 3.6.2 Nachweis antierythrozytärer Antikörper

Jeweils am Tag der Blutprobenentnahme wurden der Major- und Minor-Kreuztest auf einem Objektträger durchgeführt. Dabei wurden die frisch gewonnenen Erythrozyten und Seren des Spenders und des Empfängers jeweils zu gleichen Teilen wechselseitig auf einem Objektträger aufgebracht, durch leicht schwenkende und rotierende Bewegungen vermischt und ca. fünf Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert (HAARER und GRÜNBAUM, 1993b). Zur besseren Beurteilung der aufgetretenen Agglutination wurden die Objektträger schräg (Winkel von ca. 30°) gehalten und die Verklumpung der Erythrozyten makroskopisch überprüft. Die dabei gewonnenen Ergebnisse wurden mit den Resultaten des direkten Agglutinationstest im Röhrchen verglichen.

Von den zu untersuchenden Seren wurde nach dem Auftauen 100 µl in das EPPENDORF-Reaktionsgefäß Safe-Lock 2,0 ml (EPPENDORF) pipettiert und 100 µl der 4%-igen Erythrozytensuspension hinzugefügt. Dieser Testansatz wurde kurz manuell vermischt und dann bei 38° C (MEMMERT), ca. 20° C (Zimmertemperatur) und 4° C (Kühlschrank) für 15 min inkubiert. Nach der Inkubation erfolgte eine Zentrifugation bei 1000 g über 15 Sekunden.

Für den Hämolysetest wurde anschließend der Überstand makroskopisch auf Hämolyse untersucht und bei einer Rotfärbung diese semiquantitativ als geringgradig = (+), mittelgradig = + oder hochgradig = ++ eingestuft.

Für den direkten Agglutinationstest wurde versucht, die zentrifugierten Erythrozyten durch zwei- bis dreimaliges manuelles Aufschütteln zu resuspendieren, wobei die zu untersuchende Probe und die Negativkontrollen zur besseren Vergleichbarkeit in einer Hand gehalten wurden. Die Beurteilung des Verklumpungsgrades der Erythrozyten erfolgte wiederum semiquantitativ als

negativ = - bzw. gering- bis hochgradig. Die mit dem direkten Agglutinationstest nachgewiesenen Antikörper sind komplette Antikörper.

Bei fehlender oder undeutlicher direkter Agglutination erfolgte im Anschluss der Antiglobulintest nach COOMBS et al. (1945) zur Beurteilung der indirekten Agglutination. Dazu wurden die Erythrozyten, mit denen schon der direkte Agglutinationstest durchgeführt worden war, dreimal mit PBS auf die selbe Art gewaschen wie bei der Vorbereitung der Testerythrozyten. Danach wurden 100 µl des Antiglobulinserums Rabbit Anti-Dog IgG (H+L) (JACKSON IMMUNO RESEARCH LABORATORIES) hinzugefügt und nach manuellem Mischen für 15 min bei 38° C, 20° C und 4° C inkubiert. Die anschließende Zentrifugation und Ablesung der indirekten Agglutination wurde analog zum direkten Agglutinationstest durchgeführt. Der indirekte Agglutinationstest entspricht also vom Testprinzip dem indirekten Antiglobulintest (indirekten Coombs-Test), bei dem damit nachgewiesenen agglutinierenden Antikörpern handelt es sich um inkomplette Antikörper.

Bei allen drei durchgeführten Tests wurden die Serumproben in Zwischenschritten mit PBS titriert, wenn das unverdünnte Serum ein positives Ergebnis lieferte. Der Antikörpertiter konnte somit als jene Verdünnungsstufe bestimmt werden, bei der gerade noch ein eindeutig positives Ergebnis zu beobachten war.

Bei allen Untersuchungen, also sowohl im Hämolysetest als auch im direkten und indirekten Agglutinationstest wurden zwei Negativkontrollen mitgeführt. Anstatt des zu testenden Serums enthielt die erste Negativprobe PBS, die zweite autologes Serum des Blutspenders. Mit der ersten Negativkontrolle konnten im wesentlichen mechanisch bedingte Hämolysen ausgeschlossen werden, die v.a. durch die Waschzyklen auftreten könnten. Mit der zweiten Negativkontrolle ließen sich Autoantikörper des Spenders ausschließen, die allerdings während der gesamten Untersuchungen nie zu beobachten waren.

Zusätzlich zu den oben angeführten Methoden zum Nachweis von antierythrozytären Antikörpern wurde bei einem Hund (Hund Nr. 5) versucht, mittels rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen die Agglutination von Erythrozyten durch Immunantikörper darzustellen. Dazu wurde die bei BURKHARDT (1984) beschriebene Methode zur Aufbereitung der Erythrozyten angewandt. Die REM-Aufnahmen wurden mit Unterstützung von Herrn DDr. U.

Hetzel (INSTITUT FÜR VETERINÄR-PATHOLOGIE, Gießen) mit dem Elektronenmikroskop DSM 940 (ZEISS, Oberkochen) im Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und -Embryologie der Justus-Liebig-Universität Gießen (Prof. Dr. R. Leiser) angefertigt.

## B. Zweiter Teil: Patienten

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit wurden Hunde untersucht, die als Patienten in der MVK I zwischen dem 01. September 1996 und dem 31. August 1999 (3 Jahre) eine Vollbluttransfusion erhalten haben. Nach Diagnose der Anämie und Feststellung der Indikation für eine Vollbluttransfusion wurde ein Blutspender ausgewählt und die Transfusion durchgeführt. Vor und nach der Blutübertragung wurden Proben bei den Empfängern gewonnen und aufbereitet und anschließend Untersuchungen zum Nachweis von antierythrozytären Antikörpern vorgenommen. Dabei kamen die selben Untersuchungsmethoden zum Einsatz wie bei den Hunden des Transfusionsversuches.

Zuletzt wurde an Hand statistischer Methoden versucht, Verlaufskontrollen der Blut- und Urinparameter, sowie der Titer der antierythrozytären Antikörper bei den Patienten zu erstellen und Geschlechts-, Rasse- oder Altersdispositionen für das Auftreten von Anämien beim Hund zu erkennen.

### 3.7 Anämiediagnostik

Bei denen in diese Studie eingegangenen Patienten handelte es sich ausschließlich um Hunde, die wegen ihrer Erkrankung stationär in der MVK I aufgenommen und behandelt wurden. Neben der klinischen Untersuchung, die Hinweise auf das Vorliegen einer Anämie gab, wurde bei allen Patienten zumindest eine Blutuntersuchung zur Bestätigung der Blutarmut durchgeführt. In Abhängigkeit von der Primärerkrankung erfolgten bei einem Teil der Patienten auch Urinuntersuchungen bzw. serologische, zytologische, histologische und physikalische Untersuchungen.

An Hand der erhobenen Befunde wurden die 98 Patienten, die Vollbluttransfusionen erhalten haben, in drei Gruppen eingeteilt, nämlich Hunde mit Blutungsanämie (Gruppe 1), Hunde mit hämolytischer Anämie (Gruppe 2) und Hunde mit nicht- bzw. hyporegenerativer Anämie (Gruppe 3) (siehe Tab. 9, S. 85).

### 3.8 Indikation zur Bluttransfusion

Die Indikation zu einer Vollbluttransfusion bestand bei den in die Studie aufgenommenen Patienten nicht nur im Vorliegen einer Anämie, sondern in vielen Fällen auch in einer zusätzlich vorliegenden hämorrhagischen Diathese. Das Vollblut wurde also nicht nur zur Erhöhung der Sauerstofftransportkapazität eingesetzt, sondern auch zur Stabilisierung der Hämostase (Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren). Einige Hunde erhielten die Transfusion, um eine Erhaltung der Lebensfunktionen vorübergehend zu gewährleisten, bis die eingeleitete ätiologische Therapie der Grunderkrankung eine Wirkung zeigen konnte. Dies war vor allem bei jungen Hunden mit einer Parvovirusinfektion und hämorrhagischer Enteritis der Fall. Bei einigen Patienten wurde die Blutübertragung auch im Zusammenhang mit minimalinvasiven Kathetereingriffen oder Operationen vorgenommen.

### 3.9 Auswahl der Blutspender

Die Auswahl der Blutspender wurde sehr stark durch die begrenzte Anzahl der zur Verfügung stehenden Spenderhunde eingeschränkt. Bei allen Patienten dieser Studie kamen klinikseigene Hunde (Beagles und FBI-Mischlinge) als Spender zum Einsatz, die für diesen Zweck in der MVK I gehalten wurden. Alle Blutspender waren hinsichtlich ihrer Blutgruppen voll typisiert und zum Zeitpunkt der Blutspende gesund. Es wurde angestrebt, möglichst nur Hunde, die das Blutgruppenmerkmal DEA 1.1 nicht besitzen, als Spender einzusetzen, um einer möglichen Immunisierung der Empfänger vorzubeugen. Allerdings war das nicht in allen Fällen möglich, so dass auch DEA 1.1-positives Vollblut zum Einsatz kam.

Eine Bestimmung der Blutgruppen bei den Empfängern erfolgte nicht, da erstens die Testseren für eine Volltypisierung nicht kommerziell erhältlich waren, zweitens bei den meisten Patienten DEA 1.1-negative Spender eingesetzt wurden und es sich drittens ausschließlich um Patienten handelte, die bisher noch nie eine Transfusion erhalten hatten.

### 3.10 Durchführung der Transfusion

Die Blutentnahme bei den Spendern und die Transfusion bei den Empfängern wurde bei den Patienten auf die selbe Weise durchgeführt wie bei den Hunden des Transfusionsversuches. Es kamen die gleichen Methoden und Geräte zur Anwendung. Einzig die Menge des übertragenen Vollblutes variierte: Je nach Erkrankung wurde bei einigen Patienten mehr als 5 ml/kg, nämlich bis zu 15 ml/kg eingesetzt.

### 3.11 Probengewinnung und –aufbereitung

In Anlehnung an die Versuchsplanung des Transfusionsversuches wurde bei den Patienten versucht, klinische Kontrolluntersuchungen sowie Blut- und Urinuntersuchungen durchzuführen und Serum für den Nachweis der antierythrozytären Antikörper zu gewinnen. Das Bestreben war, jeweils vor (Tag 0) und nach der Transfusion (Tage 1, 3, 5, usw.) diese Proben zu nehmen. Allerdings war das nicht bei allen Patienten lückenlos durchführbar, einerseits weil einige Hunde schon kurz nach der Transfusion starben oder eingeschläfert werden mussten, andererseits wegen bereits erfolgter Entlassung aus der MVK I.

Die gewonnenen Blut- und Urinproben wurden ohne weitere Bearbeitung im klinisch-chemischen Labor der MVK I im täglichen Routinebetrieb durch die medizinisch-technischen Assistentinnen untersucht, während die Serumproben nach der Zentrifugation bis zur weiteren Untersuchung bei  $-70^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren wurden.

### 3.12 Nachweis antierythrozytärer Antikörper

Die Testmethoden zum Nachweis antierythrozytärer Antikörper entsprachen bei den Patienten jenen, die auch bei dem Transfusionsversuch eingesetzt wurden. Die Durchführung dieser Untersuchungen erfolgte vom Autor selber im Labor der MVK I.

### 3.13 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung des Datenmaterials erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. K. Failing und Herrn H. Heiter von der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Institutes für Veterinärphysiologie des Fachbereiches Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen (Prof. Dr. R. Gerstberger). Zur Anwendung kam das Statistikprogramm BMDP/Dynamic, Release 7.0 (BMDP STATISTICAL SOFTWARE).

Wegen der rechtsschiefen Verteilung der Blutwerte wurden diese logarithmisch transformiert und anschließend arithmetischer Mittelwert ( $\bar{x}$ ), Standardabweichung (s), Standardfehler des Mittelwertes (SEM) und Variationskoeffizient (VK) berechnet. Zur Prüfung des Zeiteinflusses wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse mit Meßwiederholungen im Faktor „Zeit“ durchgeführt, wobei die zwei Faktoren die Anämiegruppe, der Untersuchungstag und die Meßwiederholungen die Tage im Laufe der Zeit waren. Da für viele Tage keine Beobachtungen vorlagen, musste die Varianzanalyse in Form des Wald-Testes modifiziert werden.

Für die Auswertung der Antikörpertiter wurden diese erst logarithmisch transformiert und anschließend die Differenz des Mittelwertes der Tage 1 bis 10 nach Transfusion weniger des Wertes am Tag 0 (vor Transfusion) berechnet. Von den so ermittelten Differenzen der Antikörpertiter wurden Häufigkeitstabellen bezüglich der drei Anämiegruppen und der angewandten Testverfahren zum Nachweis der Antikörper (Hämolyse, direkte und indirekte Agglutination bei jeweils 4° C, 20° C und 38° C) erstellt. Der Vergleich der Antikörpertiter-Differenzen zwischen den Anämiegruppen erfolgte anschließend mittels Kruskal-Wallis-Test, während Veränderungen der Antikörpertiter zwischen Tag 0 und der mittleren

Titerstufe der Tage 1 bis 10 bei allen drei Gruppen mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen berechnet wurden.

Bei der Benennung der Signifikanzen wurden folgende Bezeichnungen verwendet:

$p \leq 0,001$ : hoch signifikant = h.s. (\*\*\*)

$p \leq 0,01$ : signifikant = s. (\*\*)

$p \leq 0,05$ : schwach signifikant = s.s. (\*)

$p > 0,05$ : nicht signifikant = n.s.

## 4 ERGEBNISSE

Im folgenden Kapitel werden erst die Ergebnisse der Untersuchungen an den gesunden Hunden im Rahmen des Transfusionsversuches und anschließend jene der Patienten vorgestellt und ausgewertet.

### A. Erster Teil: Transfusionsversuch

#### 4.1 Klinische Untersuchung

Bei den Blutspendern wurden klinische Untersuchungen jeweils an den Tagen durchgeführt, an denen sie eine Blutspende leisteten. Insgesamt wurde von jedem Hund zwölfmal Vollblut entnommen, im Abstand von minimal 9 Tagen und maximal ca. 3 Monaten. Abgesehen von einer ggr. lokalen Hautreizung an der Punktionsstelle über der V. jugularis externa, die komplikationslos abheilte, traten bei keinem der beiden für den Transfusionsversuch eingesetzten Spenderhunde (Hund Nr. 1 und 2) klinische Veränderungen auf, die in einem zeitlichen Zusammenhang mit der Blutspende standen.

Bei sechs von den acht Empfängerhunden (Hund Nr. 3, 4, 6, 7, 8 und 10) konnten an sämtlichen Untersuchungstagen keine klinischen Veränderungen festgestellt werden. Auch während und bis zu zwölf Stunden nach den Transfusionen waren die Tiere unauffällig.

Bei den restlichen zwei Blutempfängern (Hund Nr. 5 und 9) traten z.T. sehr deutliche klinische Symptome auf. Beide Hunde waren während und nach der ersten Transfusion noch ohne klinische Auffälligkeiten, zeigten aber in Folge der Zweit- und vor allem der Dritttransfusion folgende Veränderungen, die in den Tabellen 5 bis 8 dargestellt sind:

Tabelle 5: Klinische Symptome und deren zeitliches Auftreten während oder nach der Transfusion bei der Zweittransfusion am Tag 42 bei Hund Nr. 5

<b>Klinisches Symptom</b>	<b>Zeitliches Auftreten</b>
Unruhe	Während der Transfusion
Innere Körpertemperatur 39,3° C	30 min p.T.
Salivation	Während der Transfusion
Vomitus	Während der Transfusion

Tabelle 6: Klinische Symptome und deren zeitliches Auftreten während oder nach der Transfusion bei der Zweittransfusion am Tag 42 bei Hund Nr. 9

<b>Klinisches Symptom</b>	<b>Zeitliches Auftreten</b>
Apathie	Während der Transfusion

Tabelle 7: Klinische Symptome und deren zeitliches Auftreten während oder nach der Transfusion bei der Dritttransfusion am Tag 51 bei Hund Nr. 5

<b>Klinisches Symptom</b>	<b>Zeitliches Auftreten</b>
Konvulsionen (generalisierte Krämpfe)	10 sec nach Beginn der Transfusion
Innere Körpertemperatur 39,7° C	30 bis 60 min p.T.
Salivation	10 sec nach Beginn der Transfusion
Bewusstseinsverlust	10 sec nach Beginn der Transfusion
Vomitus	Zweimal während der Transfusion
Diarrhoe	15 min p.T.
Apathie	Während Transfusion bis 4 h p.T.

Tabelle 8: Klinische Symptome und deren zeitliches Auftreten während oder nach der Transfusion bei der Dritttransfusion am Tag 51 bei Hund Nr. 9

Klinisches Symptom	Zeitliches Auftreten
Apathie	10 sec nach Beginn der Transfusion bis 10 h p.T.
Innere Körpertemperatur 39,5° C	30 min p.T.
Tachypnoe	10 sec nach Beginn der Transfusion
Ataxie	Während der Transfusion
Vomitus	2 h und 3 h p.T.

Wie aus den Tabellen 5 bis 8 zu ersehen ist, traten neben einer ggr. Erhöhung der inneren Körpertemperatur (rektal gemessen) am häufigsten noch Verhaltensänderungen (Unruhe, Apathie) auf. Am deutlichsten waren allerdings die Störungen des zentralen Nervensystems in Form von Krämpfen und Ataxie. Das vermehrte Speicheln und das Erbrechen deuten auf das Vorliegen von Übelkeit (Nausea) hin. Das Auftreten von Durchfall nach Beendigung der Transfusion war nur einmal bei einem Hund zu beobachten.

Die massivsten Symptome zeigte Hund Nr. 5 bei der Dritttransfusion am Tag 51. Da vor allem die Konvulsionen des Empfängerhundes, die einem epileptischen Grand mal-Anfall ähnelten, die körperliche Integrität des Hundes bedrohten, wurde in Anlehnung an die Empfehlungen in der Literatur (TURNWALD und PICHLER, 1985; RAMSEY, 1994; HARRELL et al., 1997b) sofort die Transfusion unterbrochen und Prednisolon als Schocktherapie (Dosierung: 10 mg/kg KM) intravenös verabreicht. Daraufhin besserten sich die Symptome deutlich und die Vollbluttransfusion wurde mit verminderter Tropfgeschwindigkeit fortgeführt. Die vermehrte Salivation war noch bis eine Stunde nach Transfusionsende, die Apathie bis vier Stunden feststellbar. Danach waren keine klinischen Auffälligkeiten mehr zu beobachten.

Bei Hund Nr. 9 zeigten sich auch bei der dritten Transfusion wesentlich deutlichere Symptome als bei der zweiten, allerdings waren sie jeweils nicht so stark wie bei Hund Nr. 5. Besonders auffällig war bei diesem Hund die lang andauernde

Apathie nach der dritten Transfusion bis 10 Stunden nach Ende der Blutübertragung.

An den Tagen nach den Transfusionen waren die klinischen Untersuchungen bei beiden Hunden wieder ohne besonderen Befund (o.b.B.), so dass zusammengefasst klinische Symptome nur während und bis zu zehn Stunden nach der Blutübertragung zu beobachten waren.

## 4.2 Blutuntersuchung

Analog zu den klinischen Untersuchungen wurden bei den Spendern und Empfängern Blutuntersuchungen vorgenommen, um einerseits schädliche Einflüsse der Blutspende auf die beiden Spenderhunde zu erkennen, andererseits um Veränderungen von Blutwerten in Folge von möglichen Transfusionszwischenfällen bei den Empfängerhunden festzustellen.

Bei keinem der als Spender eingesetzten Hunde (Hund Nr. 1 und 2) konnten während des Beobachtungszeitraumes wesentliche Veränderungen des Blutbildes, der Blutgerinnung oder der Blutchemie festgestellt werden. Dies traf vor allem auch auf die Parameter des roten Blutbildes zu.

Bei sechs von den acht Empfängerhunden (Hund Nr. 3, 4, 6, 7, 8 und 10) traten an keinem Untersuchungstag hämatologische Veränderungen auf. Die während und in einem Zeitraum bis zu zwölf Stunden nach den Transfusionen gemessenen Werte des freien Hämoglobins im Blutplasma waren bei diesen Tieren unauffällig.

Die restlichen zwei Blutempfänger (Hund Nr. 5 und 9) zeigten z.T. sehr deutliche Veränderungen von mehreren Blutwerten. So wie die klinischen Symptome bei diesen beiden Hunden waren auch die hämatologischen Abweichungen von den Referenzwerten erst bei der Zweit- und Dritttransfusion zu beobachten. Am auffälligsten waren die Parameter Hämatokritwert (damit im Zusammenhang stehend Erythrozytenzahl und Hämoglobin), Gesamtleukozytenzahl, Thrombozytenzahl und freies Hämoglobin im Plasma während und innerhalb einiger Stunden nach der zweiten bzw. dritten Transfusion. In den Abbildungen 1 bis 4 werden die gemessenen Veränderungen grafisch dargestellt.

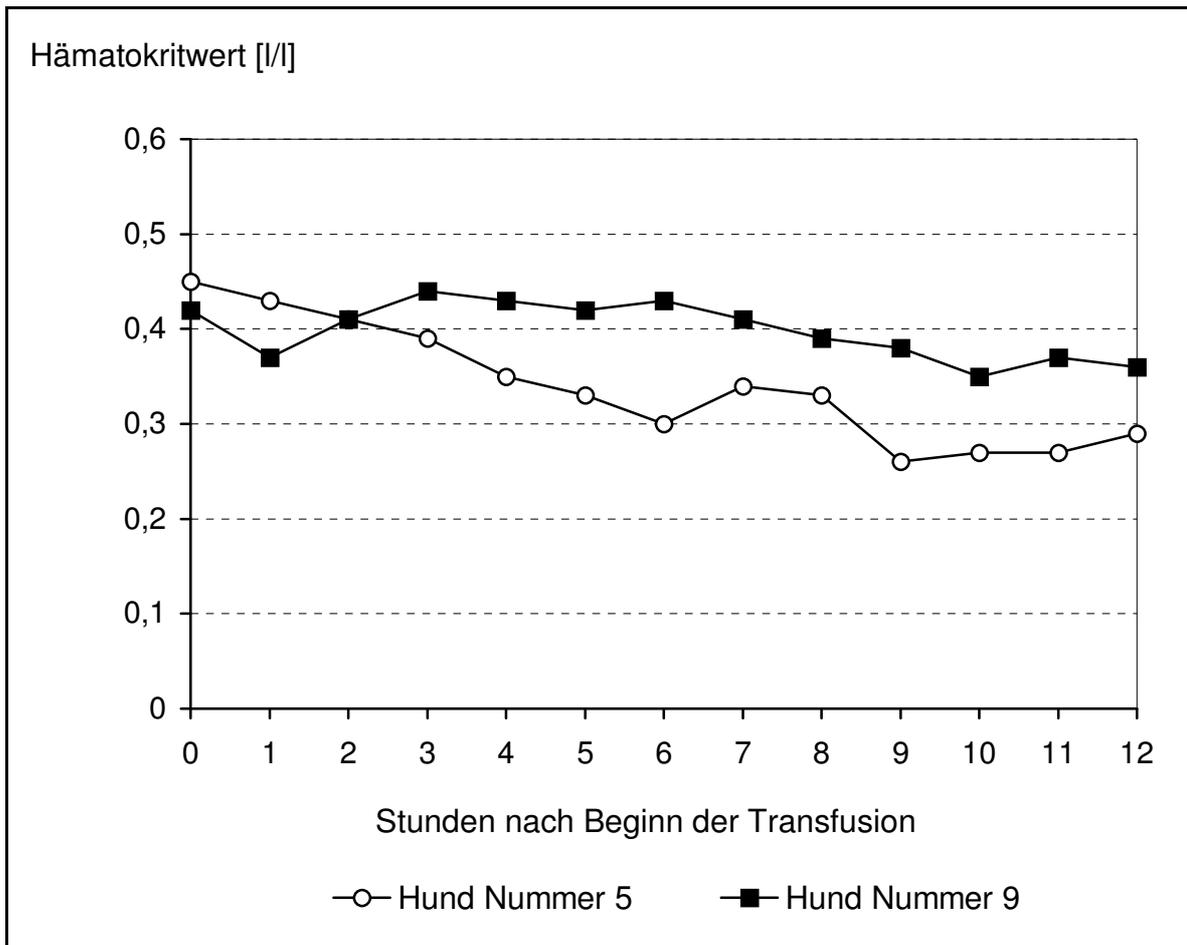


Abbildung 1: Verlauf des Hämatokritwertes bei den Hunden Nr. 5 und 9 nach der dritten Transfusion

Wie aus der Abbildung 1 hervorgeht, sank bei beiden Empfängerhunden unmittelbar nach der dritten Transfusion der Hämatokritwert ab, anstatt anzusteigen. Vor allem bei Hund Nr. 5 war der Hämatokritwertabfall deutlich, und der Anstieg begann erst ab zehn Stunden p.T. Zwei Tage nach Transfusion wurde der Ausgangswert wieder erreicht. Bei Hund Nr. 9 hingegen war der Abfall nicht so gravierend und schon am nächsten Tag befand sich der Hämatokritwert wieder innerhalb des Referenzbereiches.

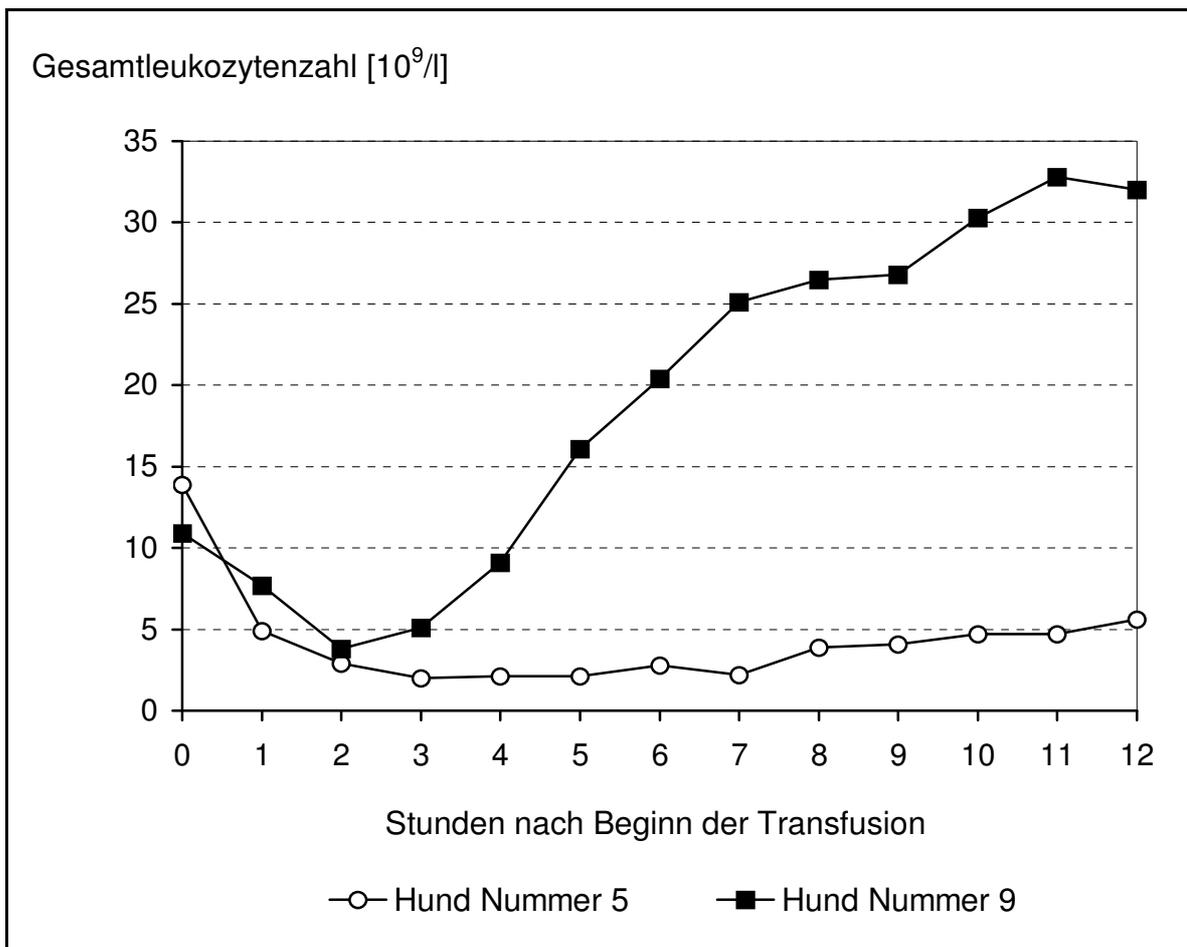


Abbildung 2: Verlauf der Gesamtleukozytenzahl bei den Hunden Nr. 5 und 9 nach der dritten Transfusion

In Abbildung 2 sind die Veränderungen der Gesamtleukozytenzahl während und nach der dritten Blutübertragung dargestellt. Auch dieser Parameter sank bei beiden Hunden unmittelbar nach der Transfusion deutlich ab, wobei Hund Nr. 5 länger im Stadium der Leukopenie verharrte und keine darauf folgende Leukozytose zeigte. Nach 24 Stunden befand sich sein Gesamtleukozytenwert wieder innerhalb des Referenzbereiches. Bei Hund Nr. 9 war die Leukopenie von kürzerer Dauer, allerdings folgte unmittelbar danach eine sehr deutliche Leukozytose, die erst drei Tage später endete.

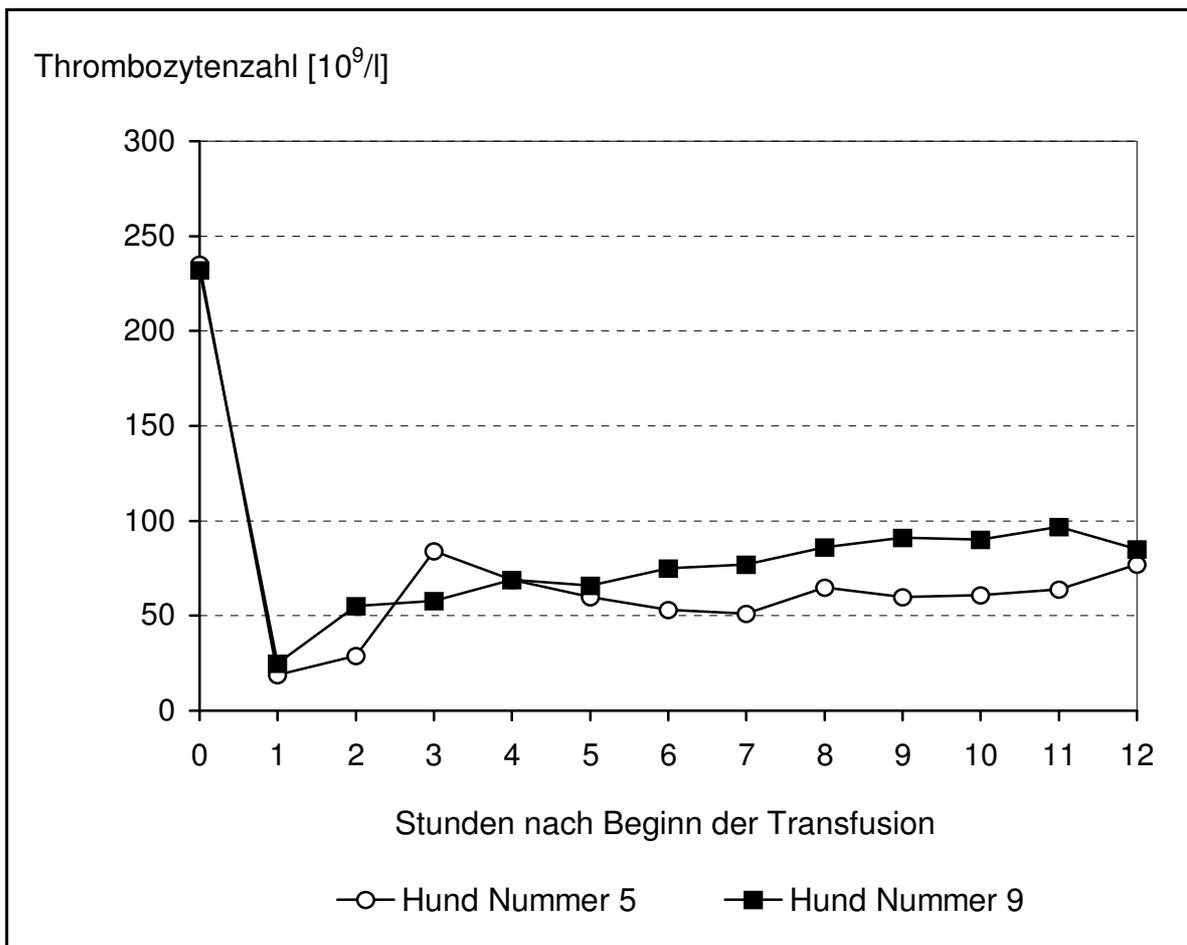


Abbildung 3: Verlauf der Thrombozytenzahl bei den Hunden Nr. 5 und 9 nach der dritten Transfusion

Die Abbildung 3 zeigt den Verlauf der Thrombozytenzahl innerhalb der ersten zwölf Stunden nach der dritten Transfusion. Auch hier fand ein massiver Abfall unmittelbar nach Beginn der Blutübertragung statt, der bei beiden Hunden annähernd gleich verlief. Der Referenzbereich für die Thrombozytenzahl wurde erst nach fünf Tagen wieder erreicht.

Obwohl beide Hunde eine hgr. Thrombozytopenie zeigten, traten bei keinem klinische Anzeichen für eine hämorrhagische Diathese auf Grund eines Mangels von Blutplättchen auf. Trotz gezielter Suche nach petechialen Blutungen an den Prädilektionsstellen waren diese während des gesamten Untersuchungszeitraumes nicht zu beobachten.

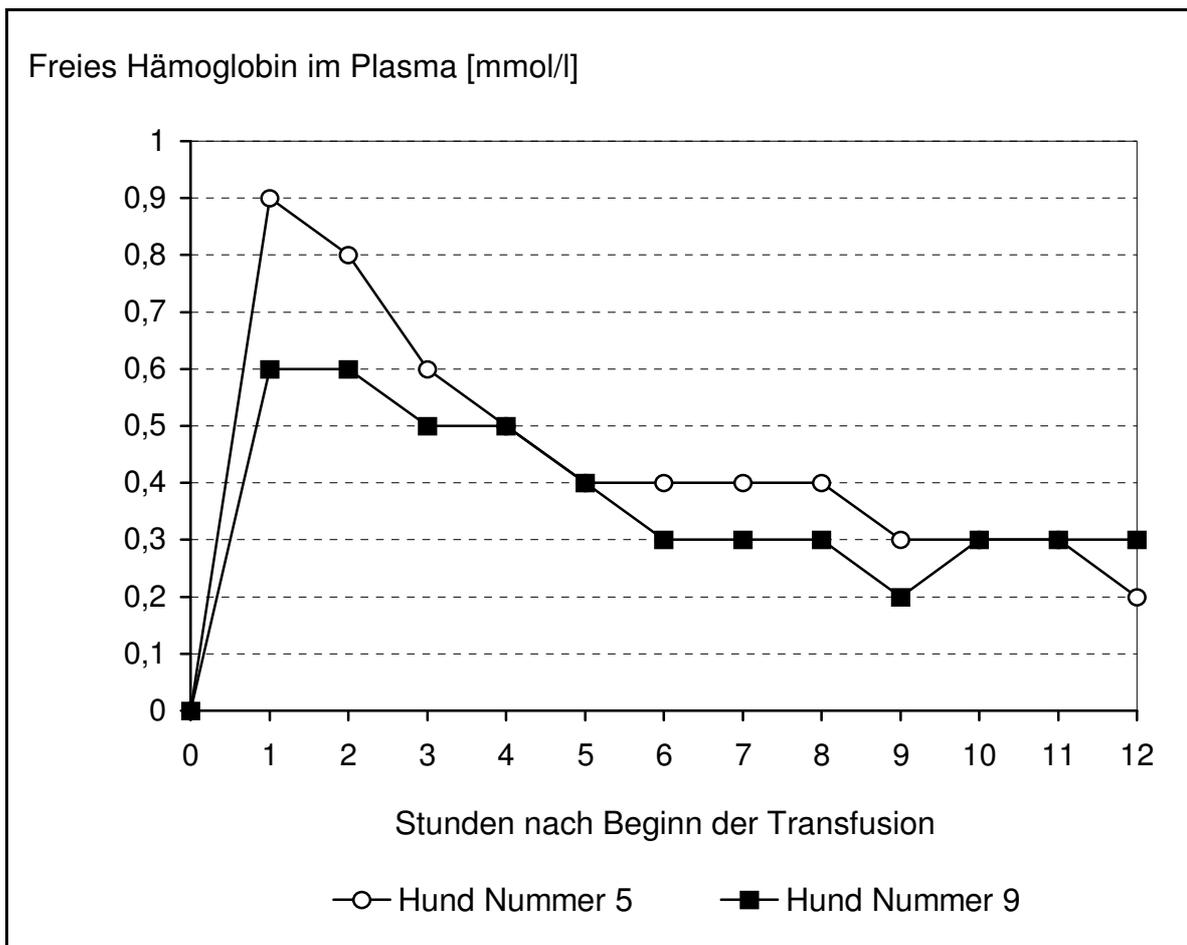


Abbildung 4: Verlauf des freien Hämoglobins bei den Hunden Nr. 5 und 9 nach der dritten Transfusion

Die Abbildung 4 zeigt das Auftreten von freiem Hämoglobin im Plasma unmittelbar nach Start der dritten Transfusion mit den Maximalwerten ca. eine Stunde nach Beginn der Blutübertragung. Ab dem Zeitpunkt sank das freie Hämoglobin wieder ab, den Ausgangswert erreichten beide Hunde nach zwei Tagen.

Außer den vier Parametern Hämatokritwert, Gesamtleukozytenzahl, Thrombozytenzahl und freies Hämoglobin im Plasma waren bei Hund Nr. 5 noch direkte Leberparameter, nämlich die Leberenzyme ALT (GPT), AP und GLDH nach der Zweit- und Dritttransfusion verändert. Alle drei Enzymaktivitäten waren nach den beiden Transfusionen jeweils ggr.-mgr. über sechs bis zehn Tage erhöht, aber sowohl das Gesamtbilirubin als auch das direkte Bilirubin blieben innerhalb der Referenzbereiche. Auch das Globulin erhöhte sich in Anschluß an die beiden letzten Blutübertragungen. Bei dem Hund Nr. 9 waren die selben

Veränderungen bei den blutchemischen Untersuchungen zu beobachten, allerdings dauerte der Anstieg der Leberenzymaktivitäten (GPT, AP und GLDH) nur zwei bis vier Tage.

### 4.3 Urinuntersuchung

Die Urinuntersuchungen bei den zwei Spendern und acht Empfängern wurden nach dem selben zeitlichen Schema durchgeführt wie die Blutuntersuchungen. Auch hier waren bei den beiden Spendern (Hund Nr. 1 und 2) keine auffälligen Veränderungen zu beobachten.

Bei den Hunden Nr. 5 und 9 traten einige Stunden nach der Zweit- und Dritttransfusion roter Urin auf, dessen Überstand auch nach Zentrifugation rot gefärbt blieb. Bei der Harnuntersuchung mittels Combur-9-Teststick bestätigte sich die erwartete Hämoglobinurie, die bis zu drei Tage später noch nachweisbar war. Hund Nr. 5 zeigte einen Tag nach der Zweit- und am Tag der Dritttransfusion eine ggr. Proteinurie, während Hund Nr. 9 über beinahe den gesamten Untersuchungszeitraum Eiweiß in geringer Menge über den Urin ausschied. Eine hgr. Proteinurie von 23.676,6 mg/l war bei ihm drei Stunden nach der Dritttransfusion feststellbar. Am Tag 52 (d.h. 24 h nach der dritten Transfusion) erreichte der Proteingehalt im Urin wieder den Referenzbereich von max. 300 mg/l. Die restlichen Urinparameter blieben während des gesamten Untersuchungszeitraumes von 60 Tagen innerhalb der Referenzbereiche.

Die übrigen sechs Empfängerhunde (Hund Nr. 3, 4, 6, 7, 8 und 10) zeigten keine Unterschiede der Urinwerte vor und nach den Transfusionen.

### 4.4 Nachweis antierythrozytärer Antikörper

Zum Nachweis der Alloimmunisierung der Empfänger gegen die Erythrozyten der Spender wurden Kreuztests am Objektträger (IDL) sowie Hämolyse- und Agglutinationstests in EPPENDORF-Röhrchen durchgeführt.

#### 4.4.1 Kreuztest

Die Kreuztests auf den Objektträgern wurden jeweils am Tag der Probenentnahme sowohl als Major- und Minortest durchgeführt. Der Minortest (Spenderserum + Empfängererythrozyten) war bei allen Untersuchungen negativ. Im Majortest (Spendererythrozyten + Empfängerserum) war beim Hund Nr. 5 ab dem Tag 21, beim Hund Nr. 9 ab dem Tag 45 eine Agglutinationsreaktion feststellbar, die durchgehend bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes am Tag 60 auftrat. Die Hunde Nr. 3, 4, 6, 7, 8 und 10 zeigten auch im Majortest keine Reaktion.

#### 4.4.2 Hämolysetest

Alle Empfängertiere mit Ausnahme der Hunde Nr. 5 und 9 zeigten keine Reaktion im Hämolysetest während des gesamten Untersuchungszeitraumes. Das Auftreten von hämolysierenden Antikörpern, deren Temperaturoptimum und Titerverlauf bei den beiden genannten Hunden werden in den Abbildungen 5 und 6 dargestellt. Die Tage, an denen die Transfusionen durchgeführt wurden, sind mit Pfeilen markiert.

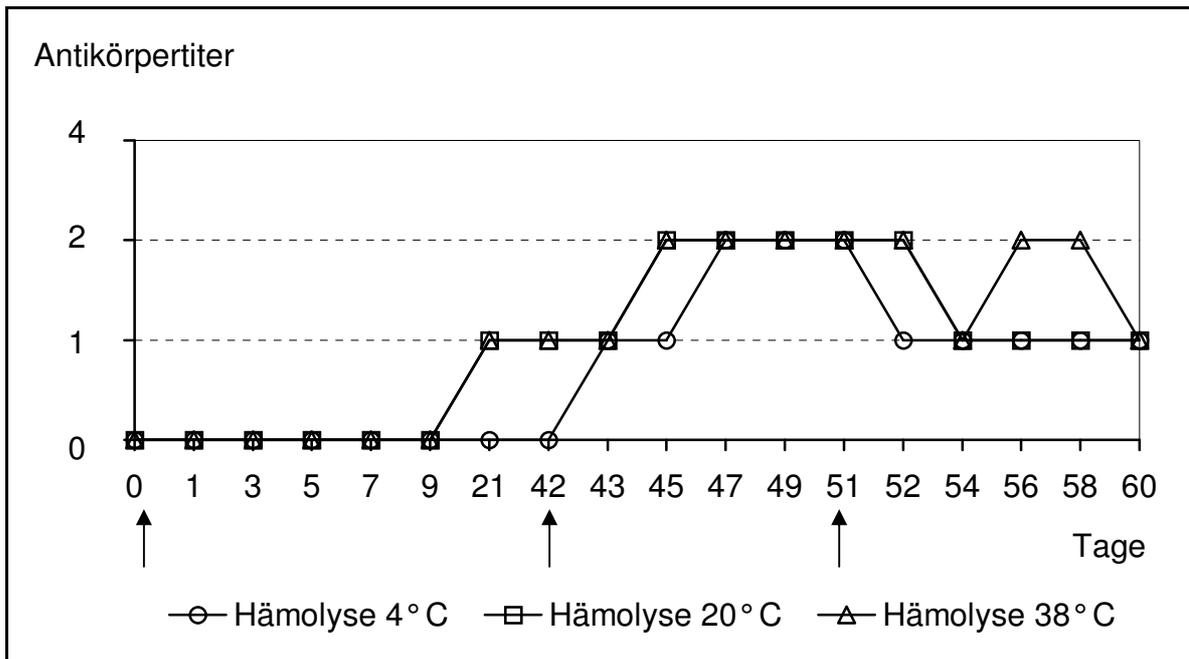


Abbildung 5: Titerverlauf und –höhe der hämolysierenden Antikörper bei Hund Nr. 5

Wie aus der Abbildung 5 hervorgeht, traten beim Hund Nr. 5 hämolysierende Antikörper bei den Inkubationstemperaturen 20° und 38° C ab dem Tag 21 auf, bei der Inkubationstemperatur 4° C ab dem Tag 43. Die Titerhöhe erreichte bei allen drei Temperaturen maximal die Verdünnungsstufe 1:2. Während des Untersuchungszeitraumes bis zum Tag 60 fielen die Titer teilweise wieder ab, aber die hämolysierenden Antikörper waren bis zum Ende nachweisbar.

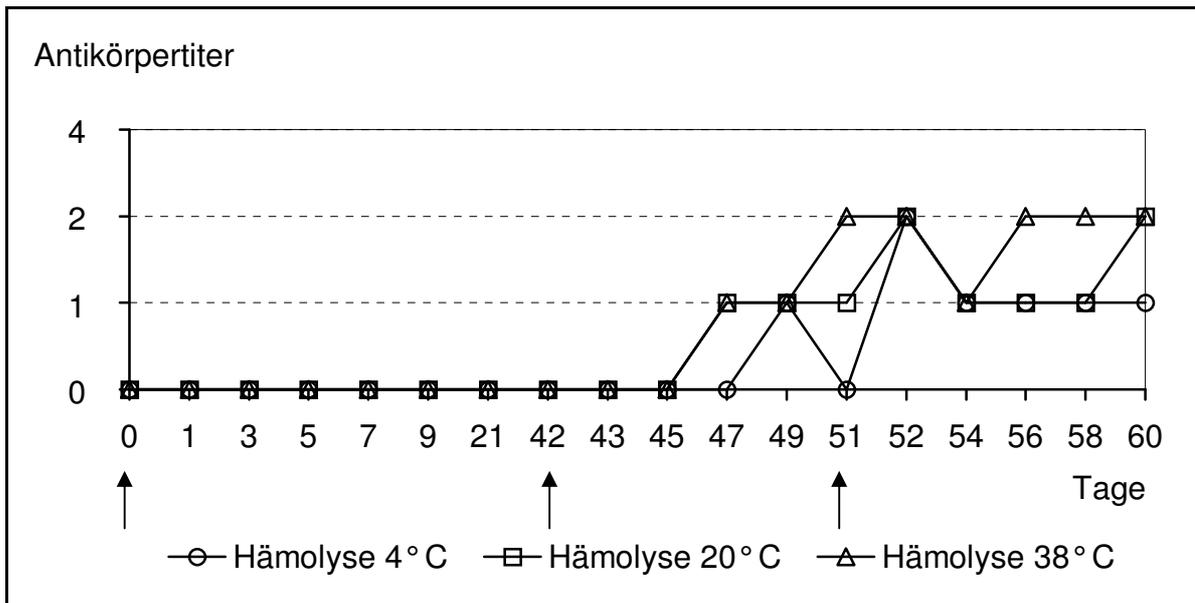


Abbildung 6: Titerverlauf und -höhe der hämolysierenden Antikörper bei Hund Nr. 9

Die Abbildung 6 zeigt den Verlauf der hämolysierenden Antikörper bei Hund Nr. 9. Auch bei diesem Hund erreichte der Titer maximal die Stufe 2, allerdings traten die Antikörper erst später im Untersuchungszeitraum auf (20° und 38° C ab Tag 47, 4° C ab Tag 49) und der Verlauf schwankte stärker als bei Hund Nr. 5.

#### 4.4.3 Direkter Agglutinationstest

Wie beim Hämolysetest ließen sich mit der direkten Agglutinationsreaktion auch nur bei den Empfängerhunden Nr. 5 und 9 Antikörper nachweisen. Deren Titer und Verlauf während des Untersuchungszeitraumes ist in den Abbildungen 7 und 8 dargestellt. Auch in diesen beiden Abbildungen sind die Transfusionstage mit Pfeilen gekennzeichnet.

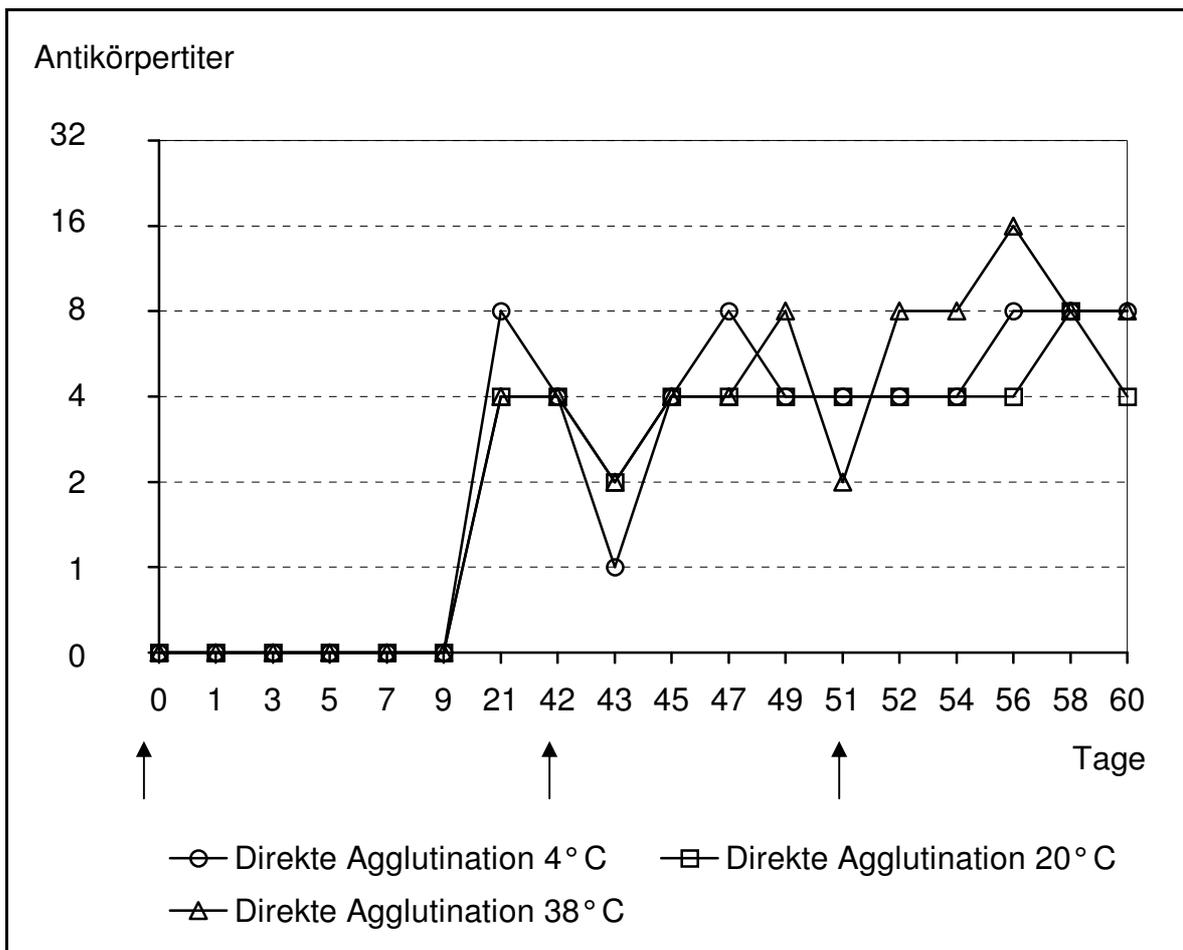


Abbildung 7: Titerverlauf und –höhe der direkt agglutinierenden Antikörper bei Hund Nr. 5

Die Abbildung 7 zeigt, dass bei dem Hund Nr. 5 die direkt agglutinierenden Antikörper bei allen Inkubationstemperaturen ab dem Tag 21 nachweisbar waren und bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes am Tag 60 auftraten. Die höchste Titerstufe wurde mit 1:16 am Tag 56 bei 38° C erreicht, durchschnittlich lagen die Titer bei 1:4 bis 1:8, also deutlich höher als bei den hämolysierenden Antikörpern.

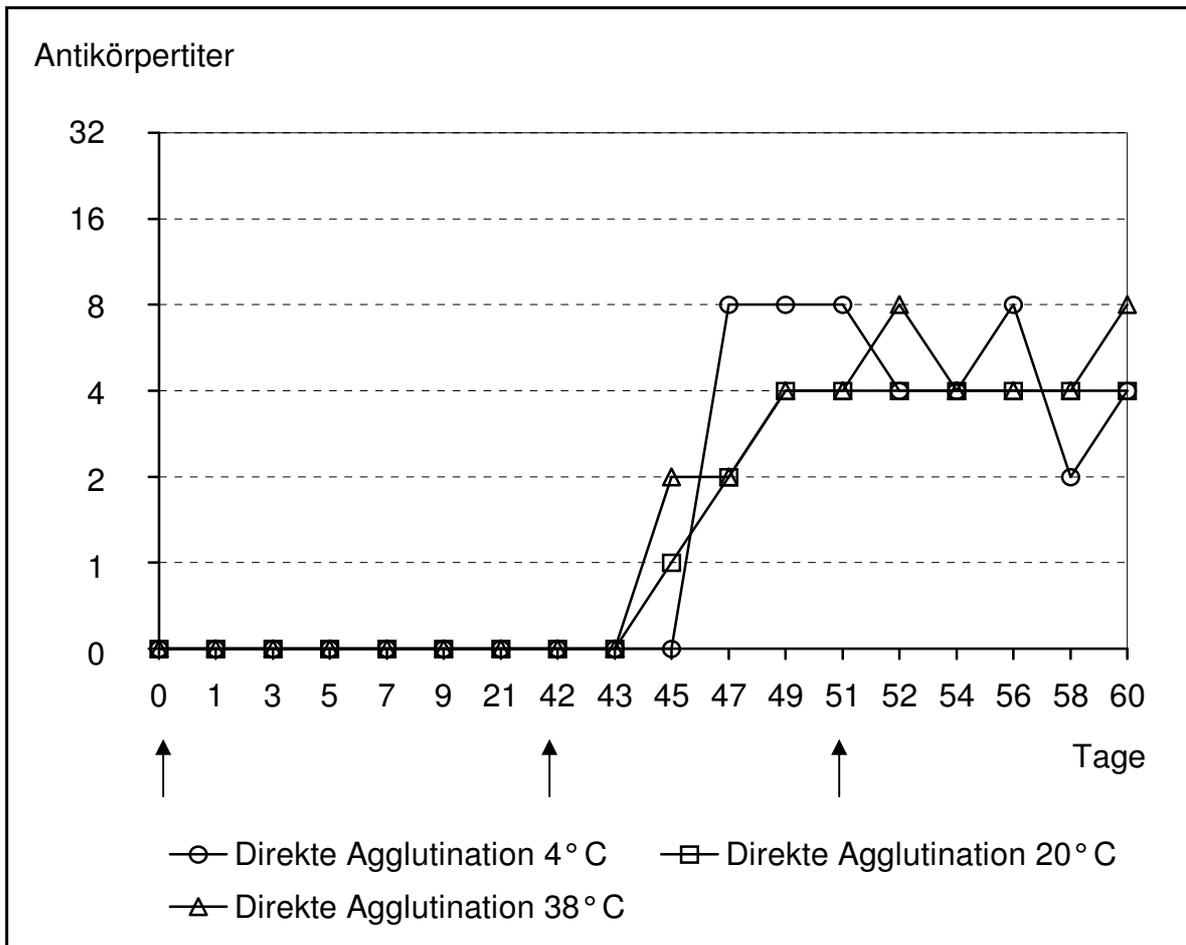


Abbildung 8: Titerverlauf und –höhe der direkt agglutinierenden Antikörper bei Hund Nr. 9

Die Abbildung 8 zeigt das Auftreten der direkt agglutinierenden Antikörper bei dem Hund Nr. 9, deren Verlauf sich von dem des Hundes Nr. 5 insofern unterschied, dass die Antikörper erst später während des Transfusionsversuchs (ab dem Tag 45) nachweisbar waren, und der maximale Titer nur 1:8 erreichte. Hinsichtlich der Verhältnisse zwischen den verschiedenen Inkubationstemperaturen und den durchschnittlichen Antikörpertitern war Hund Nr. 9 vergleichbar mit Hund Nr. 5.

#### 4.4.4 Indirekter Agglutinationstest

Auch bei dem indirekten Agglutinationstest waren Antikörper nur bei den Hunden Nr. 5 und 9 nachweisbar, allerdings mit z.T. sehr hohen Titerstufen im Vergleich mit den direkt agglutinierenden und v.a. den hämolysierenden Antikörpern. Eine Übersicht über den Antikörperverlauf bei diesen beiden Hunden geben die Abbildungen 9 und 10, wiederum mit Pfeilen zur Markierung jener Tage, an denen die Blutübertragungen durchgeführt wurden.

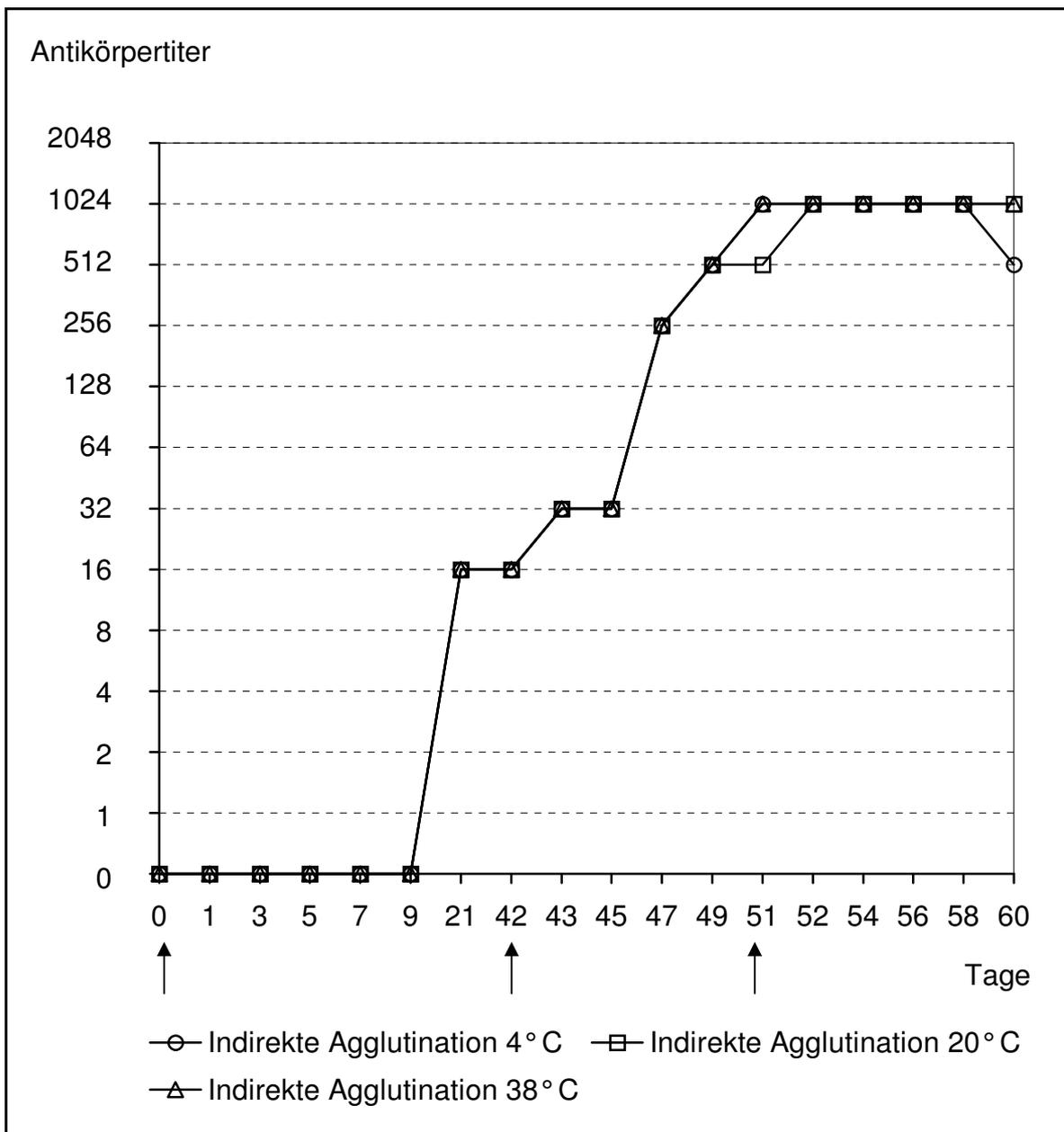


Abbildung 9: Titerverlauf und -höhe der indirekt agglutinierenden Antikörper bei Hund Nr. 5

Die Abbildung 9 zeigt, dass bei dem Hund Nr. 5 die indirekt agglutinierenden Antikörper schon ab dem Tag 21 vorhanden waren und eine maximale Titerstufe von 1:1024 erreichten. Zwischen den einzelnen Inkubationstemperaturen waren hinsichtlich des zeitlichen Auftretens und der Titerhöhen keine wesentlichen Unterschiede zu beobachten.



Neben dem Nachweis der direkt agglutinierenden Antikörper mittels Kreuztest auf dem Objektträger und in den EPPENDORF-Reaktionsgefäßen wurden die Agglutinate des direkten Agglutinationstest mit der Inkubationstemperatur von 38° C bei Hund Nr. 5 auch durch rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen dargestellt. In den Abbildungen 11 bis 15 sind die Negativkontrollen und eine ggr. bzw. hgr. Verklumpung der Erythrozyten bei tausend- und dreitausendfacher Vergrößerung zu sehen.

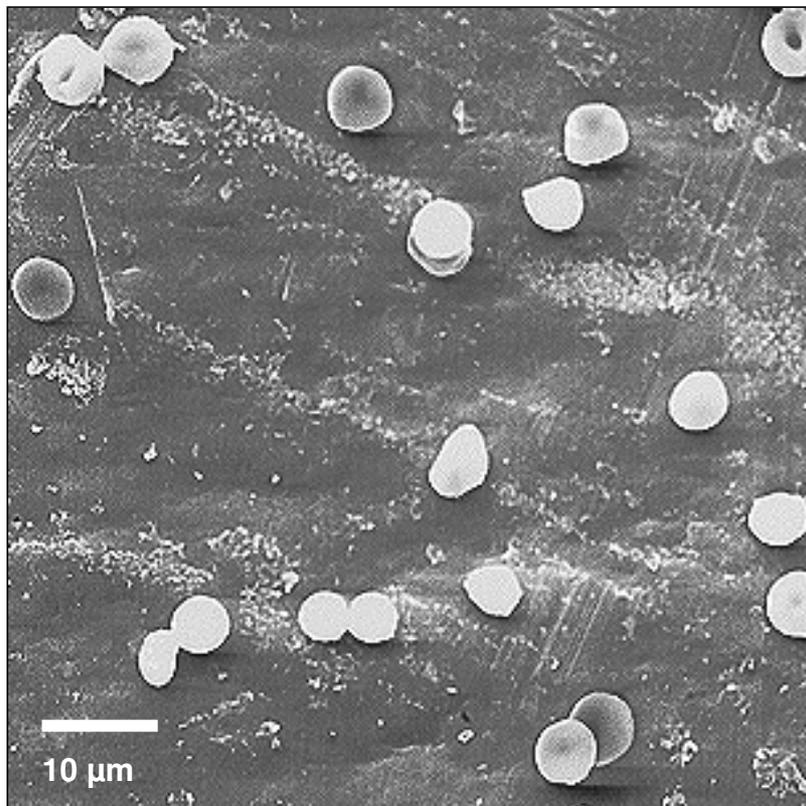


Abbildung 11: Rasterelektronenmikroskopische Darstellung der Negativkontrolle (Vergrößerung: 1:1000)

Die Abbildung 11 zeigt mit tausendfacher Vergrößerung die nicht verklumpten Erythrozyten aus der Negativkontrolle (d.h. Spendererythrozyten + PBS) des direkten Agglutinationstests im EPPENDORF-Röhrchen vom Hund Nr. 5 am Tag 60 des Transfusionsversuches. Die nicht verklumpten Erythrozyten liegen vereinzelt über das Gesichtsfeld verteilt vor, bei einigen ist die physiologische zentrale Eindellung zu erkennen.

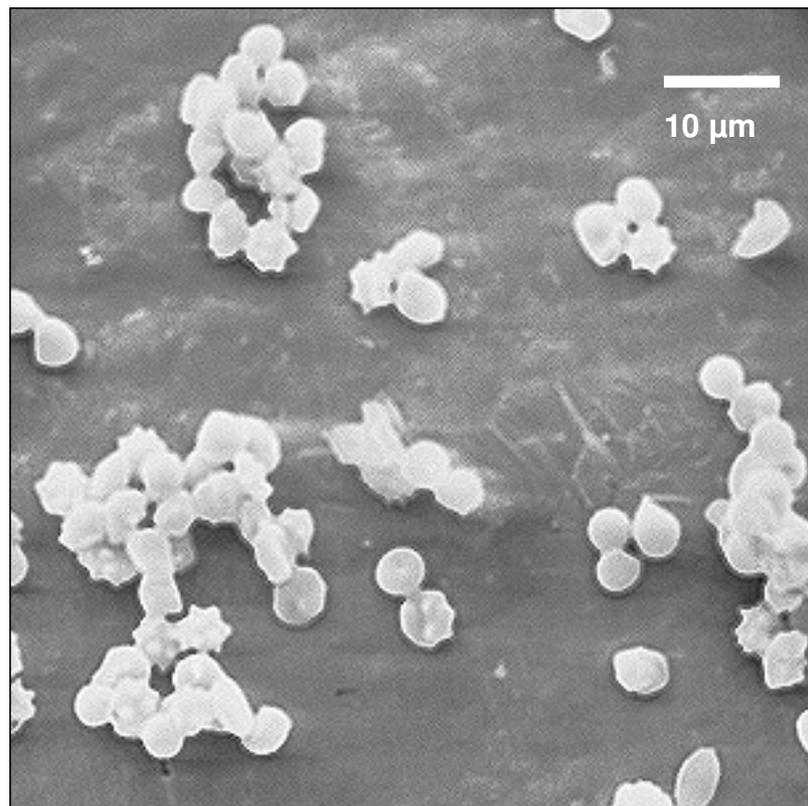


Abbildung 12: Rasterelektronenmikroskopische Darstellung der ggr. Agglutination (Vergrößerung: 1:1000)

In der Abbildung 12 sind mehrere kleinere Agglutinate von eng aneinander gelagerten Erythrozyten erkennbar. Hierbei handelt es sich um die Verklumpungen beim direkten Agglutinationstest von Hund Nr. 5 am Tag 60 mit der Verdünnungsstufe des Testserums von 1:4. Einige Erythrozyten zeigen eine deutliche Stechapfelform, manche rote Blutzellen liegen einzeln ohne Verklumpung.

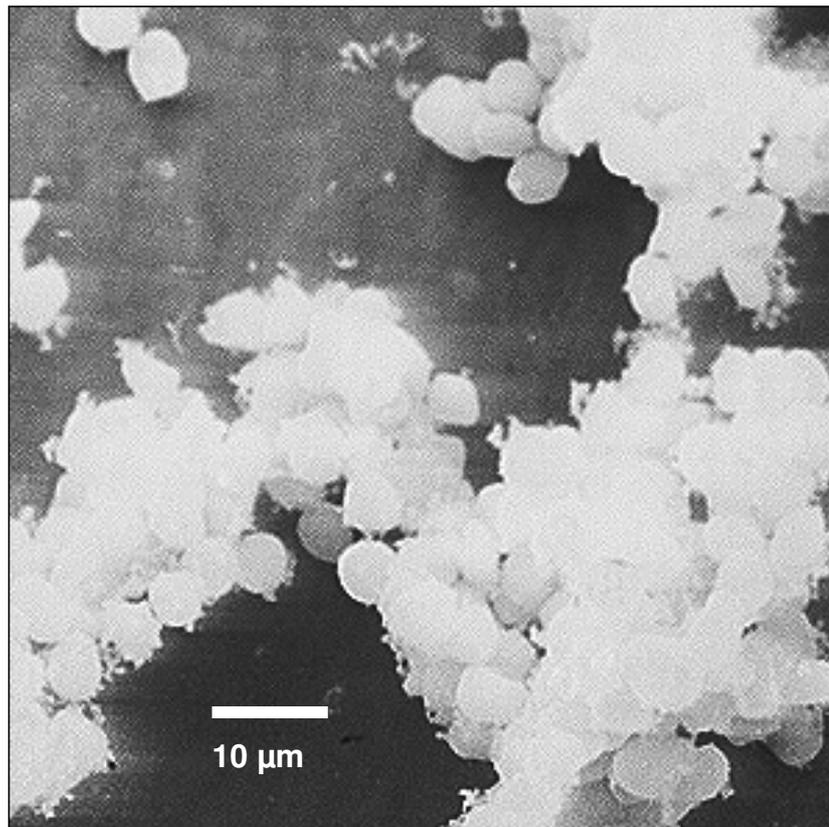


Abbildung 13: Rasterelektronenmikroskopische Darstellung der hgr. Agglutination (Vergrößerung: 1:1000)

In der Abbildung 13 ist die Größe der Agglutinate bei einer hgr. Agglutination offensichtlich. In dieser Abbildung ist die Verklumpung von Testerythrozyten am Tag 60 nach Inkubation mit unverdünntem Testserum dargestellt, die einzelnen roten Blutzellen sind kaum noch als solche erkennbar und bilden eine nahezu amorphe Masse.

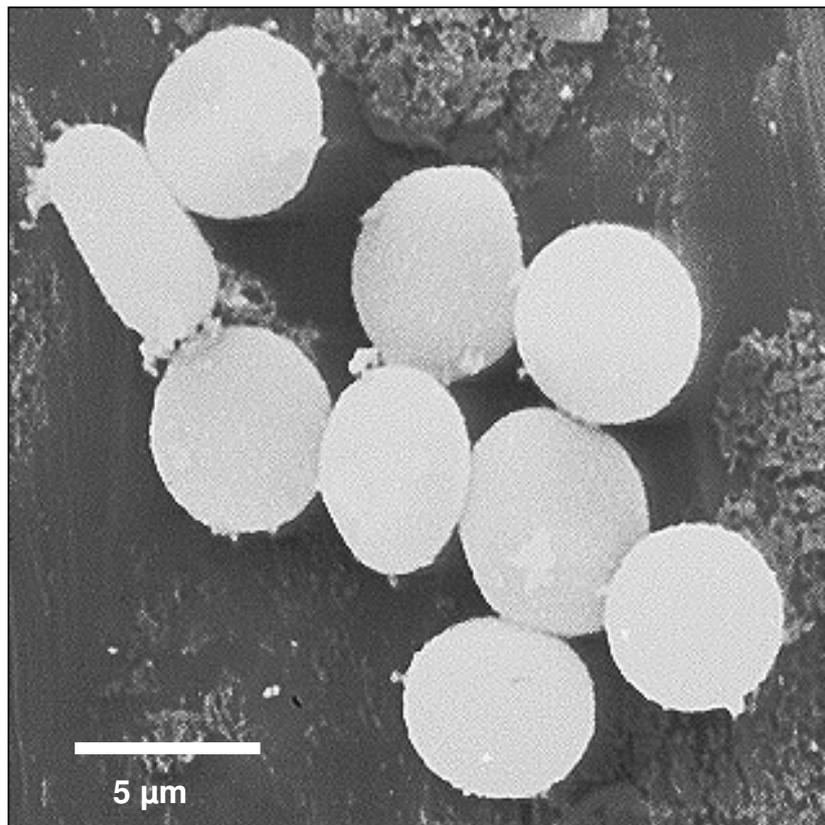


Abbildung 14: Rasterelektronenmikroskopische Darstellung der Negativkontrolle (Vergrößerung: 1:3000)

In der Abbildung 14 ist der selbe Testansatz wie in der Abbildung 11 dargestellt, allerdings mit dreitausendfacher Vergrößerung. Die einzelnen Erythrozyten sind nicht miteinander verklumpt, liegen aber nahe beieinander.

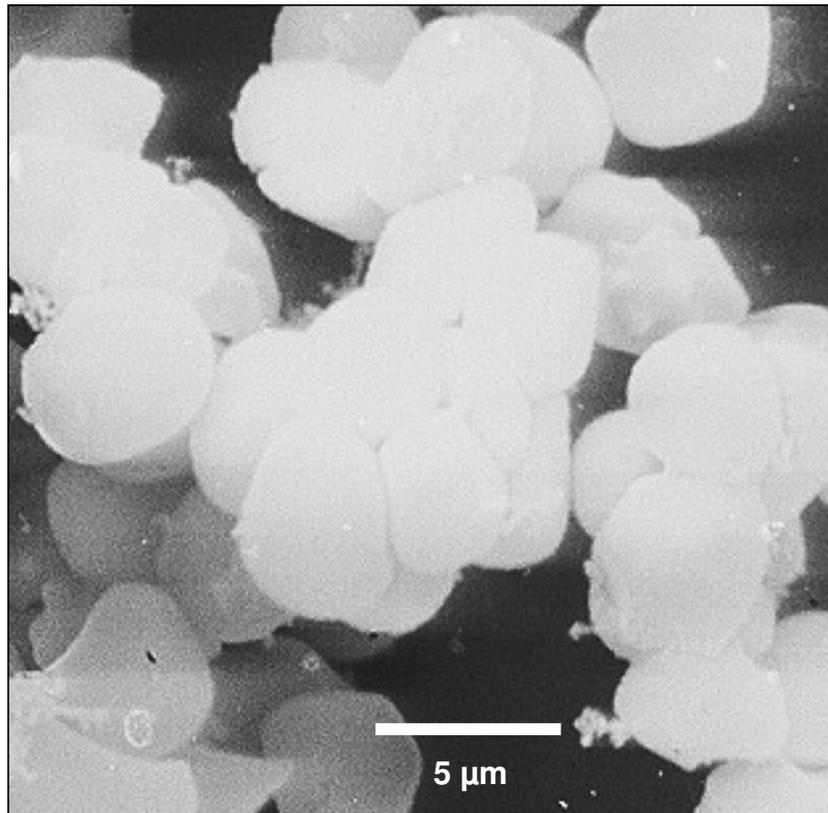


Abbildung 15: Rasterelektronenmikroskopische Darstellung der hgr. Agglutination (Vergrößerung: 1:3000)

Die Abbildung 15 entspricht der Abbildung 13, außer dass in ihr die hgr. verklumpten Erythrozyten in dreitausendfacher Vergrößerung abgebildet sind. Die eng aneinander gelagerten, dabei große Agglutinate bildenden roten Blutzellen sind deutlich zu erkennen.

Durch die Visualisierung der Erythrozytenaggregate mittels rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen nach Inkubation mit direkt agglutinierenden antierythrozytären Antikörpern lassen sich die makroskopischen Beobachtungen plastisch darstellen.

## B. Zweiter Teil: Patienten

Während eines Zeitraumes von drei Jahren (01. September 1996 bis 31. August 1999) wurden alle Hunde, die als Patienten in der MVK I vorgestellt wurden, hinsichtlich des Vorliegens einer Anämie untersucht und bei jenen, die eine Vollbluttransfusion erhalten haben, die Krankenakten in Hinblick auf klinische Symptome, Blut- und Urinparameter ausgewertet. Zusätzlich wurde von den transfundierten Hunden Serum gewonnen und auf Antikörper gegen die Erythrozyten des jeweiligen Spenders untersucht. Die Einteilung der mit Vollblut transfundierten Patienten in die jeweiligen Anämiegruppen, sowie deren Geschlecht und Alter wird in der Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Geschlechts- und Altersverteilung der transfundierten Patienten (n=98)

Patientengruppe	M	MK	W	WK	Gesamt	Alter (Jahre)
Gruppe 1 (Blutungsanämie)	18 (18,4%)	2 (2,0%)	17 (17,3%)	8 (8,2%)	45 (45,9%)	5,6
Gruppe 2 (Hämolytische Anämie)	10 (10,2%)	2 (2,0%)	16 (16,3%)	3 (3,1%)	31 (31,6%)	4,8
Gruppe 3 (Nichtregenerative Anämie)	12 (12,2%)	0	8 (8,2%)	2 (2,0%)	22 (22,4%)	6,0
Gesamt	40 (40,8%)	4 (4,1%)	41 (41,8%)	13 (13,3%)	98 (100%)	5,4

Wie aus der Tabelle 9 hervorgeht, überwiegen bei dieser Gruppe von Patienten jene mit Blutungsanämie (n=45, das entspricht 45,9%), während Hunde mit nicht- bzw. hyporegenerativer Anämie am seltensten vorkamen (n=22 oder 22,4%). Der Rest (n=31 bzw. 31,6%) entfiel auf die Gruppe 2 (Hämolytische Anämie). Die weiblichen Tiere überwiegen, außer in der Gruppe 3. Das Durchschnittsalter aller mit Vollblut transfundierten Hunde lag bei 5,4 Jahren, wobei Patienten mit nichtregenerativer Anämie deutlich älter, solche mit hämolytischer Anämie jünger

waren. Die Einzeltierbefunde dieser Hunde sind im Anhang in der Tabelle 26 dargestellt (S.186ff.).

#### 4.5 Häufigkeit von Anämien und Vollbluttransfusionen im Patientengut

Während des oben angeführten Untersuchungszeitraumes von 3 Jahren wurden insgesamt 13.141 Hunde in der MVK I vorgestellt, die 168 verschiedenen Rassen (inklusive der Gruppe der Mischlinge) angehörten. Davon zeigten 1.346 Patienten (10,2%) eine Anämie (d.h. Hämatokritwert, Erythrozytenzahl oder Hämoglobin unterhalb des jeweiligen Referenzbereiches). Diese 1.346 anämischen Hunde verteilten sich auf 108 verschiedenen Rassen. Von den 1.346 Anämiepatienten wurden bei 98 (7,3% bzw. 0,75% aller vorgestellten Hunde) eine Vollbluttransfusion vorgenommen. Bei den transfundierten Hunden waren noch 42 Rassen vertreten.

In den Tabellen 10 bis 13 sowie den Abbildungen 16 bis 19 werden die Geschlechts-, Rassen- und Altersverteilungen bei den Hunden dargestellt.

Tabelle 10: Geschlechtsverteilung aller Patienten (n=13.141)

<b>Geschlecht</b>	<b>Gesamtpatienten</b>	<b>Anämiepatienten</b>	<b>Transfundierte Patienten</b>
Männlich (M)	6.301 (47,9%)	620 (46,1%)	40 (40,8%)
Männlich-kastriert (MK)	964 (7,3%)	82 (6,1%)	4 (4,1%)
Weiblich (W)	4.158 (31,6%)	497 (36,9%)	41 (41,8)
Weiblich-kastriert (WK)	1.718 (13,1%)	147 (10,9%)	13 (13,3%)

In der Tabelle 10 sind die Geschlechtsverteilungen zwischen den Gesamtpatienten, den Patienten mit Anämie und denen mit Vollbluttransfusionen dargestellt. Während bei den Gesamtpatienten und den Anämiepatienten die männlichen und männlich-kastrierten Hunde überwogen, waren bei den

transfundierte Patienten die weiblichen und weiblich-kastrierten Tiere in der Überzahl.

Bei der statistischen Auswertung der Geschlechtsverteilung zwischen den drei Gruppen (Gesamtpatienten, Anämiker und transfundierte Patienten) mittels Chi-Quadrat-Test konnte mir einer Signifikanz von  $p < 0,001$  ein hoch signifikanter Unterschied über alle drei Gruppen festgestellt werden.

Bei der Rassenverteilung kam am häufigsten die Gruppe der Mischlingshunde vor, gefolgt von den Deutschen Schäferhunden. In der Tabelle 11 wird ein Überblick über jene Rassen gegeben, die mit mindestens 50 Tieren unter den Gesamtpatienten vertreten waren.

Tabelle 11: Rassenverteilung aller Patienten (n=13.141)

Rasse	Gesamtpatienten	Anämiepatienten	Transfundierte Patienten
Mischling	2.771 (21,1%)	310 (23,0%)	27 (27,6%)
Deutscher Schäferhund	1.489 (11,3%)	121 (9,0%)	9 (9,2%)
Dackel	777 (5,9%)	47 (3,5%)	3 (3,1%)
Boxer	489 (3,7%)	32 (2,4%)	0
Pudel	437 (3,3%)	28 (2,1%)	1 (1,0%)
Rottweiler	393 (3,0%)	67 (5,0%)	3 (3,1%)
Golden Retriever	372 (2,8%)	49 (3,6%)	2 (2,0%)
Yorkshire Terrier	371 (2,8%)	28 (2,1%)	1 (1,0%)
Berner Sennenhund	351 (2,7%)	74 (5,5%)	4 (4,1%)
West Highland White Terrier	335 (2,5%)	34 (2,5%)	0
Cocker Spaniel	247 (1,9%)	28 (2,1%)	5 (5,1%)
Dobermann	228 (1,7%)	16 (1,2%)	0
Labrador Retriever	206 (1,6%)	14 (1,0%)	3 (3,1%)
Irish Setter	159 (1,2%)	13 (1,0%)	1 (1,0%)

Fortsetzung Tabelle 11: Rasseverteilung aller Patienten (n=13.141)

<b>Rasse</b>	<b>Gesamt- patienten</b>	<b>Anämie- patienten</b>	<b>Transfundierte Patienten</b>
Riesenschnauzer	139 (1,1%)	24 (1,8%)	2 (2,0%)
Hovawart	129 (1,0%)	13 (1,0%)	0
Collie	128 (1,0%)	11 (0,8%)	1 (1,0%)
Mittelschnauzer	125 (1,0%)	8 (0,6%)	1 (1,0%)
Airedale Terrier	122 (0,9%)	7 (0,5%)	1 (1,0%)
Deutscher Jagdterrier	122 (0,9%)	12 (0,9%)	1 (1,0%)
Jack Russell Terrier	122 (0,9%)	9 (0,7%)	1 (1,0%)
Deutsche Dogge	119 (0,9%)	2 (0,1%)	1 (1,0%)
Beagle	118 (0,9%)	12 (0,9%)	1 (1,0%)
Neufundländer	110 (0,8%)	14 (1,0%)	2 (2,0%)
Deutsch Drahthaar	105 (0,8%)	9 (0,7%)	1 (1,0%)
Bobtail	104 (0,8%)	18 (1,3%)	1 (1,0%)
Fox Terrier	104 (0,8%)	7 (0,5%)	0
Zwergschnauzer	99 (0,8%)	18 (1,3%)	0
Husky	96 (0,7%)	6 (0,4%)	1 (1,0%)
Pit Bull Terrier	92 (0,7%)	19 (1,4%)	4 (4,1%)
Bull Terrier	89 (0,7%)	15 (1,1%)	1 (1,0%)
Kleiner Münsterländer	82 (0,6%)	13 (1,0%)	1 (1,0%)
Dalmatiner	80 (0,6%)	14 (1,0%)	0
Amerikanischer Schäferhund	72 (0,5%)	7 (0,5%)	0
Deutsch Kurzhaar	70 (0,5%)	6 (0,4%)	1 (1,0%)
Irish Wolfhound	70 (0,5%)	7 (0,5%)	0

Fortsetzung Tabelle 11: Rasseverteilung aller Patienten (n=13.141)

Rasse	Gesamt-patienten	Anämie-patienten	Transfundierte Patienten
Staffordshire Bull Terrier	67 (0,5%)	7 (0,5%)	0
Border Collie	65 (0,5%)	4 (0,3%)	0
Chihuahua	63 (0,5%)	5 (0,4%)	0
Malteser	62 (0,5%)	12 (0,9%)	2 (2,0%)
Rhodesian Ridgeback	58 (0,4%)	5 (0,4%)	0
Wachtel	56 (0,4%)	6 (0,4%)	1 (1,0%)
Chow Chow	53 (0,4%)	4 (0,3%)	0
Bearded Collie	52 (0,4%)	6 (0,4%)	1 (1,0%)
Bernhardiner	52 (0,4%)	8 (0,6%)	0
Briard	52 (0,4%)	8 (0,6%)	0
Belgischer Schäferhund	51 (0,4%)	2 (0,1%)	0
Afghane	50 (0,4%)	1 (0,1%)	0
120 andere Rassen	1.538 (11,7%)	166 (12,3%)	14 (14,3%)

Die Tabelle 11 zeigt einen Überblick über die häufigsten Rassen, die während der drei Jahre vom 01. September 1996 bis zum 31. August 1999 in der MVK I vorgestellt wurden. Für die Gesamthundepopulation in Deutschland liegen allerdings keine Zensusdaten vor.

Nach den Mischlingshunden mit einem Anteil von 21,1% waren die häufigsten Rassen im Klientel der MVK I der Deutsche Schäferhund (11,3%), der Dackel (Lang-, Rauh- und Kurzhaardackel zusammen) mit 5,9%, der Boxer (3,7%) und der Pudel (alle Pudelgrößen gemeinsam) mit 3,3%.

Beim Vergleich der Rassenverteilung zwischen allen vorgestellten Patienten (Gesamtpatienten) und denen mit einer Blutarmut (Anämiepatienten) war von

großem Interesse, ob einige Rassen deutlich häufiger bzw. seltener von diesem Symptom betroffen waren. Für die statistische Auswertung der Rasseverteilung wurde für jede einzelne Rasse der Chi-Quadrat-Test oder der Binomialtest (je nach Häufigkeit der jeweiligen Rasse) bei rassebezogenem Signifikanzniveau durchgeführt und dabei die Gruppe der Anämiepatienten mit den Gesamtpatienten verglichen. In der Tabelle 12 werden die Signifikanzen für diejenigen Rassen dargestellt, bei denen Abweichungen vom Durchschnitt auftraten.

Tabelle 12: Signifikanzen für die Häufigkeit von Anämien bei bestimmten Rassen im Vergleich zum Durchschnitt aller vorgestellten Hunde

Rasse	Anämie häufiger als der Durchschnitt	Anämie seltener als der Durchschnitt
Berner Sennenhund	h.s. (***)	
Pit Bull Terrier	h.s. (***)	
Rottweiler	h.s. (***)	
Bluthund	s. (**)	
Bobtail	s.s. (*)	
Riesenschnauzer	s.s. (*)	
Zwergschnauzer	s.s. (*)	
Malteser	s.s. (*)	
Dackel		h.s. (***)
Boxer		s. (**)
Deutsche Dogge		s. (**)
Pudel		s. (**)
Deutscher Schäferhund		s.s. (*)
Australian Shepherd	knapp nicht signifikant	
Border Terrier	knapp nicht signifikant	
Bull Terrier	knapp nicht signifikant	
Mischling	knapp nicht signifikant	
Afghane		knapp nicht signifikant
Dobermann		knapp nicht signifikant
Yorkshire Terrier		knapp nicht signifikant

Wie aus der Tabelle 12 zu ersehen ist, kamen bei folgenden Rassen Anämien signifikant häufiger vor als beim Durchschnitt der in der MVK I im Beobachtungszeitraum vorgestellten Hunde: Berner Sennenhund, Pit Bull Terrier, Rottweiler, Bluthund, Bobtail, Malteser, Riesenschnauzer und Zwergschnauzer. Unterdurchschnittlich oft waren die Rassen Dackel, Boxer, Deutsche Dogge, Pudel und Deutscher Schäferhund von einer Blutarmut betroffen. Knapp verfehlt wurde eine Signifikanz bei den Rassen Afghane, Australian Shepherd, Border Terrier, Bull Terrier, Dobermann, Yorkshire Terrier und bei den Mischlingshunden.

Neben dem Geschlecht und der Rassenzugehörigkeit wurde auch das Alter der vorgestellten Hunde ausgewertet. In der Tabelle 13 wird ein Überblick über die Altersverteilung aller kaninen Patienten gegeben.

Tabelle 13: Altersverteilung aller Patienten (n=13.141)

<b>Alter (Jahre)</b>	<b>Gesamt-patienten</b>	<b>Anämie-patienten</b>	<b>Transfundierte Patienten</b>
Mittelwert	6,91	5,52	5,45
Standardabweichung	4,25	4,34	3,51
Standardfehler des Mittelwertes	0,037	0,118	0,355
Minimum	7 Tage	12 Tage	74 Tage
Maximum	21,5	17,0	12,8

Aus der Tabelle 13 gehen das durchschnittliche Alter mit Standardabweichung  $s$  und Standardfehler des Mittelwertes SEM sowie das Minimum und Maximum aller Patienten, der Anämiepatienten und der Patienten mit Vollbluttransfusion hervor. Das Minimum wurde der besseren Verständlichkeit halber in Tage angegeben und nicht, so wie die anderen Parameter, in Jahre. Es ist zu ersehen, dass die Anämiepatienten und die transfundierten Patienten im Durchschnitt jünger waren als das gesamte Klientel der MVK I.

In den Abbildungen 16 bis 19 wird ein Überblick über die Altersverteilung der Patienten gegeben.

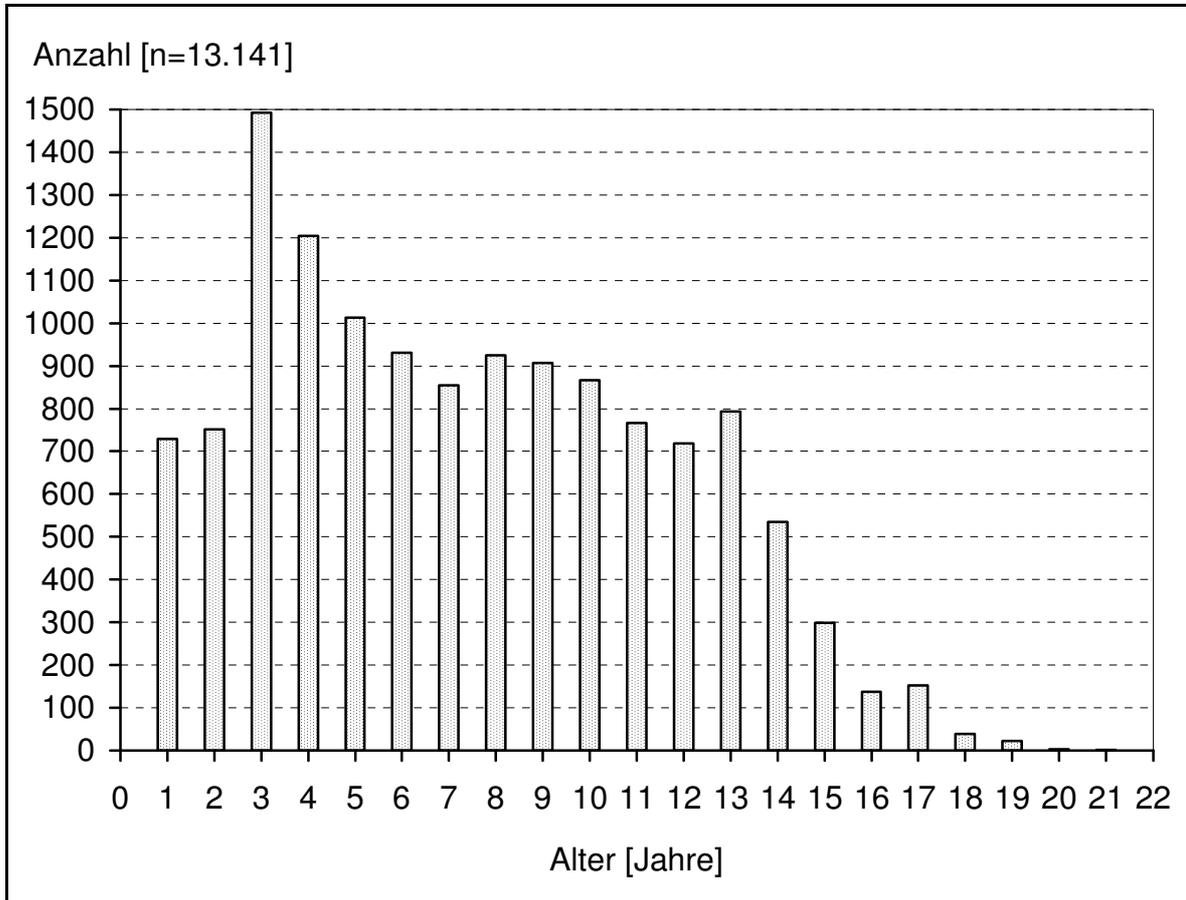


Abbildung 16: Altersverteilung der gesamten Patienten vom 01. September 1996 bis 31. August 1999

Aus der Abbildung 16 ist ersichtlich, dass bei den Gesamtpatienten die Gruppe der Dreijährigen mit 1.493 Hunden am größten war, knapp gefolgt von den Vierjährigen mit 1.204 Patienten. Erst ab dem Alter von 14 Jahren nahm die Patientenzahl deutlich ab, wobei der älteste Patient 21,5 Jahre alt war.

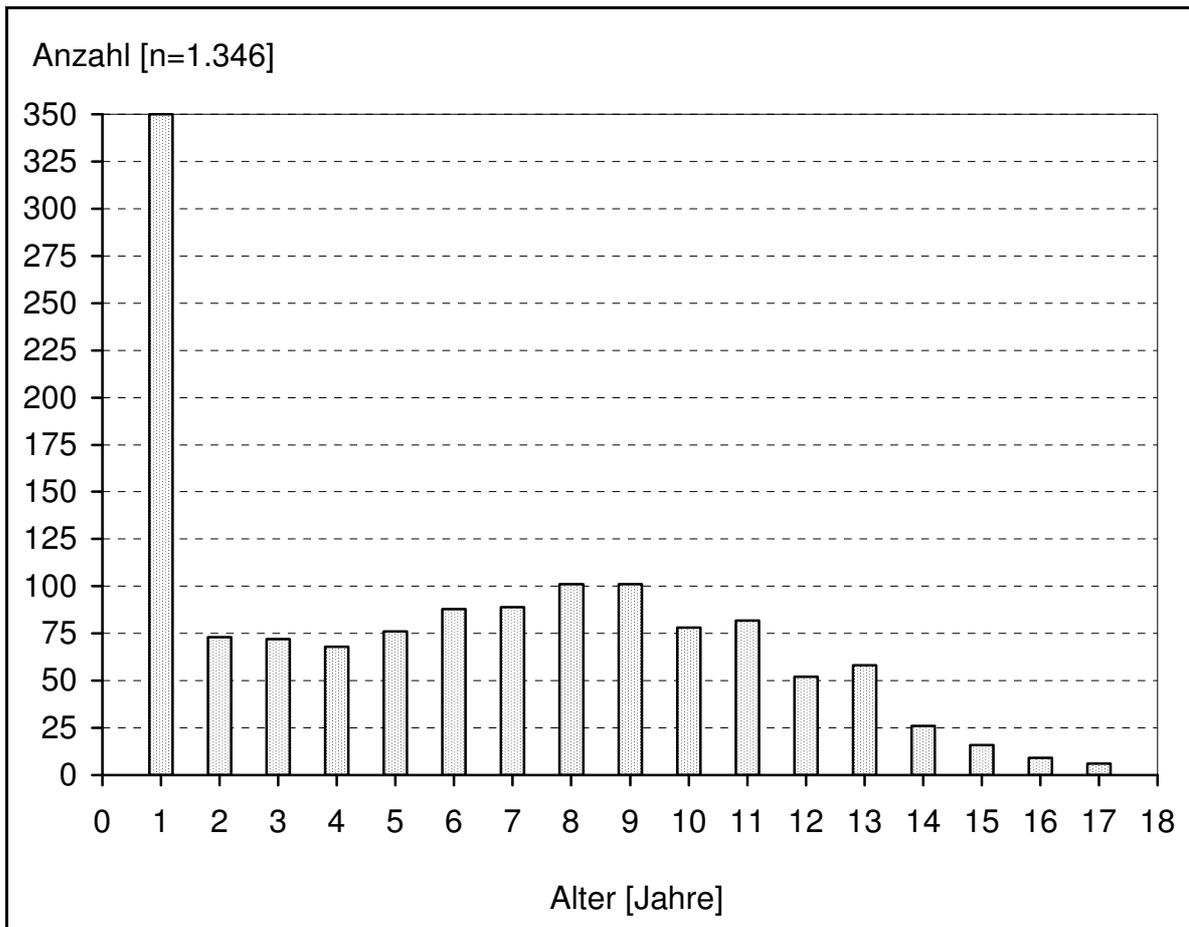


Abbildung 17: Altersverteilung aller anämischen Patienten vom 01. September 1996 bis 31. August 1999

Die Abbildung 17 zeigt, dass bei den Anämiepatienten die Gruppe mit dem Alter bis zu einem Jahr mit 350 Hunden deutlich am größten war. Ab den Zweijährigen stieg der Anteil bis zu den Neunjährigen kontinuierlich an, um danach wieder langsam abzufallen. Der älteste Hund mit Blutarmut war 17,0 Jahre alt.

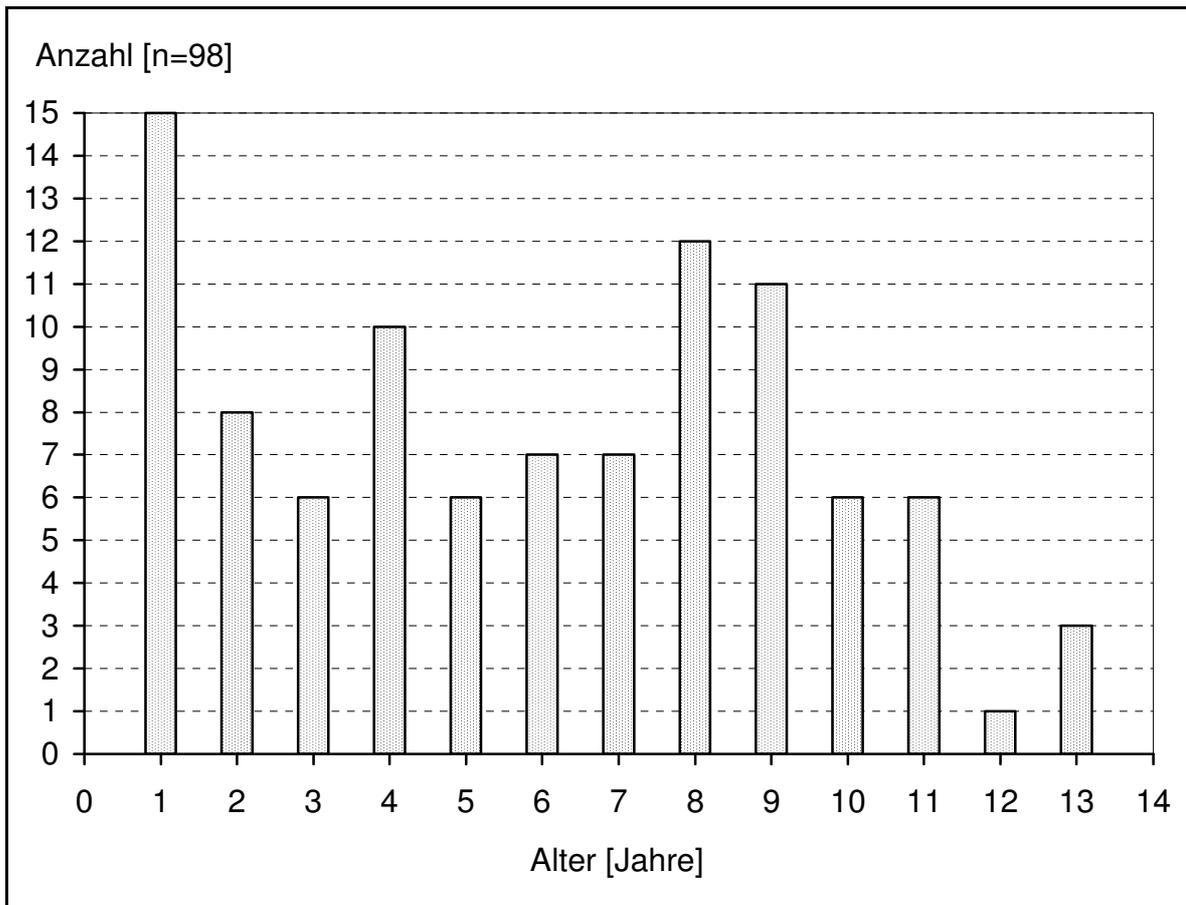


Abbildung 18: Altersverteilung aller Patienten vom 01. September 1996 bis 31. August 1999, die eine Vollbluttransfusion erhalten haben (Transfundierte Patienten)

Die Abbildung 18 zeigt die Altersverteilung der mit Vollblut transfundierten Hunde. Die größte Gruppe mit 15 Patienten bildeten auch hier die Einjährigen, gefolgt von den Acht- und Neunjährigen (12 bzw. 11 Patienten). Die ältesten transfundierten Hunde hatten zum Zeitpunkt der Behandlung ein Alter von 13 Jahren.

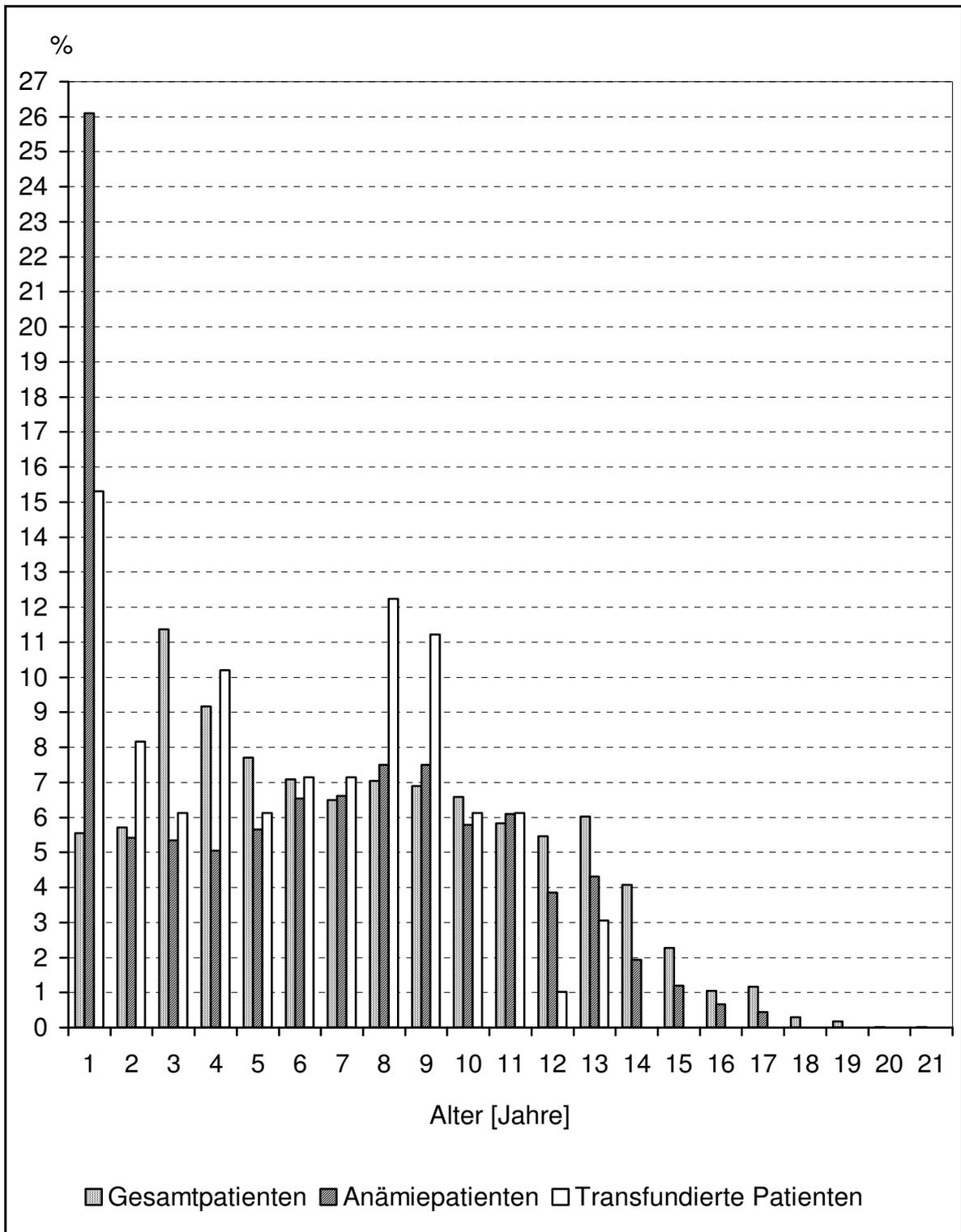


Abbildung 19: Prozentuale Altersverteilung der Gesamtpatienten, der Anämiepatienten und der transfundierten Patienten

Die Abbildung 19 gibt den prozentualen Anteil der Hunde (getrennt nach Gesamtpatienten, Anämiepatienten und transfundierte Patienten) innerhalb der jeweiligen Altersstufen an. Es ist zu erkennen, dass im ersten, achten und neunten Lebensjahr die Patienten mit Anämie überdurchschnittlich häufig vertreten waren, während bei den jüngeren und alten Hunden eine Blutarmut weniger häufig vorkam. Vollbluttransfusionen erhielten vor allem Hunde im ersten, zweiten, vierten, achten und neunten Lebensjahr. Bei älteren Hunden wurden Blutübertragungen kaum noch durchgeführt.

## 4.6 Klinische Untersuchung

Bei allen 98 Hunden, die während des Untersuchungszeitraumes vom 01. September 1996 bis 31. August 1999 Vollbluttransfusionen erhalten haben, wurden vollständige klinische Untersuchungen vor und nach den Transfusionen durchgeführt, vor allem auch in Hinblick auf das mögliche Auftreten von Transfusionszwischenfällen. Da es sich allerdings um kranke Hunde handelte, war die eindeutige Zuordnung von klinischen Symptomen zur primären Erkrankung oder zu einem Transfusionszwischenfall schwierig. Zusätzlich haben alle transfundierten Hunde neben der Vollblutkonserve auch andere Medikamente erhalten, v.a. Prednisolon, Antibiotika und Vollelektrolytinfusionen.

In der Tabelle 14 wird ein Überblick über die klinischen Leitsymptome bei den transfundierten Hunden am Vorstellungstag gegeben, und deren Häufigkeit bei den drei Patientengruppen dargestellt.

Tabelle 14: Klinische Leitsymptome der transfundierten Patienten (n=98)

Symptom	Gruppe 1 Blutungsanämie (n=45)	Gruppe 2 Hämolytische Anämie (n=31)	Gruppe 3 Nichtregenerative Anämie (n=22)
Roter Urin	3 (6,7%)	10 (32,3%)	1 (4,5%)
Blasse Schleimhäute	25 (55,6%)	25 (80,6%)	16 (72,7%)
Fieber	12 (26,7%)	15 (48,4%)	9 (40,9%)
Vergrößerte Lymphknoten	15 (33,3%)	9 (29,0%)	6 (27,3)
Tachykardie	21 (46,7%)	19 (61,3%)	11 (50,0%)
Tachypnoe	10 (22,2%)	7 (22,6%)	5 (22,7%)
Blutung	28 (62,2%)	7 (22,6%)	3 (13,6%)
Ikterus	6 (13,3%)	14 (45,2)	4 (18,2%)

Aus der Tabelle 14 gehen die häufigsten klinischen Leitsymptome hervor, die bei den Patienten zu beobachten waren. Bei Hunden mit einer Blutungsanämie war diese Blutung schon bei 62,2% klinisch auffällig, oft in Form von blutigem Durchfall und Erbrechen, aber auch Haut- und Schleimhautblutungen sowie Epistaxis und Hyphaema kamen oft vor. Relativ häufig zeigten diese Tiere auch vergrößerte Lymphknoten (33,3%).

Patienten mit einer hämolytischen Anämie waren fast zur Hälfte febril (48,4%) und ikterisch (45,2%), zusätzlich ließ sich bei ihnen öfters roter Urin beobachten (32,3%).

Tiere mit unzureichender Hämatopoese (nichtregenerative Anämie) hatten in 40,9% aller Fälle eine erhöhte innere Körpertemperatur, waren aber ansonsten klinisch relativ unspezifisch erkrankt.

Offensichtliche Veränderungen der klinischen Symptome nach den Vollbluttransfusionen, die als Folge eines Transfusionszwischenfalles anzusehen waren, konnten bei keinem der untersuchten Hunden festgestellt werden.

Allerdings starben viele Patienten schon kurz nach der Blutübertragung auf Grund der Schwere ihrer Erkrankung oder mussten eingeschläfert werden. In der Tabelle 15 werden die Überlebenszeiten der Patienten, soweit sich diese eruieren ließen, aufgelistet.

Tabelle 15: Überlebenszeiten der transfundierten Patienten (n=98)

<b>Überlebenszeit</b>	<b>Gruppe 1 Blutungsanämie (n=45)</b>	<b>Gruppe 2 Hämolytische Anämie (n=31)</b>	<b>Gruppe 3 Nichtregenerative Anämie (n=22)</b>
Exitus während des Klinikaufenthaltes	22 (48,9%)	13 (41,9%)	14 (63,6)
Exitus bis 1 Monat nach Entlassung	1 (2,2%)	0	2 (9,1%)
Exitus bis 1 Jahr nach Entlassung	1 (2,2)	1 (3,2%)	3 (13,6%)
Überlebenszeit > 1 Jahr	12 (26,7%)	15 (48,4%)	1 (4,6%)
Unbekannt	9 (20,0%)	2 (6,5%)	2 (9,1%)

Die Tabelle 15 zeigt, dass im Durchschnitt die Hälfte aller transfundierten Patienten während des Klinikaufenthaltes starb oder eingeschläfert wurde. Die Patienten mit Hämolyse lagen mit 41,9% etwas unter dem Durchschnitt, wohingegen jene mit unzureichender Hämatopoese mit 63,6% fast zu zwei Drittel noch während des Klinikaufenthaltes ad exitum kamen. Diese Tendenz bestätigte sich auch bei der Überlebenszeit über ein Jahr: In der Gruppe 3 (nichtregenerative Anämie) lebten zu diesem Zeitpunkt nur noch 4,5% der Patienten, im Vergleich zu 48,4% bei der Gruppe 2 (Hämolyse). Bei den Hunden mit einer Blutungsanämie (Gruppe 1) überlebten zwölf Patienten (26,7%) mindestens zwölf Monate nach der Transfusion.

## 4.7 Blutuntersuchung

Bei allen Patienten wurden Blutuntersuchungen durchgeführt, einerseits um die Grunderkrankung und die Art der Anämie festzustellen, andererseits um Verlaufsuntersuchungen durchzuführen und damit eine Prognose festzulegen. Mittels statistischer Auswertung wurde versucht, die Patienten der drei Anämiegruppen zu vergleichen und den Zeiteinfluß auf die Veränderungen der Blutparameter Hämatokritwert, Gesamtleukozytenzahl und Thrombozytenzahl bis zehn Tage nach der Transfusion zu überprüfen. Die Bestimmung des freien Hämoglobins im Blutplasma wie bei den Hunden des Transfusionsversuches wurde bei den Patienten nicht durchgeführt.

Mit Hilfe der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Meßwiederholungen im Faktor Zeit und daran angeschlossenen Wald-Test sollten erst ein globaler Gruppenunterschied zwischen den drei Anämiegruppen (gemittelt über die Zeitpunkte) sowie ein globaler Zeiteffekt (gemittelt über die Gruppen) nachgewiesen und danach mittels Test auf parallelem Verlauf die Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit dargestellt werden. Alle drei Parameter zeigten mit einer Signifikanz von  $p < 0,001$  einen hoch signifikanten Unterschied.

Anschließend wurden die Anämiegruppen paarweise miteinander verglichen, wiederum mit Hilfe der zweifaktoriellen Varianzanalyse mit Meßwiederholungen im Faktor Zeit und daran angeschlossenen Wald-Test. Die dabei berechneten Signifikanzen der Gruppenunterschiede zwischen den Anämiegruppen, der Zeiteffekte der Meßwiederholungen und der Wechselwirkung zwischen Gruppe und Zeit sind in den Tabellen 16 bis 18 aufgelistet. Dabei ist allerdings zu beachten, dass alle Patienten eine intensive medizinische Behandlung während des Beobachtungszeitraumes erhalten haben, wodurch die untersuchten Parameter mit beeinflußt sein können.

Tabelle 16: Signifikanzen des paarweisen Vergleiches zwischen der Anämiegruppe 1 (Blutungsanämie) und 2 (Hämolytische Anämie)

Blutparameter	Gruppen- unterschied	Zeiteffekt	Wechselwirkung Gruppe x Zeit
Hämatokritwert	s. (**)	h.s. (***)	h.s. (***)
Gesamtleukozyten	s.s. (*)	h.s. (***)	n.s.
Thrombozyten	n.s.	h.s. (***)	n.s.

Die aus der Tabelle 16 hervorgehenden Signifikanzen sind etwas uneinheitlich, auffällig ist der fehlende Gruppenunterschied in der Thrombozytenzahl.

Tabelle 17: Signifikanzen des paarweisen Vergleiches zwischen der Anämiegruppe 1 (Blutungsanämie) und 3 (Nichtregenerative Anämie)

Blutparameter	Gruppen- unterschied	Zeiteffekt	Wechselwirkung Gruppe x Zeit
Hämatokritwert	s. (**)	h.s. (***)	s.s. (*)
Gesamtleukozyten	s.s. (*)	s.s. (*)	s.s. (*)
Thrombozyten	s.s. (*)	n.s.	s. (**)

Die Tabelle 17 zeigt insgesamt nur geringe Signifikanzen, außer beim Zeiteffekt des Parameters Hämatokritwert.

Tabelle 18: Signifikanzen des paarweisen Vergleiches zwischen der Anämiegruppe 2 (Hämolytische Anämie) und 3 (Nichtregenerative Anämie)

<b>Blutparameter</b>	<b>Gruppen- unterschied</b>	<b>Zeiteffekt</b>	<b>Wechselwirkung Gruppe x Zeit</b>
Hämatokritwert	n.s.	h.s. (***)	s. (**)
Gesamtleukozyten	h.s. (***)	n.s.	s.s. (*)
Thrombozyten	s.s. (*)	n.s.	s.s. (*)

Der Tabelle 18 kann man entnehmen, dass bei der Leukozytenzahl ein hoch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen bestand, ansonsten aber nur geringe oder keine Unterschiede vorlagen.

Eine grafische Darstellung der einzelnen Blutparameter mit ihrem zeitlichen Verlauf bei den 98 mit Vollblut transfundierten Patienten, getrennt nach den Anämiegruppen, wird in den Abbildungen 20 bis 22 gegeben.

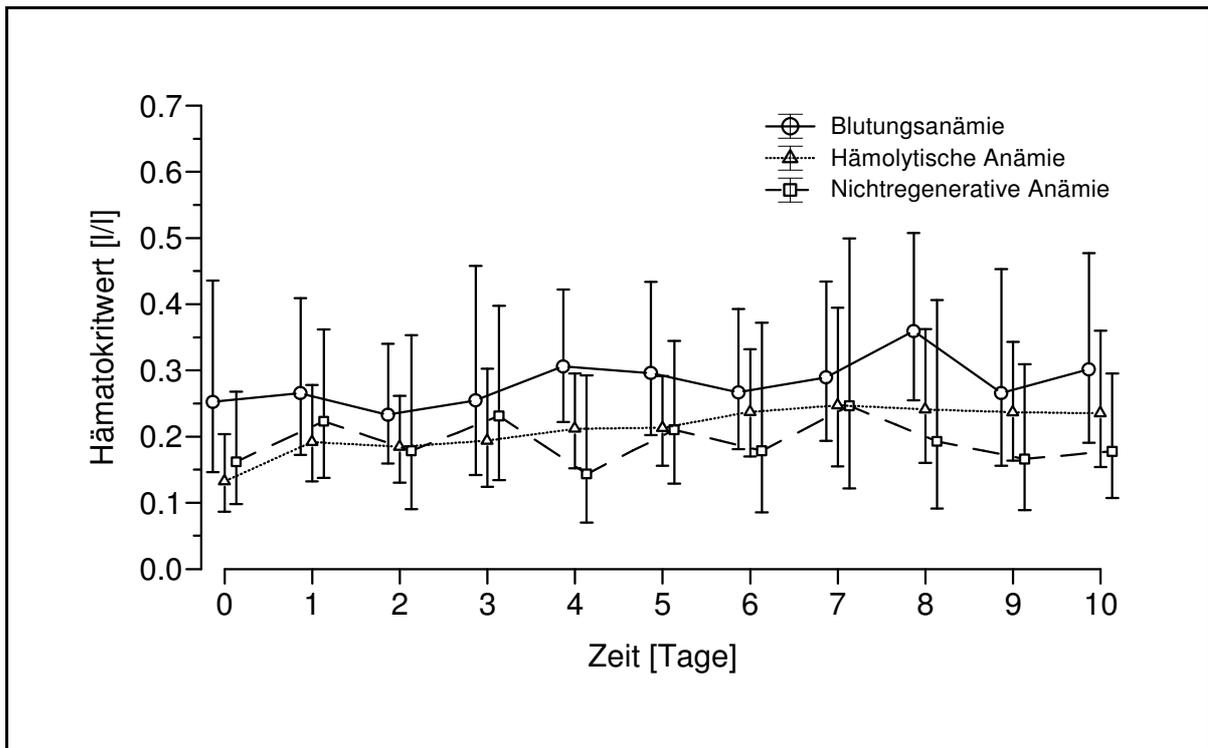


Abbildung 20: Zeitlicher Verlauf des Hämatokritwertes in l/l im geometrischen Mittelwert ( $\xi_g$ ) mit Streufaktoren (SF) als  $\xi_g \cdot SF^{\pm 1}$  über 10 Tage

Aus der Abbildung 20 ist ersichtlich, dass der Hämatokritwert im Durchschnitt bei allen drei Anämiegruppen nach der Transfusion (also am Tag 1) anstieg, allerdings den Referenzbereich (0,40 bis 0,55 l/l) nicht erreichte. Dabei ist aber zu beachten, dass einige Patienten schon vor dem Tag 10 aus der Untersuchung herausfielen, einerseits weil sie verstorben sind, andererseits weil sie entlassen wurden. Die Patienten mit Blutungsanämie (Anämiegruppe 1) hatten durchgehend einen signifikant (\*\*) höheren Hämatokritwert als die Anämiepatienten mit hämolytischer oder nichtregenerativer Anämie (Anämiegruppen 2 bzw. 3).

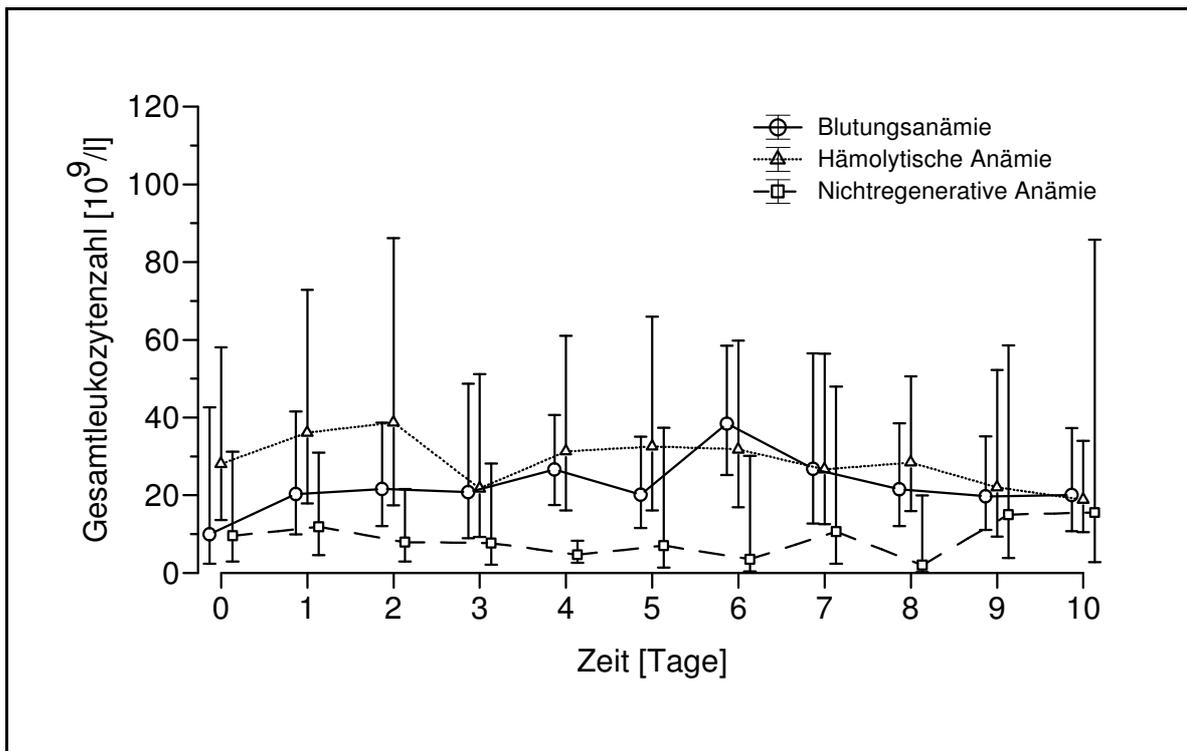


Abbildung 21: Zeitlicher Verlauf der Gesamtleukozytenzahl in  $10^9/l$  im geometrischen Mittelwert ( $\xi_g$ ) mit Streufaktoren (SF) als  $\xi_g \cdot SF^{\pm 1}$  über 10 Tage

Bei der Betrachtung der Leukozytenzahlen in der Abbildung 21 fällt auf, dass die Hunde mit hämolytischer Anämie anfangs deutlich die höchsten Werte erreichten und Patienten mit nichtregenerativer Anämie während des gesamten Untersuchungszeitraumes die niedrigste Zahl der weißen Blutkörperchen aufwiesen. Diese Gruppenunterschiede waren zwischen den Anämiegruppen 1 und 2 sowie 1 und 3 schwach signifikant (\*), zwischen den Anämiegruppen 2 und 3 hingegen hoch signifikant (\*\*\*)

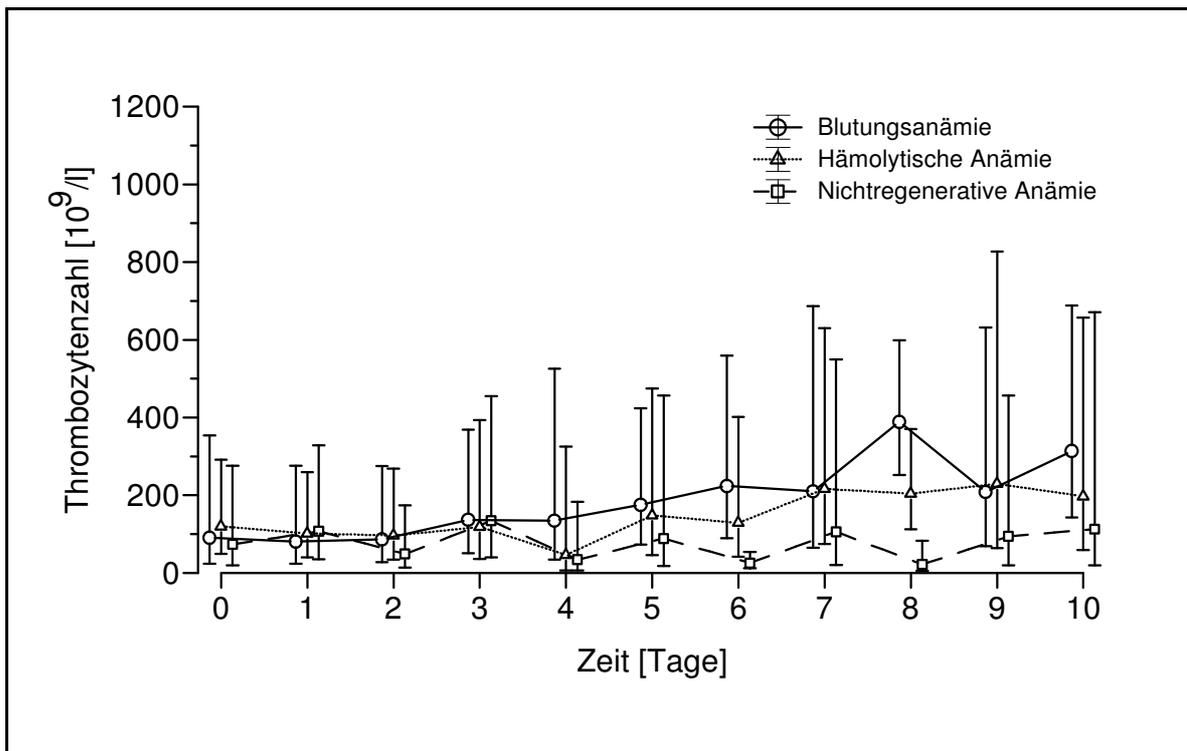


Abbildung 22: Zeitlicher Verlauf der Thrombozytenzahl in  $10^9/l$  im geometrischen Mittelwert ( $\xi_g$ ) mit Streufaktoren (SF) als  $\xi_g \cdot SF^{\pm 1}$  über 10 Tage

Die Entwicklung der Thrombozytenzahlen war, wie aus der Abbildung 22 zu entnehmen, zwischen den drei Anämiegruppen unterschiedlich: Während sich die Blutplättchenzahlen bei Patienten mit nichtregenerativer Anämie über die Zeit hinweg nur wenig veränderten, stiegen sie bei den Hunden mit Blutung oder Hämolyse an. Dies zeigte sich auch in den berechneten Signifikanzen zur Beurteilung der Gruppenunterschiede: Zwischen den Anämiegruppen 1 und 2 bestand kein signifikanter Gruppenunterschied, während die Gruppen 1 und 3 bzw. 2 und 3 sich schwach signifikant (\*) unterschieden.

## 4.8 Urinuntersuchung

Bei 43 der insgesamt 98 Patienten (v.a. Hunde mit Verdacht auf Erkrankungen des Urogenitaltraktes) wurden neben den Blut- auch Urinuntersuchungen durchgeführt. Die Ergebnisse der Urinuntersuchungen wurden in Hinblick auf das Auftreten einer hämolytischen Transfusionsreaktion mit dadurch verursachter

möglicher Beeinträchtigung der Nierenfunktion ausgewertet. In den Tabellen 19 und 20 wird ein Überblick über die Häufigkeit des Auftretens von Hämoglobin und Eiweiß im Urin bei den Patienten gegeben, getrennt nach den Anämiegruppen. Allerdings erfolgte nicht bei jedem einzelnen Patienten sowohl eine Hämoglobin- als auch eine Proteinbestimmung im Urin.

Tabelle 19: Hämoglobin im Urin der transfundierten Patienten (n=98)

<b>Urinparameter</b>	<b>Gruppe 1 Blutungsanämie (n=45)</b>	<b>Gruppe 2 Hämolytische Anämie (n=31)</b>	<b>Gruppe 3 Nichtregenerative Anämie (n=22)</b>
Hämoglobin (semiquantitativ) negativ	1 (2,2%)	2 (6,5%)	2 (9,1%)
Hämoglobin (semiquantitativ) positiv	10 (22,2%)	17 (54,8%)	5 (22,7%)

Tabelle 20: Protein im Urin der transfundierten Patienten (n=98)

<b>Urinparameter</b>	<b>Gruppe 1 Blutungsanämie (n=45)</b>	<b>Gruppe 2 Hämolytische Anämie (n=31)</b>	<b>Gruppe 3 Nichtregenerative Anämie (n=22)</b>
Protein (semiquantitativ) negativ	7 (15,6%)	10 (32,3%)	4 (18,2%)
Protein (semiquantitativ) positiv	2 (4,4%)	8 (25,8%)	2 (9,1%)
Protein < 0,3 g/l (quantitativ)	4 (8,9%)	3 (9,7%)	3 (13,6%)
Protein > 0,3 g/l (quantitativ)	2 (4,4%)	8 (25,8%)	3 (13,6%)

Aus den Tabellen 19 und 20 geht hervor, dass vor allem in der Gruppe 2 (Hämolytische Anämie) vermehrt Hämoglobin und auch Protein über den Urin ausgeschieden wurden. Dabei ist zu beachten, dass bei 24 Hunden dieser Studie das Eiweiß im Urin sowohl semiquantitativ mit Hilfe des Combur-9-Testes (ROCHE DIAGNOSTICS) als auch quantitativ (ROCHE) bestimmt wurde, bei 15 Patienten nur semiquantitativ und bei vier Hunden mit Anämie nur quantitativ.

Insgesamt wurde bei nur 13 Hunden der Gruppe 1 (28,9%), 19 Hunden der Gruppe 2 (61,3%) und 11 Hunden der Gruppe 3 (50,0%) im Routinebetrieb eine Urinuntersuchung durchgeführt, so dass eine weitere statistische Auswertung der Urinparameter wegen der mangelnden Beobachtungen nicht sinnvoll erschien.

#### 4.9 Nachweis antierythrozytärer Antikörper

Bei allen Patienten wurde Serum zur Untersuchung auf antierythrozytäre Antikörper asserviert und bei  $-70^{\circ}\text{C}$  bis zur Untersuchung tiefgefroren aufbewahrt. Der Autor war bemüht, von jedem Patienten analog zu den Empfängern des Transfusionsversuches Serum von den Tagen 0 (d.h. vor der Vollbluttransfusion), 1, 3, 5, usw. für diese Untersuchung zu gewinnen, jedoch war das nicht durchgehend realisierbar.

Zum Nachweis der antierythrozytären Antikörper bei den transfundierten Patienten (n=98) wurden die selben Methoden eingesetzt wie bei den Hunden des Transfusionsversuches. Insgesamt waren bei 44 Hunden Antikörper gegen die Erythrozyten des jeweiligen Spenders nachweisbar, davon 17 Patienten mit Blutungsanämie, 22 mit hämolytischer Anämie und 5 mit nichtregenerativer Anämie, d.h. alle drei Anämiegruppen zeigten antierythrozytäre Antikörper.

Bei allen positiv getesteten Hunden lagen die Antikörper bei mehreren unterschiedlichen Inkubationstemperaturen gleichzeitig vor, auch besaß jeder dieser Patienten mehrere Antikörperarten. Die Häufigkeit des Vorkommens von Antikörpern gegen die roten Blutzellen des Spenders bei den Empfängern und deren Verteilung auf die einzelnen Anämiegruppen und die Art der Antikörper wird in der Tabelle 21 dargestellt.

Tabelle 21: Häufigkeit und Art von antierythrozytären Antikörpern im Serum der transfundierten Patienten (n=98)

<b>Antikörperart</b>	<b>Gruppe 1 Blutungsanämie (n=45)</b>	<b>Gruppe 2 Hämolytische Anämie (n=31)</b>	<b>Gruppe 3 Nichtregenerative Anämie (n=22)</b>
Hämolyse 4° C	0	0	0
Hämolyse 20° C	5 (11,1%)	2 (6,5%)	0
Hämolyse 38° C	9 (20,0%)	7 (22,6%)	1 (4,5%)
Direkte Agglutination 4° C	7 (15,6%)	15 (48,4%)	3 (13,6%)
Direkte Agglutination 20° C	7 (15,6%)	15 (48,4%)	3 (13,6%)
Direkte Agglutination 38° C	4 (8,9%)	13 (41,9%)	1 (4,5%)
Indirekte Agglutination 4° C	1 (2,2%)	7 (22,6%)	1 (4,5%)
Indirekte Agglutination 20° C	0	7 (22,6%)	1 (4,5%)
Indirekte Agglutination 38° C	1 (2,2%)	9 (20,0%)	1 (4,5%)
<b>Gesamt</b>	<b>17 (37,8%)</b>	<b>22 (71,0%)</b>	<b>5 (22,7%)</b>

Aus der Tabelle 21 ist ersichtlich, dass insgesamt 44 Patienten (das entspricht 44,9% aller mit Vollblut transfundierten Hunde) Antikörper gegen die Erythrozyten des jeweiligen Spenders besaßen. Da ein Hund mehrere Antikörperarten gleichzeitig aufweisen konnte, war die Gesamtzahl der Hunde mit Antikörpern kleiner als die Summe der Hunde bei den einzelnen Antikörperarten.

Alle Patienten mit einem positiven Antikörpertiter zeigten eine Reaktion bei mehreren verschiedenen Antikörperarten gleichzeitig. Tendenziell traten die Antikörper am häufigsten bei Hunden mit hämolytischer Anämie auf, vor allem die direkt agglutinierenden Antikörper. Hämolisierende Antikörper bei 4° C

Inkubationstemperatur ließen sich in keinem Fall nachweisen, bei den Hunden mit nichtregenerativer Anämie trat diese Antikörperart auch nicht bei 20° C Inkubationstemperatur auf. Die Patienten mit Blutungsanämie wiesen keine indirekt agglutinierenden Antikörper bei 20° C Inkubationstemperatur auf.

Neben der Frage, ob überhaupt Antikörper gegen Erythrozyten des Spenders auftreten, waren auch der zeitliche Verlauf und die Höhe der gemessenen Antikörpertiter von Interesse. Dabei konnte die Beobachtung gemacht werden, dass bei 23 Hunden mit Antikörpern (von insgesamt 44 Patienten, bei denen Antikörper nachweisbar waren), diese schon am Tag 0, d.h. vor der Transfusion vorlagen und z.T. in den Tagen nach der Vollblutübertragung in ihrer Titerstufe abfielen, z.T. anstiegen und bei einigen Hunden gleich blieben. Diese Antikörper konnten nicht in Folge einer Transfusion entstanden sein, denn alle Patienten hatten vorher noch nie eine Bluttransfusion erhalten. In der folgenden Tabelle 22 wird die Verteilung der Patienten mit Antikörpern am Tag 0 dargestellt.

Tabelle 22: Verteilung der Patienten mit Antikörpern am Tag 0 (vor Transfusion)

Antikörperart	Gruppe 1 Blutungsanämie (n=45)	Gruppe 2 Hämolytische Anämie (n=31)	Gruppe 3 Nichtregenerative Anämie (n=22)
Hämolyse 4° C	0	0	0
Hämolyse 20° C	1 (2,2%)	0	0
Hämolyse 38° C	4 (8,9%)	0	1 (4,5%)
Direkte Agglutination 4° C	5 (11,1%)	9 (29,0%)	0
Direkte Agglutination 20° C	4 (8,9%)	8 (25,8%)	1 (4,5%)
Direkte Agglutination 38° C	2 (4,4%)	5 (16,1%)	0
Indirekte Agglutination 4° C	0	3 (9,7%)	0
Indirekte Agglutination 20° C	0	3 (9,7%)	0
Indirekte Agglutination 38° C	0	4 (12,9%)	0
<b>Gesamt</b>	<b>10 (22,2%)</b>	<b>11 (35,5%)</b>	<b>2 (9,1%)</b>

Die Tabelle 22 zeigt die Anzahl der Patienten mit Antikörpern gegen die Spendererythrozyten vor der Vollbluttransfusion und deren Verteilung. Da ein Hund mehrere Antikörperarten gleichzeitig aufweisen konnte, war die Gesamtzahl der Hunde mit Antikörpern kleiner als die Summe der Hunde bei den einzelnen Antikörperarten.

Am häufigsten waren die Antikörper, die schon vor der Bluttransfusion nachweisbar waren, bei den Patienten mit hämolytischer Anämie, allerdings nur in Form von direkt oder indirekt agglutinierenden Antikörpern. Hämolsierende Antikörper traten nur bei Hunden mit Blutungsanämie und nichtregenerativer Anämie auf, diese beiden Gruppen zeigten allerdings keine indirekte Agglutination.

Für die statistische Auswertung der Veränderung der Antikörpertiter über die Zeit wurden diese erst logarithmiert und anschließend die Differenz aus dem Mittelwert der Antikörpertiter der Tage 1 bis 10 weniger dem Antikörpertiter am Tag 0 (d.h. vor Transfusion) gebildet. Mittels Kruskal-Wallis-Test wurden diese Antikörperdifferenzen bei den drei Anämiegruppen einzeln verglichen. Hierbei traten keine signifikanten Unterschiede auf, nur bei den Patienten mit hämolytischer Anämie (Gruppe 2) bestand eine schwach signifikante Zunahme des Antikörpertiters der hämolysierenden Antikörper mit der Inkubationstemperatur 38° C zwischen dem Tag 0 und dem Durchschnitt der Tage 1 bis 10.

Auch wenn alle drei Anämiegruppen zusammengenommen werden, war kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen dem Antikörpertiter am Tag 0 (d.h. vor der Transfusion) und dem Mittelwert der Titer der Tage 1 bis 10 nachweisbar. Diese Untersuchung wurde mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen durchgeführt.

Bei allen Patienten, die Antikörper gegen die transfundierten Erythrozyten besaßen, wurde durch Verdünnung in Zweierschritten die Titerstufe bestimmt. Die so ermittelten maximalen Titer sind in der Tabelle 23 dargestellt.

Tabelle 23: Maximaler Titer der antierythrozytären Antikörper im Serum der transfundierten Patienten (n=98)

<b>Antikörperart</b>	<b>Gruppe 1 Blutungsanämie (n=45)</b>	<b>Gruppe 2 Hämolytische Anämie (n=31)</b>	<b>Gruppe 3 Nichtregenerative Anämie (n=22)</b>
Hämolyse 4° C	0	0	0
Hämolyse 20° C	1	1	0
Hämolyse 38° C	2	1	1
Direkte Agglutination 4° C	2	32	1
Direkte Agglutination 20° C	1	32	1
Direkte Agglutination 38° C	1	64	1
Indirekte Agglutination 4° C	0	32	2
Indirekte Agglutination 20° C	1	32	8
Indirekte Agglutination 38° C	1	64	4

Die Tabelle 23 zeigt den maximalen Antikörpertiter der Patienten aus den jeweiligen Anämiegruppen bei den einzelnen Antikörperarten. Insgesamt waren die Titer relativ niedrig (bis zu einer Verdünnung von 1:4), außer bei einem Hund mit hämolytischer Anämie, der im direkten und indirekten Agglutinationstest einen Titer bis 1:64 hatte. Bei einem weiteren Hund aus der Gruppe der nichtregenerativen Anämiker waren im indirekten Agglutinationstest bei 20° C Inkubationstemperatur Antikörper noch bei einer Verdünnung von 1:8 nachweisbar. Die jeweiligen Ergebnisse bei den einzelnen Patienten sind im Anhang in der Tab. 26 (S. 186ff.) aufgelistet.

## 5 DISKUSSION

Das Auftreten von posttransfusionellen antierythrozytären Antikörpern beim Hund und die daraus resultierenden klinischen Symptome und labordiagnostischen Veränderungen sind in der Literatur vielfach beschrieben (WRIGHT, 1936; GRÜNBAUM, 1969; KERL und HOHENHAUS, 1993; CALLAN et al., 1995; GIGER et al., 1995; CALLAN et al., 1996; HARRELL et al., 1997b). Das Ziel der vorliegenden Studie war, im Rahmen eines genehmigten Tierversuches sowie nach Auswertung von 98 Patienten, die Vollbluttransfusionen erhalten haben, neue Erkenntnisse über das Auftreten und die klinische Bedeutung dieser gegen rote Blutzellen gerichteten Antikörper zu gewinnen, um deren klinische Relevanz besser einschätzen zu können.

In den nächsten Kapiteln werden zuerst Material und Methoden und anschließend die gewonnenen Ergebnisse diskutiert. Dabei werden sowohl die Erkenntnisse aus den Transfusionsversuchen als auch aus der Auswertung der Patientendaten dargelegt.

### A. Erster Teil: Transfusionsversuch

Die Durchführung eines Transfusionsversuches mit mehrmaligen Transfusionen bei Hunden, die unterschiedliche Blutgruppen besaßen, erschien notwendig, um Antikörper zu gewinnen, deren unterschiedlichen Reaktionen mit verschiedenen Untersuchungsmethoden nachgewiesen werden sollten. Die Möglichkeit, dass dabei auch Transfusionsreaktionen auftreten könnten, wurde in Kauf genommen, da sie durch eine sofortige gezielte medikamentelle Intervention behandelbar sind, ohne bleibende Schäden beim Empfänger zu verursachen (GRÜNBAUM, 1969).

Die Ergebnisse der klinischen und labordiagnostischen Untersuchungen bei den Hunden Nr. 5 und 9, welche Reaktionen während und nach den Transfusionen zeigten, wurden deskriptiv dargestellt. Da nur zwei von acht Hunden eine Transfusionsreaktion zeigten, wurde auf eine statistische Auswertung der Blut- und Urinparameter, sowie der Entwicklung der Antikörpertiter verzichtet.

## 5.1 Klinische Untersuchung

Die klinischen Veränderungen bei den Blutspendehunden (Hund Nr. 1 und 2) waren vernachlässigbar und im Hinblick auf den therapeutischen Nutzen einer Bluttransfusion für potentielle Patienten vom ethischen Standpunkt her zu vertreten. Wenn man die allgemeinen Rechtsgrundsätze aus der Humanmedizin zu Grunde legt, so kann man die Manipulationen im Zusammenhang mit der Blutspende als Eingriff in die körperliche Integrität des Blutspendehundes sehen, für die als Rechtfertigungsgründe die minimale Belastung für den Spender und der unter Umständen lebensrettende Nutzen für den Empfänger vorliegen (NOLTE, 1986a; KAATSCH und SCHEWE, 1996).

Die beim Menschen beschriebene paradoxe vasovagale parasympathikotone Reaktion als Komplikation einer Blutspende (STANGEL, 1996) trat bei den Hunden während des Beobachtungszeitraumes in keinem Fall auf. Somit kann in Übereinstimmung mit der Literatur (GREENE, 1985; ABRAMS-OGG et al., 1993; EIBERT und LEWIS, 1997; KOHN et al., 2000a) festgehalten werden, dass auch wiederholte Blutspenden für die Spenderhunde ohne größere oder gar bleibende Schäden durchführbar sind, wenn die Haltungsbedingungen v.a. die Fütterung der Beanspruchung als Spender angemessen sind.

Bei den sechs Empfängerhunden, die keine klinischen Symptome zeigten, waren auch keine Antikörper gegen die Erythrozyten ihres Spenders nachweisbar. Die restlichen beiden Empfänger (Hund Nr. 5 und 9) zeigten sowohl klinische Symptome bei der Zweit- und Dritttransfusion als auch Antikörper gegen die übertragenen roten Blutzellen. Damit ist ein eindeutiger Zusammenhang zwischen klinischen Symptomen im Sinne einer Transfusionsreaktion und dem Auftreten antierythrozytärer Antikörper gegeben, zumal die Ausprägung der Symptome bei der Dritttransfusion am stärksten war. Ob die Art der Antikörper (hämolyisierend, direkt und indirekt agglutinierend bei jeweils 4°, 20° und 38° C Inkubationstemperatur) einen Einfluß auf das Vorhandensein bzw. die Art der klinischen Symptome hat, blieb unklar, denn beide Hunde entwickelten alle neun Antikörperarten.

Die beobachteten Symptome und deren zeitliches Auftreten nach Beginn der Transfusion entsprachen den Angaben in der Literatur (MELNICK et al., 1935; DUDOK DE WIT et al., 1967; GRÜNBAUM, 1969; GIGER et al., 1995), auch wenn

die Dramatik v.a. der Konvulsionen des Hundes Nr. 5 bei der Dritttransfusion für den Untersucher überraschend war. Insgesamt waren die Störungen des zentralen Nervensystems (Apathie, Krämpfe, Ataxie, Bewusstseinsverlust) am auffälligsten.

Die anderen beobachteten Symptome (Unruhe, ggr. Erhöhung der inneren Körpertemperatur, Tachypnoe) könnten z.T. auch durch Aufregung verursacht sein. Allerdings treten diese Symptome auch in Folge einer hämolytischen Transfusionsreaktion auf. So können über die Aktivierung des Komplementsystems zahlreiche Zytokine (z.B. IL8 und TNF- $\alpha$ ) aus aktivierten neutrophilen Granulozyten oder Makrophagen freigesetzt werden und als Pyrogene wirken (DAVENPORT et al., 1990; DAVENPORT et al., 1991). Beim Menschen ist eine transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz (TRALI) beschrieben, die über eine Reaktion von Alloantikörpern mit Granulozyten diese aktiviert, damit die Permeabilität von Gefäßwänden erhöht und dadurch ein nichtkardiogenes Lungenödem verursachen kann. Die klinischen Symptome dabei sind Husten, Kurzatmigkeit, Tachypnoe und Fieber (ROELCKE, 1996).

Als dritter Symptomenkomplex fielen Veränderungen im Bereich des Verdauungsapparates auf (Salivation, Vomitus, Diarrhoe). Sie können im Zusammenhang mit einer allergischen Reaktion durch Antikörper der IgE-Klasse (Überempfindlichkeitsreaktion vom Typ I) stehen, wie sie beim Menschen beschrieben ist (ROELCKE, 1996). Dabei werden nach vorhergehender Bindung der IgE an den Mastzellen bei einem erneuten Antigenkontakt vasoaktive Amine (Histamin, Serotonin) und der plättchenaktivierende Faktor (PAF) aus Mastzellen freigesetzt. Als Folge davon kommt es zur Gefäßdilatation mit Permeabilitätssteigerung und Konstriktion der glatten Muskulatur, wodurch unter anderem Erbrechen und Defäkation ausgelöst werden können.

Trotz der deutlichen und schwerwiegenden Komplikationen v.a. bei den Dritttransfusionen waren bei beiden betroffenen Hunden keine bleibenden Schäden in Folge der Transfusionszwischenfälle bei den klinischen Kontrolluntersuchungen feststellbar. Hierin stimmten die eigenen Beobachtungen mit den Angaben in der Literatur überein (DUDOK DE WIT et al., 1967). Allerdings muss festgestellt werden, dass es sich bei den beiden Hunden um gesunde Tiere handelte und damit die Kompensationsmechanismen des Organismus vollständig für die Überwindung der Transfusionsreaktionen zur Verfügung standen. Bei

Patienten, die auf Grund von blutgruppenungleichen Transfusionen Antikörper und damit Transfusionszwischenfälle entwickeln, kann diese zusätzliche Belastung eine entscheidende Verschlechterung des Krankheitsbildes verursachen (DUDOK DE WIT et al., 1967; GRÜNBAUM, 1969; CAPON und SACHER, 1989).

## 5.2 Blutuntersuchung

Die durchgeführten Blutentnahmen erfolgten immer morgens am nüchternen Hund nach der gleichen Methode (Zweispritzentechnik). Die hämatologischen und blutchemischen Untersuchungen fanden unmittelbar danach im klinikeigenen Labor statt. Das Blutserum für die serologischen Untersuchungen wurde nach der Zentrifugation portioniert bei  $-70^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren und bis zur Durchführung der Antikörpertests aufbewahrt. Durch diese Vorgangsweise konnten lagerungsbedingte Veränderungen der Blutparameter bzw. der Antikörpertiter ausgeschlossen werden.

Die Ergebnisse der Messungen des Blutbildes, der Blutgerinnung und der Blutchemie bei den beiden Spenderhunden (Hund Nr. 1 und 2) zeigten keine übermäßige Belastung durch die zahlreichen Blutspenden. Damit kann festgehalten werden, dass ein Einsatz als Dauerblutspender bei einem Spendevolumen von maximal 15 ml/kg KM alle 3 Wochen keine nachteiligen hämatologischen Auswirkungen auf den betreffenden Hund hat.

Jene sechs Empfängerhunde, die keine klinischen Symptome bei den Bluttransfusionen zeigten (Hund Nr. 3, 4, 6, 7, 8 und 10), waren auch bei den Blutuntersuchungen unauffällig. Insbesondere der Parameter „freies Hämoglobin im Plasma“ zeigte keine Veränderung, so dass eine akute intravasale Hämolyse ausgeschlossen werden konnte. Bei ihnen waren keine durch die Blutübertragung hervorgerufenen negativen Effekte feststellbar.

Anders stellten sich die Ergebnisse jedoch bei den zwei Hunden dar (Hund Nr. 5 und 9), welche die oben beschriebenen klinischen Symptome zeigten: Sie wiesen nach der Zweit- und v.a. Dritttransfusion massive Veränderungen einiger hämatologischer Parameter auf. Das Absinken des Hämatokritwertes (und damit eng assoziiert der Erythrozytenzahl und des Hämoglobins), sowie das Auftreten

von freiem Hämoglobin im Plasma sind Indikatoren für eine stattgefundene intravasale Hämolyse der transfundierten Erythrozyten mit Auflösung der Zellmembranen. Der sofortige Beginn der Hämolyse schon während der Zweit- und Dritttransfusion entspricht den Beobachtungen von GRÜNBAUM (1969), BULL (1982) und CALLAN et al. (1995). DIETZ und NAGEL (1959) hingegen konnten keinen Zusammenhang von freiem Hämoglobin im Plasma mit dem klinischen Auftreten von Transfusionsstörungen ermitteln.

Eine sekundäre Hämolyse auf Grund von Schädigungen der roten Blutzellen während der Blutprobengewinnung, -lagerung oder -aufbereitung kann auf Grund der schonenden Blutentnahme mittels Zwei-Spritzen-Technik (MILLIS et al., 1995) und sofortiger Messung nach der Probenentnahme ausgeschlossen werden.

Da der Hämatokritwert sogar unter die Ausgangswerte von vor der Transfusion abfiel, müssen neben den übertragenen fremden Erythrozyten auch z.T. die eigenen zerstört worden sein. Eine Blutung (z.B. als Folge einer DIC) als Ursache für diesen Hämatokritwertabfall nach den Transfusionen ist sehr unwahrscheinlich, denn es waren keinerlei klinische Hinweise dafür zu beobachten.

Unmittelbar im Anschluß an die Transfusionen sank die Gesamtleukozytenzahl bei beiden Hunden deutlich ab, um sich bei Hund Nr. 5 nach 24 Stunden wieder innerhalb des Referenzbereiches ( $6-12 \times 10^9/l$ ) einzupendeln, wohingegen Hund Nr. 9 ab fünf Stunden p.T. eine deutliche Leukozytose zeigte und erst nach drei Tagen den Referenzbereich erreichte. Da die Gesamtleukozytenzahl im Blut nur eine Momentaufnahme im fließenden Prozess der Leukozytenbildung und des Leukozytenverbrauches während einer Erkrankung im Durchgangskompartiment Blut darstellt (MORITZ, 1999), erlaubt sie nur eingeschränkt Rückschlüsse auf die Ursachen ihrer Veränderung.

Bei beiden Hunden kann der initiale Leukozytenabfall als erste Reaktion des Organismus auf die zugeführten fremden Erythrozyten gedeutet werden. Dabei treten die Leukozyten von dem axialen Pool der Blutgefäße in den marginalen über (MORITZ, 1999) und transmigrieren nach Adhäsion an der Endothelwand in das umliegende Gewebe (SCHULTZE, 2000). Zusätzlich begünstigten die durch Histamin und Serotonin bewirkte Gefäßdilataion und erhöhte Gefäßpermeabilität die Diapedese und Migration in den extravaskulären Raum (NEUHOF, 1996).

GIGER und BÜCHELER (1991) beschrieben eine ähnliche Leukopenie bei Katzen, die blutgruppenungleich transfundiert wurden. HARDAWAY et al. (1956) berichteten von einer posttransfusionellen Leukopenie bei Hunden, denen humanes Blut intravenös verabreicht wurde, und führten dies auf eine Sequestration der weißen Blutzellen in den Lungen- und Leberkapillaren zurück.

Möglicherweise lag aber auch eine immunmedierte Leukopenie vor, die durch antineutrophile Antikörper verursacht worden ist (RAMSEY, 1994; LUND, 2000). Eine Bestimmung von antineutrophilen Antikörpern wurde im Rahmen dieser Untersuchung nicht durchgeführt.

Die Leukozytose bei Hund Nr. 9 in Anschluß an die Leukopenie kann als Reaktion des Knochenmarks mit Entleerung des Reservekompartimentes (MORITZ, 1995) gesehen werden, um den Verbrauch von Leukozyten (v.a. neutrophilen Granulozyten) in der Peripherie zu kompensieren (SCHULTZE, 2000). Dafür spricht auch die Dauer der Leukozytose von etwa drei Tagen, wobei im Gegensatz zu den Verhältnissen bei bakteriellen Infektionen keine Linksverschiebung vorlag.

Die schon während der Transfusionen einsetzende Thrombozytopenie bei beiden Hunden erreichte ihren Tiefststand eine Stunde nach Beginn der Blutübertragung mit einem Wert von ca.  $20 \times 10^9/l$  (Referenzbereich:  $150-500 \times 10^9/l$ ) und entspricht damit den Berichten in der Literatur (SWISHER und YOUNG, 1961; DUDOK DE WIT et al., 1967; CALLAN et al., 1995). GRÜNBAUM (1969) fand bei serologisch unverträglichen Transfusionen bei niedrigem und hohem Initialimmunantikörpertiter einen signifikanten Thrombozytenabfall bis zu drei Stunden p.T. Trotz dieses hochgradigen Abfalles der Blutplättchen waren bei den klinischen Untersuchungen keinerlei Hinweise auf eine dadurch verursachte erhöhte Blutungsneigung zu finden. Dies war insofern überraschend, weil bei Hunden mit einer Thrombozytopenie unter  $30 - 50 \times 10^9/l$  mit spontanen Blutungen zu rechnen ist (FINEMAN, 1996; GRINDEM, 2000). Allerdings korrespondiert der Grad der Thrombozytopenie nicht immer mit der klinischen Ausprägung von Blutungen (GRINDEM, 2000).

Als mögliche Ursachen für den gemessenen Abfall der Thrombozytenzahl kommt einerseits eine verminderte Produktion, andererseits ein erhöhter Verbrauch in Frage (FINEMAN, 1996). Eine verminderte Produktion, d.h. eine Störung der Knochenmarkfunktion erscheint im vorliegenden Fall unwahrscheinlich, denn

beide Hunde zeigten vor und einige Tage nach den Transfusionen Thrombozytenzahlen innerhalb des Referenzbereiches.

Naheliegender erscheint ein erhöhter Abbau durch immunmedierte Mechanismen, eine Sequestration in Milz, Leber und Lunge oder ein vermehrter Verbrauch auf Grund einer schockinduzierten DIC (FINEMAN, 1996; GRINDEM et al., 1999; COTRAN et al., 1999; SCOTT, 2000a). Am wahrscheinlichsten wurde die bei den beiden Hunden beobachtete Thrombozytopenie durch eine Sequestration verursacht (HARDAWAY et al., 1956), denn diese Form von Verteilungsstörung der Blutplättchen führt üblicherweise zu einer hgr. Thrombozytopenie im Blut mit fehlenden klinischen Symptomen einer Blutung (FINEMAN, 1996).

Beim Menschen ist die Posttransfusionspurpura als eine immunologisch ausgelöste Transfusionsreaktion beschrieben (ROELCKE, 1996), die als verzögerte Reaktion bei präimmunisierten Patienten auftreten kann. WARDROP et al. (1997b) und KOHN et al. (2000b) beschrieben bei Hunden eine transiente sekundäre immunbedingte Thrombozytopenie in Folge einer Bluttransfusion. Diese Ursache für den Abfall der Thrombozytenzahlen bei den beiden Hunden kann jedoch ausgeschlossen werden, denn sie zeigten die Thrombozytopenie unmittelbar nach der Transfusion und nicht als eine verzögerte Reaktion.

Neben diesen angeführten sehr deutlich veränderten Blutparametern waren bei den beiden Hunden zusätzlich noch die direkten Leberparameter ALT (GPT), AP und GLDH gering- bis mittelgradig erhöht, wobei diese Enzymaktivitäten beim Hund Nr. 9 nach spätestens vier Tagen, beim Hund Nr. 5 nach zehn Tagen wieder den Referenzbereich erreichten.

Die ALT (Alanin-Amino-Transferase), früher auch GPT (Glutamat-Pyruvat-Transaminase) genannt, wird beim Hund als zytoplasmatisches leberspezifisches Enzym für die Diagnostik von Lebererkrankungen eingesetzt (KRAFT et al., 1995a). Am deutlichsten steigt sie bei akuter Leberentzündung und Nekrose von Leberzellen an, aber sie reagiert beim Hund auch auf Kortikosteroide (LEVEILLE-WEBSTER, 2000).

Bei der AP (Alkalische Phosphatase) werden mehrere Isoenzyme unterschieden, die in fast allen Geweben des Organismus vorkommen und deshalb nicht leberspezifisch sind (KRAFT et al., 1995a). Die in der Leber vorkommende AP ist ein membrangebundenes Enzym der Hepatozyten und der

Gallengangsepithelzellen. Die höchsten Anstiege der AP sind bei Cholestase und Gallengangsstauung zu erwarten, wohingegen nach akuter diffuser Nekrose von Hepatozyten nur ein langsamerer und geringerer Anstieg auftritt (LEVEILLE-WEBSTER, 2000). Hunde besitzen zusätzlich ein sogenanntes kortikoid-induziertes Isoenzym, welches für den deutlichen Anstieg der AP bei Hyperkortisolismus oder Kortikosteroidtherapie verantwortlich gemacht wird.

Die GLDH (Glutamat-Dehydrogenase) ist an die Mitochondrienmatrix der Hepatozyten gebunden und stellt ein monokuläres, leberspezifisches Enzym dar, welches v.a. bei zentrilobulären Zellnekrosen eine deutliche Erhöhung ihrer Aktivität im Blutplasma zeigt (KRAFT et al., 1995a). Als Ursache für solche Störungen kommt v.a. eine sekundäre Hepatopathie infolge von Hypoxämie, Herzinsuffizienz oder Vergiftungen mit hepatotoxischen Substanzen in Frage (JACOB, 2000).

Diese drei direkten Leberparameter zusammen sind daher ein Indikator für eine Leberzellschädigung, die bei den beiden betroffenen Hunden durch eine Erhöhung des endogenen Kortisols infolge des Stresszustandes wegen der Transfusionszwischenfälle oder durch den vermehrten Anfall von Hämoglobin wegen der stattgefundenen Hämolyse verursacht worden ist. EJIMA et al. (1980) beschrieben ähnliche Veränderungen der Leberparameter GOT (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase), GPT, AP und LDH (Laktatdehydrogenase) bei DEA 1-inkompatiblen Transfusionen, die sie als Leberfunktionsstörung bezeichneten. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von GRÜNBAUM (1969) war eine bleibende Leberschädigung trotz der Veränderungen in Folge der hämolytischen Transfusionsreaktionen nicht nachweisbar.

Die leichte Erhöhung des Globulins nach den letzten beiden Bluttransfusionen läßt sich durch einen Anstieg der Immunglobuline, v.a. der gegen die Spendererythrozyten gerichteten Antikörper, erklären. GIGER et al. (1995) führten bei einem Hund eine Klassifizierung der nachgewiesenen posttransfusionellen antierythrozytären Antikörper durch und identifizierten sie als IgG. Eine Differenzierung in die einzelnen Immunglobulinklassen mittels Serumelektrophorese wurde allerdings in der vorliegenden Studie nicht durchgeführt.

### 5.3 Urinuntersuchung

Die Ergebnisse der Urinuntersuchungen vor jeder Blutspende bei den beiden Spenderhunden zeigten keine pathologischen Befunde, so dass auch hier eine Beeinträchtigung der Gesundheit durch die vielfachen Blutspenden ausgeschlossen werden konnte. Das selbe gilt für jene sechs Empfängerhunde, die keine klinischen und hämatologischen Veränderungen nach den Transfusionen aufwiesen.

Bei den Hunden Nr. 5 und 9 hingegen konnten Veränderungen der Urinzusammensetzung beobachtet werden, nämlich eine hgr. und bis zu drei Tage andauernde Hämoglobinurie. Sie währte damit wesentlich länger als es beim Menschen beschrieben ist (CAPON und SACHER, 1989). Das in Folge der intravasalen Hämolyse angefallene Hämoglobin wurde offensichtlich über den Urin eliminiert (GRÜNBAUM, 1969; CALLAN et al., 1995; KRAFT et al., 1995b).

Freies Hämoglobin gelangt über die Glomerula in den Primärharn, wird aber zum größeren Teil im proximalen Tubulus reabsorbiert. Die Kapazität der Tubuluszellen ist beschränkt, so dass bei einem massiven Anfall von Hämoglobin dieses über die Nieren ausgeschieden wird (GIGER, 2000b). Obwohl Blutfarbstoffe präzipitieren und damit Zylinder in den distalen Nierentubuli bilden können, kommen Tubulusnekrosen und akute Niereninsuffizienz bei schweren oder chronischen Hämoglobinurien beim Hund und bei der Katze selten vor (DUDOK DE WIT et al., 1967; GIGER und BÜCHELER, 1991; GIGER, 2000b). Das erklärt auch, weshalb bei den beiden betroffenen Hunden sowohl die restlichen Urinparameter als auch die Nierenparameter im Blut innerhalb der jeweiligen Referenzbereiche verblieben. Eine bleibende Schädigung der Nieren in Folge der Hämoglobinurie erscheint daher bei den Hunden Nr. 5 und 9 unwahrscheinlich (GRÜNBAUM, 1969). Die beobachteten Veränderungen der Urinparameter bei den beiden Hunden mit antierythrozytären Antikörpern entsprechen damit im Wesentlichen den in der Literatur beschriebenen (CALLAN et al., 1995).

Zusammenfassend kann also festgehalten werden, dass erstens die beiden Spenderhunde keine Schädigung ihres Gesundheitszustandes durch die wiederholten Blutspenden (bei einer maximalen Spendeleistung von 15 ml/kg KM alle drei Wochen) erfuhren und zweitens nur zwei von acht Empfängerhunden

klinisch und labordiagnostisch manifeste Veränderungen als Reaktion auf die Transfusionen zeigten.

#### 5.4 Nachweis antierythrozytärer Antikörper

Der Kreuztest (Major- und Minortest) sowie die Hämolyse- und Agglutinationstests in Teströhrchen sind zum Nachweis von klinisch relevanten antierythrozytären Antikörpern beschrieben (GRÜNBAUM, 1969; GIGER, 2000a). In der vorliegenden Arbeit wurde auf die bestehende Methodik zurückgegriffen und zur Untersuchung bei den Hunden des Transfusionsversuches sowie der Patienten angewendet. Durch die Lagerung des Serums der Empfänger bei  $-70^{\circ}\text{C}$  bis zur Durchführung der Hämolyse- und Agglutinationstests wurde ein möglicher lagerungsbedingter Aktivitätsverlust der nachzuweisenden Antikörper vermieden (SWISHER et al., 1953a).

COLLING und SAISON (1980a, b) geben zwar an, dass Testerythrozyten für Hämolyse- und Agglutinationstests bis zu drei Wochen verwendbar sind, wenn sie in Alsever-Lösung (Antikoagulans bestehend aus Glukose, Natriumchlorid, Tri-Natriumzitat und Zitronensäure) gelagert werden, aber um möglichen Alterserscheinungen vorzubeugen, wurden die für die Untersuchungen benötigten Erythrozyten jeden Tag neu von dem jeweiligen Blutspender entnommen und für die durchzuführenden Tests präpariert. Das verwendete PBS entsprach mit einem pH von 7,42 und einer Konzentration von 0,01 M/l physiologischen Verhältnissen (DAY, 1996).

Da alle Untersuchungen vom Autor selber durchgeführt worden sind, waren unterschiedliche Interpretationen des Vorhandenseins und der Stärke einer Hämolyse- oder Agglutinationsreaktion durch verschiedene Untersucher ausgeschlossen.

Mit den negativen Kreuztests sowie den negativen Hämolyse- und Agglutinationstests am Tag 0 konnte gezeigt werden, dass keine präformierten, natürlich vorkommenden Antikörper bei den zwei Blutspendern und acht Blutempfängern vorhanden waren. Dieses Ergebnis entspricht den Angaben in der

Literatur bezüglich des seltenen Auftretens von natürlichen Antikörpern beim Hund (SWISHER et al., 1962).

#### 5.4.1 Kreuztest

Der Kreuztest (oder Kreuzprobe) ist als serologische Verträglichkeitsprobe die Standardmethode zur Überprüfung von Inkompatibilitäten zwischen Spender und Empfänger (SALAMA und MUELLER-ECKHARDT, 1996). Auf Grund der Durchführung des Kreuztests unmittelbar nach Blutentnahme an den jeweiligen Untersuchungstagen wurde einerseits die Gefahr von lagerungsbedingten Veränderungen der Testerythrozyten und des Testserums ausgeschlossen und andererseits Untersuchungsbedingungen geschaffen, wie sie auch in den meisten tierärztlichen Praxen v.a. in Notfallsituationen vorliegen.

Auf Grund der Durchführung des Kreuztests auf Objektträgern konnten naturgemäß damit nur direkt agglutinierende Antikörper nachgewiesen werden. Da diese Methode aber am wenigsten Material- und Zeitaufwand benötigt (HAARER und GRÜNBAUM, 1993a), wurde sie als Screeningtest in der vorliegenden Arbeit durchgeführt und mit den Ergebnissen des Hämolyse- und der Agglutinationstests im Röhrchen verglichen.

Der negative Minortest (Serum des Spenders + Erythrozyten des Empfängers) an allen Untersuchungstagen zeigte, dass die zwei Spenderhunde zu keinem Zeitpunkt Antikörper gegen die Erythrozyten der acht Empfängerhunde aufwiesen, und daher auch nicht durch die Bluttransfusionen auf die Empfänger übertragen werden konnten.

Der negative Majortest (Serum des Empfängers + Erythrozyten des Spenders) bei den Hunden Nr. 3, 4, 6, 7, 8 und 10 mit ihrem jeweiligem Spender entspricht den fehlenden klinischen Symptomen und den unauffälligen Blut- und Urinparametern.

Der Hund Nr. 5 zeigte ab dem Tag 21 bis zum Ende des Transfusionsversuches ein positives Ergebnis im Majortest. Das bedeutet, dass er nach der ersten Transfusion agglutinierende Antikörper gebildet hatte, diese aber erst am 21. Tag in ausreichender Menge vorlagen, um eine positive Reaktion zu verursachen. Da

bei den Empfängern das Serum von den Tagen 0, 1, 3, 5, 7 und 9 untersucht wurde und dann erst wieder Serum vom Tag 21, kann nicht mit Bestimmtheit gesagt werden, ab wann der Hund den Antikörpertiter in nachweisbarer Höhe entwickelt hat. DUDOK DE WIT et al. (1967) gaben an, dass zehn Tage nach der Ersttransfusion mit DEA 1.1-inkompatiblen Blut Antikörper im Empfänger nachweisbar waren, bei GRÜNBAUM (1969) traten Antikörper durchschnittlich am 12. Tag p.T. auf und DOHERR (1972) fand Immunantikörper frühestens am 8. Tag p.T. bei A<sub>1</sub>-positivem Spender und A<sub>2</sub>-positivem Empfänger.

Bei intravenös zugeführten Antigenen, wie z.B. fremde Erythrozyten bei einer Bluttransfusion, findet die Antikörperbildung hauptsächlich in der Milz statt, wobei die primäre Immunantwort nach Erstkontakt mit dem betreffenden Antigen innerhalb von fünf bis zehn Tagen beginnt (ABBAS et al., 2000a; TIZARD, 2000b). Das bedeutet für den im Majortest positiv reagierenden Hund Nr. 5, dass die Antikörperbildung zwischen den Tagen 9 und 21 nach der ersten Transfusion stattgefunden hat. Möglicherweise lagen aber schon zu einem früheren Zeitpunkt antierythrozytäre Antikörper vor, die mit dem angewendeten Testverfahren nicht nachweisbar waren.

Der Hund Nr. 9 war im Kreuztest (Majortest) ab dem Tag 45 positiv, d.h. erst nachdem die zweite Transfusion durchgeführt wurde. Bei ihm kam es also zu einem Boostereffekt nach der zweiten Transfusion, so dass ab dem 45. Tag ein ausreichender Antikörpertiter vorlag, um im Kreuztest positiv zu reagieren. Die möglichen Erklärungen für das Auftreten von Antikörpern bei Hund Nr. 9 werden im Kapitel 5.4.4 diskutiert.

Diese lange Zeit zwischen Applikation des Antigens (d.h. Bluttransfusion) und dem ersten positiven Kreuztest kann entweder an der mäßigen Sensitivität des eingesetzten Testverfahrens liegen, oder durch eine verzögerte Immunantwort bedingt sein. Bei Menschen ist beschrieben, dass ein messbarer Antikörpertiter nach Injektion von Rh-positiven Erythrozyten bei Rh-negativen Empfängern erst nach zwei Wochen bis drei Monaten nachweisbar war, bei manchen Empfängern sogar erst nach einer zweiten Immunisierung (MOLLISON et al., 1987).

Sowohl bei Hund Nr. 5 als auch Nr. 9 blieb der Majortest bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes am Tag 60 positiv. Der auf Objektträgern durchgeführte Kreuztest zeigt allerdings nur direkt agglutinierende Antikörper an (SUTER, 1994).

Daher wurden zusätzlich der Hämolysetest und der direkte und indirekte Agglutinationstest im Röhrchen durchgeführt (GRÜNBAUM, 1993). Im Gegensatz zu LUBAS (1996) wurden mit dem Kreuztest auf dem Objektträger die selben Ergebnisse erzielt wie mit dem Agglutinationstest im Röhrchen. Damit kann der Objektträgertest als Screeningmethode beim Hund in Notfällen empfohlen werden.

Im Sinne einer optimalen Transfusionsmedizin wird die Empfehlung gegeben, dass vor der ersten Transfusion eine Blutgruppentypisierung (v.a. in Hinblick auf die Blutgruppe DEA 1.1) und der Kreuztest zum Ausschluss präformierter Antikörper durchgeführt werden müssen. Da aber trotz blutgruppengleicher Transfusion eine Antikörperbildung auftreten kann (siehe Hund Nr. 9), muss auch der Kreuztest vor jeder weiteren Transfusion durchgeführt werden, um den alten Leitspruch der Medizin „primum non nocere“ zu erfüllen (FELDMAN, 1999).

#### 5.4.2 Hämolysetest

Der Nachweis von hämolysierenden Antikörpern mit Hilfe des Hämolysetests gelang nur bei den Hunden Nr. 5 und 9 und entspricht damit den Beobachtungen bei den klinischen Untersuchungen sowie den Blut- und Urinuntersuchungen.

Der Hund Nr. 5 zeigte erstmals am Tag 21 hämolysierende Antikörper und zwar jene mit einem Temperaturoptimum bei 20° und 38° C (siehe Abb. 5, S. 73). Ab dem Tag 43 waren auch Antikörper bei 4° C Inkubationstemperatur nachweisbar. Die Antikörpertiter waren bei allen drei Inkubationstemperaturen vergleichbar niedrig, nämlich höchstens 1:2. Selbst nach der dritten Transfusion am Tag 51 stiegen sie nicht weiter an. Der leichte Abfall aller drei hämolysierender Antikörper am Tag 54 läßt sich mit dem Abbau der an den hämolysierten Erythrozyten gebundenen Antikörper erklären (HOHENHAUS, 2000b). GIGER und BÜCHELER (1991) beschrieben einen ähnlichen Abfall der antierythrozytären Antikörper nach der blutgruppenungleichen Bluttransfusion bei Katzen.

Bei dem Hund Nr. 9 traten die Antikörper erst ab dem Tag 47 auf, d.h. nach der zweiten Transfusion (siehe Abb. 6, S. 74). Die bei 4° C reagierenden Antikörper waren sogar erst am 49. Tag nachweisbar, am Tag der dritten Transfusion (Tag 51) wiederum nicht mehr und sie erreichten am 52. Tag ihr Maximum mit einem Titer von 1:2.

Es war auffällig, dass nach den Dritttransfusionen bei keinem der beiden Hunde ein zusätzlicher Anstieg des Antikörpertiters auftrat. Die nachgewiesenen hämolysierenden Antikörper können für die beobachteten intravasalen Hämolysereaktionen während und kurz nach der Zweit- und Dritttransfusion verantwortlich gemacht werden. Durch die Bindung der hämolysierenden Antikörper an den Erythrozytenmembranen im Rahmen einer Typ II Überempfindlichkeitsreaktion kommt es zur Aktivierung des Komplementsystems und Hämolyse der Erythrozyten (SALAMA und MUELLER-ECKHARDT, 1996; TIZARD, 2000c). Die Komplementaktivierung verursacht die Degranulation von Mastzellen und Freisetzung von Anaphylatoxin und vasoaktiven Substanzen, wodurch erst ein zirkulatorischer Schockzustand mit Hypotension, Bradykardie und Apnoe ausgelöst wird. In weiterer Folge kommt es zu einer Aktivierung des Sympathikus mit Schweißausbrüchen, vermehrter Salivation, Vomitus und Diarrhoe (TIZARD, 2000c). Der Schweregrad der hämolytischen Transfusionsreaktion und damit die Prognose hängen von der Menge des transfundierten inkompatiblen Blutes ab. Nach Elimination der fremden Erythrozyten kommt es zur Erholung des Organismus (TIZARD, 2000c).

#### 5.4.3 Direkter Agglutinationstest

Auch mit dieser Testmethode waren nur bei den Hunden Nr. 5 und 9 Antikörper nachweisbar, analog zu den Ergebnissen der oben angeführten Untersuchungen.

Bei dem Empfängerhund Nr. 5 traten die direkt agglutinierenden Antikörper unabhängig von der Inkubationstemperatur ab dem Tag 21 auf und erreichten durchschnittlich einen Titer von 1:4 bis 1:8, also deutlich höher als die hämolysierenden Antikörper (siehe Abb. 7, S. 75). Auffällig ist der Titerabfall am Tag 43, d.h. am Tag nach der zweiten Transfusion. Möglicherweise wurden die bis dahin zirkulierenden Antikörper von den frisch transfundierten Erythrozyten abgefangen, in Leber und Milz abgebaut und somit verbraucht. Der höchste Antikörpertiter wurde am Tag 56 (fünf Tage nach der dritten Transfusion) bei 38° C Inkubationstemperatur mit 1:16 erreicht. Insgesamt lagen keine wesentlichen Unterschiede in den Titerhöhen zwischen den einzelnen Inkubationstemperaturen vor.

Der Empfängerhund Nr. 9 war im direkten Agglutinationstest erst nach der Zweittransfusion positiv, und zwar bei 20° und 38° C ab dem Tag 45 und bei 4° C Inkubationstemperatur ab dem 47. Tag (siehe Abb. 8, S. 76). Die durchschnittlichen Antikörpertiter waren bei den einzelnen Inkubationstemperaturen ähnlich und erreichten, so wie auch bei Hund Nr. 5, Titerstufen von 1:4 bis 1:8.

Bei beiden Hunden trat auch nach der dritten Transfusion kein weiterer Anstieg des Antikörpertiters auf. Nach DUDOK DE WIT et al. (1967) erreichten Hunde, die wöchentlich 4 ml blutgruppenungleiches Blut intravenös verabreicht bekommen haben, mit sechs Wochen die maximale Antikörpertiter, die danach nicht mehr weiter anstiegen.

Die durch Antikörper direkt agglutinierten transfundierten Fremderythrozyten werden nach Opsonisierung im mononukleären Phagozytensystem (MPS) abgebaut. Dieser durch Antikörper mediierte Abbau von Zellen wird als Typ II Überempfindlichkeitsreaktion angesehen (ABBAS et al., 2000b; TIZARD, 2000c).

#### 5.4.4 Indirekter Agglutinationstest

Die Ergebnisse des indirekten Agglutinationstests entsprechen im Wesentlichen denen des direkten Agglutinationstests, abgesehen von der Höhe des Antikörpertiters. KOCH und NIEßEN (1973) hingegen beschrieben, dass bei intramuskulärer Immunisierung über 6-8 Wochen erst direkt agglutinierende Antikörper auftraten, die später wieder verschwanden, während der Titer der indirekt agglutinierenden Antikörper zunahm. GRÜNBAUM (1969) und DOHERR (1972) immunisierten hingegen durch intravenöse Applikation und fanden direkt und indirekt agglutinierende Antikörper teils ab dem selben Zeitpunkt (frühestens ab dem 7. Tag p.T.), teils erst die direkt agglutinierenden Antikörper und bis zu 20 Tage später die indirekt agglutinierenden Antikörper. Beide Antikörperarten schwankten während des Untersuchungszeitraumes in ihrer Titerhöhe, blieben aber bis zum Ende der Untersuchungen nachweisbar.

Bei dem Hund Nr. 5 konnten Antikörper erstmals ab dem Tag 21 nachgewiesen werden mit einem deutlichen Titeranstieg ab dem Tag 45 (siehe Abb. 9, S. 78).

Zwischen den einzelnen Inkubationstemperaturen bestanden so gut wie keine Unterschiede, sowohl hinsichtlich des zeitlichen Auftretens der indirekt agglutinierenden Antikörper, als auch ihrer Konzentration. DAY (1996) hingegen berichtete, dass bei sieben Hunden mit AIHA der indirekte Agglutinationstest (Coombs-Test) bei 4° C Inkubationstemperatur am deutlichsten reagierte. Allerdings handelte es sich dabei nicht um durch Transfusionen induzierte Alloantikörper sondern um Autoantikörper.

Der höchste Antikörpertiter wurde ab dem 51. Tag mit 1:1024 erreicht. Wie bei den anderen zwei Antikörperarten auch, kam es zu keinem wesentlichem Titeranstieg nach der Dritttransfusion am Tag 51.

Der Hund Nr. 9 zeigte eine ähnliche Entwicklung: Allerdings waren bei ihm die indirekt agglutinierenden Antikörper erst am 42. Tag, also dem Tag der Zweittransfusion nachweisbar. Da das Serum für die Antikörperbestimmung unmittelbar vor der Transfusion gewonnen wurde, kann es sich bei dem ersten Auftreten von Antikörpern nicht um eine sekundäre Immunantwort (Boosterung) handeln. Der weitere Verlauf der Antikörpertiter mit maximaler Titerhöhe und nur ggr. Unterschieden zwischen den einzelnen Inkubationstemperaturen entspricht den Verhältnissen bei Hund Nummer 5 (siehe Abb. 10, S. 79).

Bei dem indirekten Agglutinationstest zum Nachweis von inkompletten, an die Erythrozyten gebundenen Antikörpern handelt es sich um einen Zweiphasentest. Er ist somit dem Antiglobulintest (Coombs-Test) ähnlich (COOMBS et al., 1945; SALAMA und MUELLER-ECKHARDT, 1996). In der vorliegenden Studie wurde als Antiserum ein Anti-IgG von Kaninchen gegen Hund (JACKSON IMMUNO RESEARCH LABORATORIES) eingesetzt, somit konnten also nur IgG auf den Erythrozyten nachgewiesen werden und nicht auch noch IgM, IgA und Komplementfaktor C3, wie es im vollständigen Coombs-Test der Fall ist.

Die indirekt agglutinierenden Antikörper binden im Empfängerorganismus an die transfundierten Erythrozyten und führen damit zu einem beschleunigten Abbau der roten Blutzellen im retikuloendotheliale System (RES). Die dabei ablaufenden zellulären und molekularen Mechanismen entsprechen möglicherweise denen beim Abbau von physiologisch gealterten Erythrozyten (CHRISTIAN, 2000). Die daraus resultierende extravasale Hämolyse führt zu einer verkürzten Überlebenszeit der roten Blutzellen (MUELLER-ECKHARDT et al., 1996).

Denkbar wäre auch eine Kreuzreaktion der Antikörper mit den eigenen Erythrozyten des Empfängers, wodurch auch diese dem vorzeitigen Abbau anheim fallen würden.

Da die Hunde des Transfusionsversuchs in Abhängigkeit von ihren Blutgruppen entweder als Spender oder Empfänger eingesetzt wurden, war die jeweilige Reaktion des Empfängerhundes auf die Erythrozyten des Blutspenders von großem Interesse. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf die bisher am meisten immunogen geltende Blutgruppe DEA 1.1 gelegt, indem die Hälfte der Spender und der Empfänger DEA 1.1 positiv, die andere Hälfte negativ war (siehe Tab. 2, 3 und 4, S. 47, 48 und 49). In Hinblick auf die Blutgruppenverteilung zwischen Spender- und Empfängerhunden ergaben die durchgeführten Untersuchungen z.T. überraschende Ergebnisse. Im folgenden werden nun die einzelnen Spender-Empfänger-Kombinationen diskutiert:

**Hund Nr. 1 und Hund Nr. 3:** Bei beiden Hunden waren die Blutgruppenmerkmale DEA 1.1, 4 und 7 nachweisbar, es handelte sich deshalb bei dieser Paarung um eine blutgruppengleiche Transfusion. Eine Antikörperbildung gegen die Erythrozyten des Spenders war aus diesem Grund nicht zu erwarten und es ließen sich auch tatsächlich mit keinem der angewandten Tests antierythrozytäre Antikörper im Serum des Hundes Nr. 3 nachweisen.

**Hund Nr. 1 und Hund Nr. 4:** Der Hund Nr. 4 besaß die selben Blutgruppenmerkmale wie Hund Nr. 1, nämlich DEA 1.1, 4 und 7, aber zusätzlich noch das Merkmal DEA 5. Es wurden ihm also keine Erythrozyten zugeführt, deren Blutgruppen er nicht auch selber aufgewiesen hätte, so dass auch diese Kombination als blutgruppengleich gelten kann. Dementsprechend war eine Antikörperbildung nicht zu erwarten. Die negativen Ergebnisse bei allen Antikörpersuchtests bestätigten diese Annahme. Hätte der Spender (Hund Nr. 1) natürliche, d.h. präformierte Antikörper gegen die Blutgruppe DEA 5 besessen, dann hätte im Minortest der Kreuzprobe eine Reaktion auftreten müssen. YOUNG et al. (1952), SWISHER et al. (1962) und HALE (1995) gaben an, dass 10% aller DEA 5-negativen Hunde natürlich vorkommende Antikörper gegen diese Blutgruppe besaßen, die allerdings keine intravasale Hämolyse verursachten. Statt dessen können diese natürlich vorkommenden Antikörper über eine Sequestration der Erythrozyten einen vorzeitigen Abbau der betroffenen roten

Blutzellen auslösen. Diese Reaktion war aber bei diesem Spender-Empfängerpaar nicht nachweisbar.

**Hund Nr. 1 und Hund Nr. 5:** Diese Kombination unterschied sich deutlich bezüglich ihrer jeweiligen Blutgruppen. Wie Tabelle 4 (S. 49) entnommen werden kann, hatte der Spender (Hund Nr. 1) die Blutgruppen DEA 1.1, 4 und 7, der Empfänger hingegen besaß die Blutgruppen DEA 1.2 und 4. Sie unterschieden sich also in den Blutgruppen DEA 1.1 und 7, deshalb war eine Immunreaktion des Empfängers zu erwarten. Der Hund Nr. 5 zeigte, wie aus den Abbildungen 5, 7 und 9 (S. 73, 75 und 78) ersichtlich ist, eine deutliche Antikörperbildung gegen die transfundierten Erythrozyten und dadurch verursachte, klinisch relevante Transfusionsreaktionen. Allerdings ließ sich nicht unterscheiden, ob die nachgewiesenen Antikörper gegen das Blutgruppenmerkmal DEA 1.1 oder DEA 7 oder gegen beide gerichtet waren. Wahrscheinlicher ist eine Reaktion gegen DEA 1.1, denn YOUNG et al. (1952) konnten keine Antikörper gegen DEA 7 nach umfangreichen Transfusionsversuchen finden. Bei diesen Antikörpern handelte es sich auf jeden Fall um solche, die in Folge der Transfusionen entstanden sind und nicht um präformierte, natürliche Antikörper, da sie vor der ersten Transfusion noch nicht nachweisbar waren. HALE (1995) beschrieb natürliche Antikörper gegen die Blutgruppe DEA 7 bei 20 bis 50% aller DEA 7-negativen Hunde mit einem maximale Titer von 1:8 und schwacher Reaktion. Natürliche Antikörper gegen DEA 1.1 wurden bisher noch nicht nachgewiesen (HALE, 1995).

**Hund Nr. 1 und Hund Nr. 6:** Hier lag die selbe Blutgruppenverteilung wie bei der Kombination Hund Nr. 1 mit Hund Nr. 5 vor, es waren also analoge Ergebnisse zu erwarten. Überraschenderweise bildete Hund Nr. 6 aber keine nachweisbaren Antikörper gegen die Erythrozyten des Hundes Nr. 1, auch nicht nach der Zweit- und Dritttransfusion. Die vor dem Transfusionsversuch durchgeführte Blutgruppentypisierung scheidet als Fehlerquelle aus, denn alle Blutgruppenbestimmungen wurden von zwei verschiedenen Personen unabhängig voneinander doppelt durchgeführt, bei der Blutgruppe DEA 1.1 kamen sogar Vierfachbestimmungen mit zwei verschiedenen Testsystemen zum Einsatz. Für den Transfusionsversuch wurden nur Hunde eingesetzt, die bei allen Blutgruppentypisierungen eindeutige und übereinstimmende Ergebnisse zeigten.

Eine mögliche Erklärung für die fehlende Immunantwort des Hundes Nr. 6 gegen die fremden Erythrozyten mag in einem bestehenden Immundefekt bzw. in einer

Immunsuppression liegen. Dies erscheint allerdings als sehr unwahrscheinlich, denn der betreffende Hund war während des gesamten Untersuchungszeitraumes klinisch gesund und zeigte nie eine erhöhte Infektionsanfälligkeit. Auch erhielt er nie immunsuppressive Medikamente.

Als zweite Möglichkeit könnte eine Überlastung seiner Körperabwehr durch die massenhaft intravenös zugeführten Fremdartigene in Frage kommen. TIZARD (2000f) beschrieb als Ursache für eine klonale Anergie der T-Helferzellen die sogenannte Immunparalyse, die durch sehr hohe Antigendosen verursacht wird. Da die T-Helferzellen verantwortlich sind für die klonale Vermehrung und Reifung von spezifisch sensibilisierten B-Lymphozyten zu Plasmazellen und somit für die Bildung von spezifischen Antikörpern benötigt werden, kann in Folge der ausbleibenden Aktivierung der T-Helferzellen durch Antigen-präsentierende Zellen keine Antikörperbildung stattfinden. Zusätzlich können durch eine wiederholte exzessive Antigenzufuhr alle B-Lymphozyten sich zu kurzlebigen Plasmazellen differenzieren. Als Folge davon sind keine Memory B-Zellen mehr vorhanden, die auf eine weitere Verabreichung von Antigen reagieren könnten und daraus resultiert eine Immuntoleranz (TIZARD, 2000f). ABBAS et al. (2000c) beschrieben die Induktion einer Immuntoleranz durch Antigene, die von Fremdproteinen gebildet werden: Hohe Antigendosen, eine intravenöse Verabreichung des Antigens, das Fehlen von Adjuvanzen und niedrige Konzentrationen von Kostimulatoren und Zytokinen fördern diesen Autoren zu Folge die Ausbildung einer Toleranz. Als wahrscheinliche Ursache geben sie dabei die fehlende Expression von Kostimulatoren auf den Antigen-präsentierenden Zellen an, wodurch die T-Zellen anergisch werden oder sich zu Suppressor-Zellen differenzieren.

**Hund Nr. 2 und Hund Nr. 7:** Der Hund Nummer 2 besaß nur das nachgewiesene Blutgruppenmerkmal DEA 4, er war daher nach der Definition von HALE (1995) als „Universalspender“ zu betrachten. Da auch der Empfänger, Hund Nr. 7, nur die Blutgruppe DEA 4 aufwies, wurde bei dieser Kombination eine Antikörperbildung als unwahrscheinlich erachtet. Die Ergebnisse bestätigten diese Annahme.

**Hund Nr. 2 und Hund Nr. 8:** Auch in dieser Kombination war auf Grund der vorliegenden Blutgruppenverteilung zwischen Spender und Empfänger (siehe Tab. 4, S. 49) keine immunologische Reaktion zu befürchten. Wie die Untersuchungen zeigten, trat sie auch tatsächlich nicht auf.

**Hund Nr. 2 und Hund Nr. 9:** Diese Paarung war von ihrer Blutgruppenverteilung her unverdächtig für eine Antikörperbildung gegen die Spendererythrozyten. Allerdings zeigte der Hund Nr. 9 sehr deutliche immunologische Reaktionen, was sich in dem positiven Nachweis von hämolysierenden, sowie direkt und indirekt agglutinierenden Antikörpern manifestierte (Siehe Abb. 6, 8 und 10, S. 74, 76 und 79).

Eine mögliche Erklärung für dieses überraschende Ergebnis könnte darin liegen, dass der Spender (Hund Nr. 2) neben der nachgewiesenen Blutgruppe DEA 4 noch eine oder mehrere andere besaß, die dem Empfänger (Hund Nr. 9) fehlten. Da derzeit Testseren für die Blutgruppentypisierung beim Hund nur für bestimmte Blutgruppenmerkmale (nämlich DEA 1.1, 1.2, 3, 4, 5 und 7) erhältlich sind, aber zusätzliche Blutgruppen vorkommen können (z.B. DEA 1.3, 6 und 8) (HALE, 1995), ist es durchaus möglich, dass eine dieser nicht nachweisbaren Blutgruppen die Ursache für die Antikörperbildung war. Sollte diese Annahme stimmen, dann müssten auch die Empfängerhunde Nr. 7, 8 und 10 dieses nicht nachweisbare Blutgruppenmerkmal besessen haben, denn sie bildeten keine Antikörper gegen die Erythrozyten des selben Spenders (Hund Nr. 2).

SWISHER und YOUNG (1961) beschrieben z.B. einen DEA 6-negativen Hund, der keine natürlichen Antikörper besaß. Nach Immunisierung mit DEA 6-positivem Blut zeigte dieser Hund eine deutliche Immunreaktion mit Abbau der transfundierten Erythrozyten. Das bedeutet, dass er gegen das Blutgruppenmerkmal DEA 6 Alloantikörper gebildet hatte. Die Inzidenz für die Blutgruppe DEA 6 in der Hundepopulation wird mit ca. 99% als sehr hoch beschrieben (HALE, 1995), so dass die Wahrscheinlichkeit, einen DEA 6-negativen Hund mittels Transfusion von DEA 6-positivem Blut zu immunisieren, sehr gering ist.

**Hund Nr. 2 und Hund Nr. 10:** Beide Hunde hatten nur das nachgewiesene Blutgruppenmerkmal DEA 4, die Transfusionen waren daher blutgruppengleich. Eine Antikörperbildung war weder zu erwarten, noch wurde sie gefunden.

Die rasterelektronenmikroskopische Darstellung der Negativkontrollen und der Agglutinate im direkten Agglutinationstest am Tag 60 bei dem Hund Nr. 5 zeigt deutlich, wie durch die agglutinierenden Antikörper die Erythrozyten verklumpt

wurden. Damit konnte auch mit dieser Untersuchungsmethode die Antikörper-Antigenbindung eindeutig nachgewiesen werden.

Zusammenfassend lassen sich aus den Ergebnissen des Transfusionsversuches folgende Schlüsse für die klinische Transfusionsmedizin beim Hund ziehen:

1. Vor der ersten Bluttransfusion müssen die Blutgruppen des Spenders und des Empfängers bestimmt und der Kreuztest durchgeführt werden.
2. Vor jeder weiteren Blutübertragung muss jeweils der Kreuztest wiederholt werden. Da das zeitliche Auftreten der antierythrozytären Antikörper bei den einzelnen Hunden variieren kann, ist der Abstand zwischen Erst- und Folgetransfusion in Hinblick auf diese Forderung unerheblich.
3. Da trotz (vermeintlich) blutgruppengleicher Transfusion wegen der mit den derzeit erhältlichen Testseren nicht nachweisbaren Blutgruppen die Empfänger antierythrozytäre Antikörper bilden können (siehe Hund Nr. 9), ist die alleinige Blutgruppentypisierung nicht ausreichend, um eine Immunisierung und damit Transfusionszwischenfälle zu vermeiden.
4. Der Begriff des „Universalspenders“ sollte aus dem selben Grund nicht verwendet werden.
5. Die Bildung posttransfusioneller antierythrozytärer Antikörper beim Hund wird nicht nur durch die Blutgruppenverteilung zwischen Spender und Empfänger sondern auch durch weitere Faktoren beeinflusst.
6. Nicht nur die bisher am meisten immunogen geltende Blutgruppe DEA 1.1 hat das Potenzial, eine Antikörperbildung mit daraus resultierender klinisch relevanter Transfusionsreaktion zu induzieren.

## B. Zweiter Teil: Patienten

Die Auswertung der Patientendaten sollte erstens Erkenntnisse über die Häufigkeit von Anämien und eventuell vorliegende Geschlechts-, Rasse- oder Altersdispositionen liefern. Zweitens wurden Untersuchungen über das Vorkommen von antierythrozytären Antikörpern und deren klinische Bedeutung bei

Hunden, die Vollbluttransfusionen erhalten haben, durchgeführt. In diese Studie wurden alle Patienten aufgenommen, die während eines Zeitraumes von drei Jahren (01. September 1996 bis 31. August 1999) in der MVK I zur Vorstellung kamen. Bei stationär aufgenommenen Patienten wurden jeweils die Blutwerte des ersten Tages für den Nachweis einer Anämie herangezogen. Alle Hunde, die mehrmals während des oben genannten Zeitraumes zur Vorstellung gelangten, wurden nur einmal ausgewertet.

Für den Nachweis der antierythrozytären Antikörper wurden nur Hunde nach Vollbluttransfusionen in die Studie aufgenommen, die vorher noch nie eine Transfusion (weder Vollblut noch Blutkomponenten) erhalten hatten. Somit wurde eine mögliche Immunisierung durch eine vorhergehende Blutübertragung ausgeschlossen.

## 5.5 Häufigkeit von Anämien und Vollbluttransfusionen im Patientengut

Zur Diagnose einer Anämie wurden die Parameter Hämatokritwert, Erythrozytenzahl und Hämoglobin herangezogen (KRAFT et al., 1995c; KUBANKEK und WAGNER, 1996; KÖCK und HIRSCHBERGER, 1999). Insgesamt lag bei 1.346 Patienten (10,2% der vorgestellten Hunde) eine Anämie vor, die bei 98 Patienten (das entspricht 0,75% aller Hunde bzw. 7,3% aller Patienten mit Anämie) eine Vollbluttransfusion erforderlich machte. BÜCHELER und COTTER (1992) gaben folgende Zahlen für die Häufigkeit von Bluttransfusionen bei Hunden, bezogen auf das Gesamtklientel pro Jahr in drei veterinärmedizinischen Ausbildungsstätten der USA an: Tufts University 12.500 Patienten mit 325 Transfusionen (2,6%), Angell Memorial Hospital 35.000 Patienten mit 300 Transfusionen (0,9%) und University of Pennsylvania 25.000 Patienten mit 1.500 Transfusionen (6,0%).

HOWARD et al. (1992) hingegen ermittelten die Häufigkeit von Transfusionen in privaten Tierarztpraxen mit ca. 0,1% der vorgestellten Patienten als wesentlich niedriger. KÖCK und HIRSCHBERGER (1999) machten in ihrer Arbeit keine prozentualen Angaben über die Häufigkeit von Anämien im gesamten

Patientengut, sie gaben allerdings eine absolute Zahl von 703 anämischen Hunden während eines 6-Jahres-Zeitraumes an.

KERL und HOHENHAUS (1993) sowie CALLAN et al. (1996) berichteten von akuten oder chronischen Blutungen als häufigste Anämieursache bei 70% aller transfundierten Hunde. Auch in der eigenen Untersuchung waren Hunde mit Blutungsanämie (Gruppe 1) mit 45,9% aller transfundierten Hund am häufigsten vertreten. Bei DRIVER (1997) lag eine nichttumoröse Erkrankung der blutbildenden Organe bei 1,1% aller in einem Zeitraum von 14 Jahren seziierten Hunden als Abgangsursache vor, bei weiteren 3,0% war eine Tumorerkrankung dieses Organsystems die Todesursache. Da aber auch Erkrankungen anderer Organsysteme eine Anämie verursachen können (ROGERS, 2000), ist die Häufigkeit einer Blutarmut sicherlich höher als die einer primären Erkrankung des hämatopoetischen Systems.

Bei einem Großteil der Patienten mit Blutarmut in dieser Studie war die Anämie nicht so schwerwiegend, dass eine Vollbluttransfusion notwendig gewesen wäre. Oftmals wurde aber in Abhängigkeit von der zu Grunde liegenden Erkrankung anstatt einer Vollblutübertragung eine Therapie mit Blutkomponenten (Erythrozytenkonzentrat oder frisch gefrorenem Plasma) durchgeführt.

DRIVER (1997) konnte bei den Hunden mit Erkrankungen des hämatopoetischen Organsystems keine Geschlechtsdisposition mittels statistischer Methoden nachweisen. In der vorliegenden Untersuchung allerdings überwogen sowohl bei den Gesamtpatienten als auch bei den Patienten mit Anämie die männlichen bzw. männlich-kastrierten Hunde (siehe Tab. 10, S. 86). In der Gruppe der mit Vollblut transfundierten Hunde allerdings waren die weiblichen und weiblich-kastrierten Patienten in der Überzahl.

Neben den Mischlingshunden, die weitaus den größten Anteil sowohl der Gesamtpatienten als auch der Anämiker und transfundierten Patienten bildeten, waren während des Untersuchungszeitraumes noch 167 andere Rassen vertreten (siehe Tab. 11, S. 87ff.). Da allerdings über die Hundepopulation in Deutschland keine Zensusdaten zur Verfügung stehen, lassen sich keine allgemein gültigen Schlußfolgerungen aus dieser Rassenverteilung ziehen.

Hinsichtlich der Rassen konnte DRIVER (1997) keine statistisch signifikante Häufung bei Erkrankungen der blutbildenden Organe feststellen. Bei der alleinigen

Betrachtung der Leukosen allerdings fand er eine signifikante Häufung beim Boxer, Schnauzer, Berner Sennenhund und Airedale Terrier. Besonders selten kamen in seiner Untersuchung die Leukosen bei Dackel und Yorkshire Terrier vor. Leukosen sind aber nur eine von vielen möglichen Anämieursachen, deshalb können diese Ergebnisse nur sehr eingeschränkt mit der vorliegenden Untersuchung verglichen werden.

Die statistische Auswertung mittels Chi-Quadrat- bzw. Binomialtest zeigte eine besondere Anfälligkeit einzelner Rassen für das Auftreten von Anämien während des Untersuchungszeitraumes, bzw. eine signifikant geringere Anfälligkeit anderer Rassen (siehe Tab. 12, S. 91). Berner Sennenhunde, Pit Bull Terrier und Rottweiler auf der einen Seite, sowie Dackel auf der anderen Seite waren sogar hochsignifikant mit  $p < 0,001$  häufiger bzw. seltener von Blutarmut betroffen. REITEMEYER et al. (2000) berichteten, dass nach den Mischlingshunden Cocker Spaniel, Dackel, Yorkshire Terrier, Deutscher Schäferhund, Rottweiler und Pudel am häufigsten Transfusionen erhielten, sie stellten aber keinen Vergleich zur Rasseverteilung aller vorgestellter Patienten an.

Bei der Auswertung der Altersverteilung der Patienten ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen dem Alter der Gesamtpatienten und dem der Anämiepatienten (siehe Tab. 13, S. 92). Dies war vor allem durch den sehr großen Anteil der Einjährigen unter den Patienten mit Blutarmut verursacht (siehe Abb. 19, S. 96). In diese Gruppe fällt auch ein Großteil der an hämorrhagischer Gastroenteritis erkrankten Hunde, wie sie z.B. durch das Parvovirus verursacht wird. Zusätzlich erscheint diese Gruppe so überrepräsentiert, weil sehr junge Tiere niedrigere Referenzwerte für die Parameter Hämatokritwert, Erythrozytenzahl und Hämoglobin haben und somit fälschlicherweise als Anämiepatienten erscheinen (WESKAMP, 1994; LUND et al., 2000; KUHL et al., 2000; MISCHKE et al., 2000; MEINKOTH und CLINKENBEARD, 2000).

Bei der Altersverteilung der Patienten, die Vollbluttransfusionen erhielten, überwiegen die Einjährigen. Bei dieser Gruppe handelte es sich zum größten Teil um an Parvovirose erkrankte Welpen. Sie erhielten frisches Vollblut, um einerseits rote und weiße Blutzellen zu übertragen, andererseits aber auch als passive Immunisierung und zum Ausgleich des enteralen Eiweißverlustes. Bei sehr alten Hunden lagen häufig nichtregenerative Anämien vor, deren Ursache nicht therapierbar war. Aus diesem Grund erhielten ältere Hunde deutlich seltener

Vollbluttransfusionen (siehe Abb. 19, S. 96). KERL und HOHENHAUS (1993) gaben das durchschnittliche Alter der mit Erythrozytenkonzentrat versorgten Patienten mit 7,7 Jahren und einer Spannweite von 2 Monaten bis 19 Jahren an. Damit waren die Hunde in dieser Studie älter als in der vorliegenden Arbeit.

## 5.6 Klinische Untersuchung

Die Beurteilung der klinischen Symptome während und nach der Blutübertragung bei den 98 mit Vollblut transfundierten Hunden erwies sich als schwierig: Zum ersten, weil die Unterscheidung zwischen krankheitsbedingten und transfusionsbedingten Symptomen bei den meisten der beobachteten Symptome nicht möglich ist (GIGER et al., 1995), zum zweiten, weil die Überlebenszeit mancher Hunde nach den Transfusionen zu kurz war, um z.B. eine durch die Bildung von Antikörpern verursachte Transfusionsreaktion festzustellen. Drittens war es möglich, dass durch die zusätzliche Medikation (v.a. Vollelektrolytinfusionen, Prednisolon und Antibiotika) transfusionsbedingte klinische Symptome unterdrückt wurden. Dies war auch bei Hund Nr. 5 bei der Dritttransfusion im Rahmen des Transfusionsversuches der Fall: Durch eine einmalige intravenöse Applikation von Prednisolon (10 mg/kg KM) kam es zu einer deutlichen Besserung der bei ihm beobachteten Symptome innerhalb kürzester Zeit.

Somit konnten bei keinem der untersuchten Patienten eindeutige, einem Transfusionszwischenfall zuzuordnende, klinische Symptome beobachtet werden. Dies trifft v.a. auf einen Anstieg der inneren Körpertemperatur unmittelbar nach der Blutübertragung zu. KERL und HOHENHAUS (1993), CALLAN et al. (1996) bzw. KOHN et al. (2000a) hingegen beschrieben bei 13,0%, 3,3% bzw. 1,7% aller transfundierten Hunde klinisch signifikante Transfusionszwischenfälle, nämlich Fieber, Gesichtssödem und Vomitus (CALLAN et al., 1996), bzw. Gesichtssödem, Vomitus und Fieber mit Hämoglobinurie (KOHN et al., 2000a), die allerdings nur eine leichter Symptomatik und keine dauerhafte Schädigung verursachten. KERL und HOHENHAUS (1993) gaben die klinischen Symptome der beobachteten Transfusionsreaktionen nicht an, sie unterschieden aber zwischen akuten und verzögerten Reaktionen (bei zehn bzw. sieben Patienten).

Hämolytische Transfusionsreaktionen konnten KOHN et al. (2000a) in drei Fällen nachweisen, von denen zwei Hunde die erste und ein Patient die vierte Transfusion erhielt. Damit stehen ihre Beobachtungen z.T. im Gegensatz zu den Ergebnissen der anderen Autoren und des eigenen Transfusionsversuches, denn dabei traten nach der Ersttransfusion bei keinem der Empfänger klinische Symptome auf. GIGER et al. (1995) hingegen beschrieben zwar auch bei einem Hund die Symptome einer hämolytischen Transfusionsreaktion mit Lethargie, Fieber, Hämoglobinämie und Hämoglobinurie, dieser Patient war allerdings durch eine drei Jahre zurückliegende Transfusion gegen DEA 1.1 sensibilisiert worden.

Die Überlebenszeiten der transfundierten Hunde spiegelten den Schweregrad der zugrundeliegenden Erkrankungen wider (siehe Tab. 15, S. 99) und entsprechen annähernd den Literaturangaben (KERL und HOHENHAUS, 1993; CALLAN et al., 1996; REITEMEYER et al., 2000). Die schlechte Prognose der Hunde mit aregenerativer Anämie ist mit dem hohen Prozentsatz an malignen Tumorerkrankungen in dieser Gruppe zu erklären. Für Hunde mit immunhämolytischen Anämien wurde, je nach Autoren unterschiedlich, die Mortalitätsrate während des Klinikaufenthaltes mit 14-41% beschrieben (SWITZER und JAIN, 1981; SCHWENDENWEIN, 1988; KLAG et al., 1993; PRÜFER, 1995; DAY, 1996).

## 5.7 Blutuntersuchung

Bei den 98 Patienten wurden die Parameter Hämatokritwert, Gesamtleukozytenzahl und Thrombozytenzahl statistisch ausgewertet, weil sie am aussagekräftigsten für den Erfolg einer Vollbluttransfusion angesehen wurden. Diese drei Parameter wurden in einer ausreichend großen Fallzahl bis zu zehn Tagen nach der Transfusion bei den Patienten dokumentiert. Die Bestimmung des freien Hämoglobins im Plasma erfolgte bei den Patienten im Routinebetrieb nicht, da sie keine klinischen Symptome einer hämolytischen Transfusionsreaktion zeigten. Allerdings war somit die retrospektive Beurteilung einer intravasalen Hämolyse nach der Transfusion nicht mehr möglich. Damit kann auch keine endgültige Aussage zum eventuell stattgefundenen Abbau der transfundierten

Erythrozyten bei den Patienten mit Antikörpern am Tag 0 (d.h. vor Transfusion) gemacht werden.

Die hoch signifikanten Gruppenunterschiede, Zeiteffekte und Wechselwirkungen zwischen Gruppe und Zeit bei allen drei Patientengruppen (globale Vergleiche) zeigen, dass sie sich deutlich voneinander unterscheiden. Das wurde hingegen beim paarweisen Vergleich der einzelnen Gruppen nicht in jedem Fall so deutlich. Da bei den einzelnen Anämiegruppen in Abhängigkeit von der Ursache der Anämie neben der Vollbluttransfusion noch unterschiedliche andere therapeutische Maßnahmen ergriffen wurden, ist die Entwicklung der angeführten Blutparameter über die Zeit hinweg mit Vorsicht zu interpretieren. So erhielten z.B. die Hunde mit Hämolyse deutlich mehr Vollelektrolytinfusionen als die Patienten der anderen beiden Anämiegruppen, um die Nierenfunktion aufrecht zu erhalten und eine Schädigung des Tubulussystems zu vermeiden. Diese massive Infusionstherapie kann über eine Verdünnung des Blutes zu einem niedrigeren Hämatokritwert führen.

Der paarweise Vergleich zwischen der Anämiegruppe 1 (Blutungsanämie) und 2 (Hämolytische Anämie) zeigt, dass der Hämatokritwert bei Gruppe 1 signifikant höher war als bei Gruppe 2 (siehe Tab. 16, S. 101). Diese Beobachtung läßt sich mit der Tatsache erklären, dass sich bei einer akuten Blutung der Hämatokritwert in den ersten 24 Stunden nicht analog zum Ausmaß des Blutverlustes verringert, und, nach Stoppen der Blutung, eine rasche Erholung eintreten kann. Bei hämolytischen Anämien, v.a. immunhämolytischen, ist die Ursache meist nicht so schnell zu bekämpfen, so dass die Hämolyse auch noch nach der Transfusion und dem zusätzlichen Einsatz von anderen Medikamenten bestehen kann. Deshalb stieg bei diesen Hunden der Hämatokritwert meist langsamer an.

Die Hunde mit nichtregenerativer Anämie zeigten keinen oder einen nur ggr. Anstieg des Hämatokritwertes während des Beobachtungszeitraumes von zehn Tagen. Bei ihnen wurden die Vollbluttransfusionen in den meisten Fällen durchgeführt, um eine vorübergehende Stabilisierung zu erreichen, bis die ätiologische Therapie eine Wirkung zeigen konnte (wie z.B. die Chemotherapie bei Patienten mit malignen Tumoren oder interventionelle Kathetereingriffe bei Hunden mit portosystemischen Lebershunts).

Bei einigen Hunden aus dieser Anämiegruppe diente die Vollbluttransfusion hingegen zur Überbrückung der Zeit bis zur endgültigen Diagnosestellung. Falls diese eine infauste Prognose nahelegte und das klinische Befinden der Patienten einen Leidenszustand vermuten ließ, wurden die betreffenden Hunde in den meisten Fällen schmerzlos eingeschläfert. Das erklärt auch die große Anzahl an Patienten aus dieser Gruppe, die noch während des Klinikaufenthaltes verstarb (siehe Tab. 15, S. 99).

Bei dem paarweisen Vergleich der Gesamtleukozytenzahl zwischen den drei Anämiegruppen war ein hoch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen 2 (Hämolytische Anämie) und 3 (Nichtregenerative Anämie) sowie jeweils ein schwach signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen 1 (Blutungsanämie) und 2 bzw. 1 und 3 nachweisbar. Dies zeigt sich auch in der Abbildung 21 (S. 104), aus der hervorgeht, dass die Gruppe 2 eine höhere durchschnittliche Leukozytenzahl aufwies (v.a. in den ersten drei Tagen) als die Gruppe 3.

Das hängt mit der Tatsache zusammen, dass Infektionen, die auch einen Leukozytenanstieg bewirken, häufig als Ursache einer hämolytischen Anämie vorkommen (SCHWENDENWEIN, 1988; KÖCK und HIRSCHBERGER, 1999). Auch sind autoimmune hämolytische Anämien meist von einer Neutrophilie und Monozytose begleitet (SWITZER und JAIN, 1981; DAY, 1996; BARKER, 2000). Zusätzlich liegt bei nichtregenerativen Anämien als Folge einer Knochenmarkhypo- oder -aplasie manchmal auch noch eine verminderte Bildung von Leukozyten vor, woraus eine Leukopenie resultiert (WALTON, 1996; STOKOL und BLUE, 1999).

Die Auswertung der Thrombozytenzahlen im paarweisen Gruppenvergleich ergab nur schwach signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen 1 und 3, sowie 2 und 3, währenddessen zwischen den Gruppen 1 und 2 kein signifikanter Gruppenunterschied bestand. Diese Ergebnisse sind in der Abbildung 22 (S. 105) grafisch dargestellt. Am auffälligsten ist dabei die durchweg niedrige Thrombozytenzahl der Hunde mit nichtregenerativer Anämie (Gruppe 3). Als Erklärung dafür kann, wie bei der niedrigen Gesamtleukozytenzahl, eine mangelhafte Regenerationsfähigkeit des Knochenmarks im Rahmen einer Knochenmarkhypo- bzw. -aplasie angenommen werden (ROGERS, 2000). Tatsächlich war auch bei mehreren Hunden aus dieser Anämiegruppe bei der

Knochenmarkzytologie eine verminderte Zellularität feststellbar, die sich als Panzytopenie bei der Blutzellzählung manifestierte.

## 5.8 Urinuntersuchung

Für die im Routinebetrieb durchgeführten Urinuntersuchungen bei den 98 transfundierten Patienten lagen nicht genügend Beobachtungen vor, um eine statistische Auswertung durchführen zu können. Deshalb erfolgte die Beschränkung auf eine deskriptive Datenbeschreibung. Wie aus den Tabellen 19 und 20 (S. 106) zu entnehmen ist, kamen Veränderungen der Urinparameter bei vielen der 98 Patienten vor. Zum Teil bestanden diese veränderten Werte schon am Tag 0 (also vor der Transfusion), zum Teil entwickelten sie sich erst im Laufe der Erkrankung. Im ersten Fall waren die beobachteten Veränderungen eindeutig der zugrunde liegenden Erkrankung zuzuordnen, im zweiten Fall blieb es fraglich, ob die Vollbluttransfusion einen Einfluss auf die Entwicklung der Urinparameter hatte. Vor allem bei den Hunden mit hämolytischer Anämie ließ es sich nicht entscheiden, ob das Hämoglobin im Urin auf Grund der Hämolyse durch die ursprüngliche Erkrankung oder auf Grund einer hämolytischen Transfusionsreaktion in Folge der Bildung antierythrozytärer Antikörper anfiel. Letzteres ist jedoch eher unwahrscheinlich, weil in der Regel DEA 1.1-negative Spender zum Einsatz kamen und eine posttransfusionelle Antikörperbildung erst einige Tage p.T. nachweisbar wäre.

Die überdurchschnittliche Ausscheidung von Hämoglobin und Eiweiß über den Urin bei den Patienten der Anämiegruppe 2 (Hämolytische Anämie) entspricht dem vermehrten Anfall des roten Blutfarbstoffes in Folge der Hämolyse. Bei Hunden hat die Leber zwar eine große Reservekapazität hinsichtlich der Metabolisierung von Hämoglobin zu Bilirubin, dennoch kann es bei einer massiven akuten Hämolyse bzw. bei eingeschränkter Leberfunktion zu einer Hämoglobinurie kommen (GIGER, 2000b).

Insgesamt fielen bei keinem der 98 Patienten Veränderungen der Urinparameter auf, die zweifelsfrei ihre Ursache in der Transfusion bzw. in einer Transfusionsreaktion gehabt hätten. Das entspricht auch den Ergebnissen der klinischen Untersuchungen.

## 5.9 Nachweis antierythrozytärer Antikörper

Für den Nachweis der gegen die roten Blutzellen der Spenderhunde gerichteten Antikörper im Serum der Empfängerhunde wurden die selben Untersuchungsmethoden wie bei den Hunden des Transfusionsversuchs durchgeführt, nämlich der Hämolysetest und der direkte und indirekte Agglutinationstest. Die durchgeführten Tests erbrachten überraschende Ergebnisse: Bei 44 von insgesamt 98 Patienten waren Antikörper gegen die Erythrozyten des Spenders nachweisbar, bei 23 lagen diese schon am Tag 0, also vor der Transfusion, vor (siehe Tab. 21 und 22, S. 108 und 110). Da in diese Studie nur Hunde aufgenommen wurden, die bisher noch keine Transfusion erhalten hatten, müssen die nachgewiesenen Antikörper am Tag 0 entweder schon präformiert als natürliche Antikörper vorgelegen haben, oder es handelte sich um Immunantikörper, die als Ursache für eine immunhämolytische Anämie in den Empfängerhunden vorlagen und mit den roten Blutzellen der Spender kreuzreagierten.

Auf jeden Fall aber müssen die Bluttransfusionen bei den 23 Hunden mit antierythrozytären Antikörpern am Tag 0 als serologisch unverträglich eingestuft werden, obwohl auch diese Hunde keine eindeutigen klinischen oder labordiagnostischen Symptome einer Transfusionsreaktion zeigten. Es lässt sich aber nicht ausschließen, dass durch die zusätzliche Behandlung mit Glukokortikoiden und Vollelektrolytinfusionen bei diesen Patienten möglicherweise ablaufende Transfusionsreaktionen unterdrückt wurden. Somit blieb unklar, ob die nachgewiesenen antierythrozytären Antikörper am Tag 0 eine Transfusionsreaktion auslösen hätten können und somit eine klinische Relevanz besitzen.

Da während des Untersuchungszeitraumes noch nicht bekannt war, dass manche Patienten schon am Tag 0 antierythrozytäre Antikörper besaßen und bei keiner Blutübertragung klinische Symptome einer Transfusionsreaktion zu beobachten waren, bestand kein unmittelbarer Anlass, diese sich im Nachhinein als serologisch unverträglich erwiesenen Transfusionen nicht durchzuführen. Außerdem handelte es sich bei allen Patienten um schwer kranke Tiere, bei denen versucht wurde, mit den in nur geringer Menge zur Verfügung stehenden Vollblutkonserven lebensbedrohliche Situationen zu überbrücken. Trotzdem sollte im Sinne einer optimalen Transfusionsmedizin in Zukunft nur serologisch

verträgliche Blutprodukte übertragen werden, um einen maximalen therapeutischen Nutzen zu gewährleisten.

Präformierte Antikörper gegen Oberflächenmerkmale von Erythrozyten sind beim Hund selten (SWISHER, 1954; SMITH, 1991). Es kann aber nicht ausgeschlossen werden, dass zumindest bei einem Teil der Patienten, die schon am Tag 0 Antikörper aufwiesen, solche präformierten Antikörper vorlagen. Wahrscheinlicher erscheint allerdings, dass die am Tag 0 nachgewiesenen Antikörper von den betreffenden Patienten im Rahmen einer Immunerkrankung gegen körpereigene Strukturen gebildet worden sind und in Folge einer Kreuzreaktion auch an den transfundierten Erythrozyten gebunden haben. Der dadurch ausgelöste vorzeitige Abbau der übertragenen roten Blutzellen erklärt z.T. auch die mäßige Prognose der Patienten dieser Studie.

Die Blutgruppen der Patienten dieser Studie wurden vor den Transfusionen nicht bestimmt, da man ursprünglich annahm, dass beim Einsatz DEA 1.1-negativer Spender keine Immunisierung des Empfängers zu erwarten wäre. Ausserdem ist ohnehin nur für diese Blutgruppe ein Testsystem kommerziell erhältlich, welches zudem relativ teuer ist.

Die Tabelle 22 (S. 110) zeigt, dass bei den Hunden mit hämolytischer Anämie (Gruppe 2) mit 35,5% am häufigsten schon Antikörper am Tag 0 vorkamen. In dieser Gruppe befand sich auch ein großer Anteil an Patienten mit immunhämolytischer Anämie, die auf jeden Fall Antikörper gegen die eigenen Erythrozyten besaßen. DAY (1996) und MILLS (1997) klassifizierten die bei AIHA auftretenden antierythrozytären Antikörper als IgG der Subklasse IgG1 und IgG4. Eine Klassifizierung der nachgewiesenen Antikörper wurde im Rahmen dieser Studie nicht durchgeführt. Es erscheint naheliegend, dass die selben Antikörper auch an den transfundierten Erythrozyten gebunden haben, wofür es zwei mögliche Erklärungen gibt: Entweder binden diese Antikörper unspezifisch an oberflächlichen Strukturen aller roten Blutzellen (TANGNER, 1982), oder der jeweilige Spender besaß die selben Blutgruppenmerkmale wie der Empfänger und die Antikörper bei einer AIHA sind gegen die eigenen Blutgruppenantigene gerichtet (DAY, 1999).

Die Bildung von antierythrozytären Antikörpern der IgG-Klasse ist eine derzeit diskutierte Erklärung für den physiologischen Abbau von gealterten Erythrozyten

(NOVINGER et al., 1996; CHRISTIAN, 2000). Möglicherweise können solche Antikörper aber auch an den transfundierten Erythrozyten des Spenders gebunden haben, und damit könnten sie die Ursache für die positiven Hämolyse- und Agglutinationstests schon am Tag 0 gewesen sein.

Kürzlich wurde bei Mäusen CD47 (Integrin-assoziiertes Protein, IAP) als Marker auf Erythrozyten für die Selbsterkennung beschrieben. In einem Versuch wurde Blut von Knock-out-Mäusen ohne CD47 auf normale Mäuse und auf CD47<sup>-/-</sup>-Mäuse übertragen und die Überlebenszeit dieser Erythrozyten gemessen. Die normalen Mäuse bauten die transfundierten Erythrozyten innerhalb kürzester Zeit ab, dagegen wurden dieselben Erythrozyten in den Knock-out-Mäusen nicht angegriffen. Als Erklärung dafür wird angenommen, dass CD47 auf normalen Erythrozyten sich an den inhibitorischen Rezeptor SIRP $\alpha$  (Signal Regulatory Protein alpha) der Makrophagen in der Milz bindet, diese dadurch hemmt und damit eine Phagozytose verhindert. Damit bekommt die Expression von CD47 auf den Erythrozyten eine große Bedeutung in der Regulation des Abbaues von alten oder geschädigten roten Blutzellen. Es wäre denkbar, dass der CD47-SIRP $\alpha$ -Komplex eine wesentliche Rolle im Pathomechanismus der hämolytischen Anämien spielt und damit eine weitere Erklärung für den übermäßigen Abbau der roten Blutzellen bei den Patienten der Gruppe 2 (Hämolytische Anämie) ist (OLDENBORG et al., 2000; HAGMANN, 2000).

In der Gruppe Blutungsanämie (Gruppe 1) waren Antikörper am Tag 0 bei 22,2% aller Patienten nachweisbar. In dieser Gruppe befanden sich auch alle jene Hunde, die wegen einer Thrombozytopenie eine Blutungsneigung zeigten. Bei immunbedingten Thrombozytopenien kann eine primäre immunhämolytische Anämie mit vergesellschaftet sein (Evans-Syndrom), die durch einen positiven Coombs-Test nachgewiesen wird (KOHN et al., 2000b). Tatsächlich waren bei einem Hund aus der Anämiegruppe 1 sowohl Antikörper gegen Thrombozyten (ATA-Test) als auch gegen Erythrozyten (Coombs-Test) nachweisbar. Allerdings sind nur bei einem weiteren Patienten aus dieser Gruppe beide Untersuchungen gleichzeitig durchgeführt worden.

Es ist also denkbar, dass die Patienten mit Blutungsanämie, die schon am Tag 0 Antikörper aufwiesen, ursprünglich am Evans-Syndrom erkrankt waren, bei ihnen aber die Symptome der primären immunbedingten Thrombozytopenie (Blutungen) jene der primären immunhämolytischen Anämie (Hämolyse) überwogen. Damit

wurden die betreffenden Patienten in die Gruppe der Blutungsanämiker eingeteilt, obwohl sie unter Umständen auf Grund ihrer autoimmunen Erkrankung einen ähnlichen Pathomechanismus aufwiesen wie die Hunde mit immunhämolytischer Anämie (Gruppe 2).

Bei den Patienten mit einer nichtregenerativen Anämie (Gruppe 3) kamen bei immerhin noch 9,2% aller Hunde antierythrozytäre Antikörper am Tag 0 vor. In dieser Anämiegruppe fanden sich neun Patienten mit bösartigen Tumoren, die über eine Knochenmarkinfiltration die physiologische Hämatopoese einschränkten. V.a. Tumoren des lymphatischen Systems (z.B. lymphatische Leukose) neigen dazu, autoimmune Erkrankungen wie systemischen Lupus erythematoses, autoimmune Thrombozytopenie oder autoimmune hämolytische Anämie auszulösen (TIZARD, 2000d). Bei zwei Hunden aus dieser Patientengruppe fiel der Coombs-Test positiv aus, sechs Hunde waren allerdings negativ. Damit besteht die Möglichkeit, dass bei den betreffenden Patienten in dieser Anämiegruppe die antierythrozytären Antikörper als Folge einer Tumorerkrankung vorlagen.

In der Literatur sind auch Fälle von kaniner autoimmuner hämolytischer Anämie mit einer persistierenden mangelhaften Erythropoese und daraus resultierender nichtregenerativer Anämie, sowie Pure Red Cell Aplasia (Erythroblastopenie) mit Autoantikörpern gegen Erythrozyten beschrieben (SCOTT-MONCRIEFF et al., 1995; BARKER, 2000; SCOTT, 2000b). Dies könnte eine weitere Ursache für das Auftreten von antierythrozytären Antikörpern im Serum der Patienten aus der Anämiegruppe 3 sein.

Die bei den 98 Gesamtpatienten nachgewiesenen antierythrozytären Antikörper umfassten alle Antikörperarten, außer hämolysierende Antikörper bei 4° C Inkubationstemperatur. Damit entsprach das Spektrum im Wesentlichen dem bei den beiden positiven Hunden des Transfusionsversuchs. Am häufigsten waren die direkt agglutinierenden Antikörper nachweisbar und an zweiter Stelle die indirekt agglutinierenden. Nur bei den Hunden aus der Gruppe der Blutungsanämie kamen hämolysierende Antikörper öfter vor als indirekt agglutinierende (siehe Tabelle 21, S. 108). Da allerdings alle Antikörperarten auftraten, konnte nicht beurteilt werden, ob die Wärmeantikörper tatsächlich die eigentlichen Auslöser einer Transfusionsreaktion sind und damit eine größere klinische Bedeutung besitzen als die Kälteantikörper.

TIZARD (2000d) beschrieb direkt agglutinierende Antikörper bei 38° C als Auslöser für die autoimmune hämolytische Anämie des Typs I, bei der sowohl IgG als auch IgM vorkommen können. Für den Typ II der autoimmunen hämolytischen Anämie machte er hämolysierende Antikörper der IgM-Klasse mit einem Temperaturoptimum bei 38° C verantwortlich, wohingegen Typ III durch indirekt agglutinierende Antikörper (IgG) bei 38° C verursacht wird. Dieser Typ ist der häufigste bei Hunden und Katzen. Der Typ IV einer autoimmunen hämolytischen Anämie wird durch direkt agglutinierende Antikörper mit einem Temperaturoptimum bei 4° C hervorgerufen (Kälteagglutinine) und Typ V durch indirekt agglutinierende Antikörper bei 4° Celsius. Für die beiden letztgenannten Typen sind Antikörper der IgM-Klasse ursächlich beteiligt (TIZARD, 2000d). Da bei den Hunden in der vorliegenden Studie alle Antikörperarten außer hämolysierende Antikörper bei 4° nachgewiesen wurden, können alle fünf Typen der autoimmunen hämolytischen Anämie als Ursache für den Nachweis der antierythrozytären Antikörper am Tag 0 vorgelegen haben. Wahrscheinlich traten sogar Mischtypen auf, da einige Hunde mehrere verschiedene Antikörperarten gleichzeitig besaßen. Eine Zuordnung der beobachteten Antikörper bei den Patienten zu den einzelnen Immunglobulinklassen wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt.

Bei der statistischen Auswertung der Veränderung der Antikörpertiter über die Zeit hinweg ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Anämiegruppen feststellen. Auch die Höhe der Antikörpertiter im Verlauf der Untersuchungen veränderte sich nicht signifikant. Das bedeutet, dass es im Durchschnitt weder zu einem Anstieg noch zu einem Abfall der Antikörpertiter nach den Transfusionen kam. Als einzige Ausnahme sind die hämolysierenden Antikörper mit der Inkubationstemperatur bei 38° C bei den Patienten der Anämiegruppe 2 (Hämolytische Anämie) schwach signifikant angestiegen. Diese Antikörperart könnte daher in Folge der Vollbluttransfusion gebildet worden sein.

Da zu erwarten war, dass wenigstens einige der transfundierten Patienten Antikörper als Reaktion auf die Fremderythrozyten bilden würden, überraschte der fehlende Antikörperanstieg während des Untersuchungszeitraumes. Als wahrscheinliche Erklärung dafür kann die zusätzlich zur Vollbluttransfusion durchgeführte Therapie herangezogen werden: Fast alle Patienten (Hunde mit immunbedingten Erkrankungen sogar ausnahmslos) erhielten Kortikosteroide, im Regelfall Prednisolon, z.T. in immunsuppressiver Dosierung. Dadurch werden

sowohl die Anzahl der Fc $\gamma$ -Rezeptoren auf den Zellen des MPS vermindert, als auch die Produktion neuer Antikörper gehemmt (BARKER, 2000).

Da Kortikosteroide auf vielfältige Weise in die Regulationsmechanismen des Immunsystems eingreifen, ist eine fehlende Antikörperbildung als Folge der Immunsuppression wahrscheinlich. TIZARD (2000e) beschrieb die Ansprechbarkeit von B-Lymphozyten auf Kortikosteroide zwar als gering und erwartete eine Depression der Antikörpersynthese nur bei sehr hohen Dosen. Allerdings hemmen Kortikosteroide zusätzlich die Aktivität von T-Lymphozyten und Makrophagen, so dass auch deshalb eine adäquate Reaktion des Immunsystems auf die zugeführten Antigene in Form der transfundierten Erythrozyten ausblieb.

Die bei den Patienten gefundenen maximalen Antikörpertiter unterschieden sich zum Teil von denen bei den beiden Hunden des Transfusionsversuchs: Hämolysierende Antikörper waren sowohl bei den Hunden des Transfusionsversuchs als auch bei den Patienten mit einem maximalen Titer von 1:2 nachweisbar (siehe Abb. 5 und 6, S. 73 und 74 sowie Tab. 23, S. 112). Die direkt agglutinierenden Antikörper erreichten bei den Patienten einen Titer von maximal 1:64 bei der Inkubationstemperatur 38° C (siehe Tab. 23, S. 112) und lagen damit um zwei Verdünnungsstufen höher als bei den beiden Hunden des Transfusionsversuches mit dem höchsten Titer von 1:16 (siehe Abb. 7 und 8, S. 75 und 76).

Im Gegensatz dazu waren die indirekt agglutinierenden Antikörper im Tierversuch wesentlich höhertitrig als bei den Patienten, nämlich 1:1024 gegenüber 1:64 (siehe Abb. 9 und 10, S. 78 und 79, sowie Tab. 23, S. 112). Allerdings erreichte von den Patientenhunden nur ein einziger die oben angeführten hohen Titer der direkt und indirekt agglutinierenden Antikörper, während die restlichen Patienten höchstens bis zu einer Verdünnung von 1:8 positiv reagierten.

Im Unterschied zu den Patienten erhielten die Hunde im Laufe des Transfusionsversuches mehrmalige Blutübertragungen, nämlich insgesamt drei von jeweils dem selben Spender. Sie wurden also zweimal geboostert, was sich auch auf die Entwicklung ihrer Antikörpertiter im Laufe des Untersuchungszeitraums bemerkbar machte. Das trifft v.a. auf die indirekt agglutinierenden Antikörper zu.

Zusammengefasst zeigten die Ergebnisse dieser Arbeit eine enge Korrelation zwischen Antikörperbildung gegen Erythrozyten nach Transfusionen und klinischen Symptomen von Transfusionsreaktionen bei den Hunden des Tierversuches. Das häufige Auftreten von antierythrozytären Antikörpern bei den Patienten mit Anämie war unabhängig von den durchgeführten Transfusionen und hatte ihre Ursache wahrscheinlich in den vorliegenden Primärerkrankungen. Trotzdem konnten keine gesicherten klinischen Symptome einer Transfusionsreaktion bei den kranken Hunden festgestellt werden, allerdings muss man davon ausgehen, dass der Erfolg der Vollbluttransfusionen durch das Vorliegen der antierythrozytären Antikörper wesentlich beeinträchtigt war.

Damit ergeben sich als Schlussfolgerungen für die klinische Transfusionsmedizin:

1. Die klinischen Symptome einer Transfusionsreaktion sind bei kranken Tieren kaum zu erkennen. Damit muss man von einem häufigeren Auftreten der Transfusionsreaktionen ausgehen, als diese bisher beobachtet wurden.
2. Zum Nachweis einer Transfusionsreaktion ist die Bestimmung des freien Hämoglobins im Plasma unerlässlich. Da dieser Parameter aber bei Patienten mit hämolytischer Anämie schon vor einer Transfusion erhöht sein kann, ist nur ein Anstieg unmittelbar nach der Blutübertragung beweisend.
3. Das häufige Auftreten antierythrozytärer Antikörper ohne vorherige Transfusion bekräftigt die Forderung, vor jeder Blutübertragung den Kreuztest durchzuführen, um serologische Unverträglichkeiten weitestgehend zu vermeiden. Nur so kann ein möglichst großer therapeutischer Nutzen für den Patienten erzielt werden.

Weitere Untersuchungen, v.a. hinsichtlich der beteiligten Antikörperklassen (IgE, IgG, IgM), der auslösenden Oberflächenstrukturen auf Erythrozyten sowie des Vorkommens von antileukozytären und antithrombozytären Antikörpern bei Patienten mit Anämie erscheinen als notwendig, um die zugrundeliegenden Pathomechanismen besser verstehen zu können.

Desgleichen sind weitere Untersuchungen zur Aufdeckung der noch vermuteten weiteren Blutgruppen erforderlich (siehe Hund Nr. 9). Dazu müssen aber erst die entsprechenden Testseren durch Immunisierungsversuche gewonnen und Frequenzanalysen an einer größeren Hundepopulation durchgeführt werden.

Ebenso besteht Bedarf an Forschungen über die Wirkung der ermittelten Antikörper, die Bedeutung ihres Temperaturoptimums, die biochemische Struktur der antigenen Epitope auf der Erythrozytenmembran und über deren Verteilung innerhalb der Hundepopulation.

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, antierythrozytäre Antikörper nach Vollbluttransfusionen beim Hund nachzuweisen und deren klinische Relevanz zu klären. Dazu wurden einerseits im Rahmen eines Tierversuches (Regierungspräsidium Gießen, Gi 18/13-1/95, lfd. Nr. 21) mehrmalige Transfusionen an gesunden Hunden durchgeführt und andererseits die Daten von 98 Patienten, denen aufgrund einer medizinischen Indikation Vollblut übertragen wurde, ausgewertet.

Bei den Hunden des Tierversuches handelte es sich um sechs Beagles und vier FBI-Mischlinge, die als Dauerblutspender in der MVK I gehalten wurden. Zwei Beagles dienten als Blutspender, sie besaßen die Blutgruppen DEA 1.1, 4, 7 bzw. nur DEA 4. Die anderen acht Hunde wurden als Empfänger eingesetzt, wobei darauf geachtet wurde, dass sowohl blutgruppengleiche als auch -ungleiche Spender-Empfänger-Kombinationen vorlagen.

Im Rahmen des Transfusionsversuches bekam jeder Empfängerhund von seinem jeweiligen Spender an den Tagen 0, 42 und 51 5 ml/kg KM Vollblut intravenös appliziert. An den Tagen 0, 1, 3, 5, 7, 9, 21, 42, 43, 45, 47, 49, 51, 52, 54, 56, 58 und 60 wurde Serum von den Empfängern gewonnen und auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen die transfundierten Erythrozyten untersucht. Ebenso wurden an diesen Tagen klinische Untersuchungen sowie Blut- und Urinuntersuchungen durchgeführt.

Die eingesetzten Testmethoden zum Nachweis der antierythrozytären Antikörper waren die Kreuzprobe auf dem Objektträger (Major- und Minortest) als praxisrelevante Screeningmethode, sowie der Hämolysetest, der direkte Agglutinationstest und der indirekte Agglutinationstest im Röhrchen.

Die beiden Spender und sechs von den acht Empfängern zeigten weder klinische Symptome noch labordiagnostische Veränderungen (Blut, Urin) während des gesamten Untersuchungszeitraumes. Bei den sechs Empfängern waren auch keine Antikörper gegen die Erythrozyten des jeweiligen Spenders nachweisbar, obwohl sich deren Blutgruppen z.T. deutlich voneinander unterschieden.

Bei den anderen zwei Empfängerhunden traten während und nach der Zweit- und Dritttransfusion deutliche klinische Symptome und Veränderungen der Parameter

Hämatokritwert, Gesamtleukozytenzahl, Thrombozytenzahl, freies Hämoglobin im Plasma, ALT, AP, GLDH und Globulin im Blut sowie Hämoglobin im Urin auf, die als akute hämolytische Transfusionsreaktion gewertet werden müssen. Die beiden Probanden bildeten auch nachweisbare antierythrozytäre Antikörper, die im Kreuztest und im direkten Agglutinationstest ab dem Tag 21 (Hund Nr. 5) bzw. 45 (Hund Nr. 9), im Hämolysetest ab dem Tag 21 (Hund Nr. 5) bzw. 47 (Hund Nr. 9) und im indirekten Agglutinationstest ab dem Tag 21 (Hund Nr. 5) bzw. 42 (Hund Nr. 9) auftraten. Damit waren mit allen in dieser Studie angewandten Testmethoden die antierythrozytären Antikörper nachweisbar.

Außerdem konnte bei den beiden positiven Hunden des Transfusionsversuches eine vollständige Übereinstimmung der Ergebnisse des Kreuztests auf dem Objektträger als praxisrelevante Screeningmethode zum Nachweis von antierythrozytären Antikörpern mit jenen des direkten Agglutinationstest im Röhrchen gefunden werden. Damit kann in der klinischen Transfusionsmedizin der Objektträgertest als Screeningmethode beim Hund zwar empfohlen werden, er reicht aber nicht aus, um jede mögliche Immunisierung des Empfängers nach einer Transfusion nachzuweisen, da er nur direkt agglutinierende Antikörper aufdeckt. Es sollte deshalb bei einem negativen Objektträger-Kreuztest der Hämolys- und indirekte Agglutinationstest im Röhrchen angeschlossen werden.

Die hämolysierenden Antikörper erreichten einen Titer von maximal 1:2, die direkt agglutinierenden Antikörper hingegen einen von 1:16 und die indirekt agglutinierenden Antikörper waren bis zu einer Verdünnung von 1:1024 nachweisbar. Alle drei Antikörperarten reagierten sowohl bei 4° C als auch bei 20° und 38° C Inkubationstemperatur, wobei kaum Unterschiede im zeitlichen Auftreten und der Titerstufe zwischen den einzelnen Temperaturen bestand.

Eine eindeutige Aussage über die Gefährlichkeit der verschiedenen Antikörperarten bezüglich ihrer Fähigkeit, eine Transfusionsreaktion auszulösen, konnte nicht gemacht werden, da nur bei zwei Hunden Antikörper auftraten, bei diesen aber alle Antikörperarten. Somit blieb auch die klinische Bedeutung der einzelnen Antikörperarten unklar, da nicht mit Sicherheit feststellbar war, welche Antikörper im Einzelnen die hämolytischen Transfusionsreaktionen auslösten.

Es zeigte sich also bei den Hunden des Transfusionsversuches eine enge Korrelation zwischen dem Vorkommen von antierythrozytären Antikörpern und den

beobachteten hämolytischen Transfusionsreaktionen mit ihren klinischen und labordiagnostischen Veränderungen nach Wiederholungstransfusionen. Daraus resultiert die Forderung für die klinische Transfusionsmedizin, Blutübertragungen so durchzuführen, dass eine Antikörperbildung gegen die übertragenen Erythrozyten auf jeden Fall vermieden werden muss. Dies lässt sich erreichen, wenn nicht nur die Blutgruppe DEA 1.1 sondern auch alle anderen Blutgruppen zwischen Spender und Empfänger übereinstimmen.

Diese Forderung ist allerdings zur Zeit nicht erfüllbar, da Testseren zur Typisierung aller beim Hund vorkommenden Blutgruppen nicht erhältlich sind. Aus dem selben Grund sollte auch die Bezeichnung „Universalspender“ für Hunde mit der Blutgruppe DEA 4 vermieden werden.

Als Patienten wurden 13.141 Hunde, die in einem Zeitraum von drei Jahren (01.09.1996 bis 31.08.1999) in der MVK I vorgestellt wurden, auf das Vorliegen einer Anämie untersucht und hinsichtlich ihres Geschlechts, ihrer Rasse und ihres Alters statistisch ausgewertet. Insgesamt wiesen in diesem Zeitraum 1.346 Hunde (10,2% aller Patienten) eine Blutarmut auf. Von 98 Patienten (d.h. 7,3% aller Hunde mit Anämie bzw. 0,75% aller Patienten), die in diesem Zeitraum Vollbluttransfusionen erhalten haben, wurden die klinischen Symptome sowie Blut- und Urinparameter erhoben und deren Serum auf das Vorhandensein von antierythrozytären Antikörpern gegen die roten Blutzellen der jeweiligen Blutspender untersucht. Dabei wurden die selben Testmethoden eingesetzt wie bei den Hunden des Transfusionsversuches.

Die häufigste Indikation für den Einsatz von Vollbluttransfusionen war eine Blutungsanämie mit 45,9%, gefolgt von hämolytischen Anämien (31,6%) und nichtregenerativen Anämien (22,4%). Das durchschnittliche Alter der transfundierten Hunde lag bei 5,4 Jahren und somit deutlich niedriger als bei den Anämikern (5,5 Jahre) und den Gesamtpatienten mit 6,9 Jahren. Während bei den Gesamtpatienten und den Anämikern die männlichen und männlich-kastrierten Hunde überwogen (55,2% bzw. 52,2%), erhielten signifikant mehr weibliche und weiblich-kastrierte Patienten eine Vollbluttransfusion (55,1%). Im Vergleich zur Rassenverteilung bei allen Patienten traten Anämien überdurchschnittlich häufig bei den Rassen Berner Sennenhund, Pit Bull Terrier, Rottweiler, Bluthund, Bobtail, Riesenschnauzer, Zwergschnauzer und Malteser auf, hingegen erkrankten

Dackel, Boxer, Deutsche Doggen, Pudel und Deutsche Schäferhunde signifikant seltener an Blutarmut.

Bei keinem der 98 mit Vollblut behandelten Patienten konnten während oder nach der ersten Transfusion eindeutige Symptome einer Transfusionsreaktion festgestellt werden, wobei sich aber die Unterscheidung zwischen krankheitsbedingten Symptomen und möglichen Transfusionsreaktionen als sehr schwierig erwies. Zusätzlich erhielten alle Patienten außer Vollblut weitere Therapeutika wie z.B. Glukokortikoide und Vollelektrolytinfusionen, wodurch möglicherweise klinische und labordiagnostische Symptome einer Transfusionsreaktion unterdrückt wurden.

Die Blutparameter Hämatokritwert, Gesamtleukozytenzahl und Thrombozyten unterschieden sich nur zum Teil zwischen den drei Patientengruppen (Blutungsanämie, hämolytische Anämie und nichtregenerative Anämie). Eine meist hoch signifikante Veränderung zeigten diese hämatologischen Werte jedoch im Vergleich zwischen Tag 0 und den Tagen 1-10 nach der Transfusion (Zeiteffekt).

Im Hämolyse- sowie im direkten und indirekten Agglutinationstest waren bei 44,9% der Patienten aus allen drei Anämiegruppen Antikörper gegen die Erythrozyten der jeweiligen Spender nachweisbar, bei 23,5% sogar schon am Tag 0, d.h. bevor sie überhaupt eine Transfusion erhalten haben. Die maximalen Antikörpertiter lagen im Hämolysetest bei 1:2, im direkten und indirekten Agglutinationstest bei 1:64. Sie veränderten sich im Durchschnitt innerhalb von zehn Tagen nach der Transfusion nicht, nur die hämolysierenden Antikörper mit der Inkubationstemperatur 38° C in der Gruppe 2 (hämolytische Anämie) stiegen schwach signifikant an.

## 7 SUMMARY

The aim of this study was to demonstrate anti-erythrocyte antibodies ensuing to whole blood transfusions in dogs and to clarify their clinical significance. For that purposes ten healthy dogs were transfused several times and the clinical records of 98 patients, which received whole blood due to the underlying diseases, were evaluated.

The ten healthy dogs were maintained for the blood donor program at the Veterinary Medical Clinic (Small Animal Internal Medicine), University of Giessen. Six of them were beagles, four foxhound-like mongrels. Two of the beagles served as donors, one of them was positive for DEA 1.1, 4, and 7, the other only possessed DEA 4. The other eight dogs were employed as recipients, some of them with the same blood groups like the donors, some with different ones.

Each recipient was transfused intravenously with approximately 5 ml/kg of whole blood from the same donor at day 0, 42, and 51. Serum samples were taken at day 0, 1, 3, 5, 7, 9, 21, 42, 43, 45, 47, 49, 51, 52, 54, 56, 58, and 60 and analyzed for antibodies against the donor's erythrocytes. Additionally physical examinations were performed and blood and urine samples were collected for laboratory investigation at the same days.

The methods used for the detection of anti-erythrocyte antibodies were both the cross match on glass slides (major and minor) as an established screening test and tests for hemolysis, direct and indirect agglutination in tubes.

The two donors and six of the eight recipients did not develop any clinical signs or alterations in blood and urine parameters during the whole period until day 60. The same six dogs did not show anti-erythrocyte antibodies against their donors, even if the blood groups were different.

In the last two recipients severe clinical symptoms and moderate to severe alterations in the parameters hematocrit (PCV), leucocyte count (WBC), thrombocyte count (PLT), free hemoglobine in the plasma, ALT, AP, GLDH and globuline as well as hemoglobinuria occurred during and after the second and third transfusion. These findings were considered to indicate an acute hemolytic transfusion reaction. Both dogs performed anti-erythrocyte antibodies in the cross match and in the direct agglutination test from day 21 and 45, in the hemolysis test

from day 21 and 47, and in the indirect agglutination test from day 21 and 42, respectively.

In the two positive dogs the titers of the hemolysins were quite low (maximum 1:2), whereas the direct hemagglutinins achieved 1:16 and the indirect hemagglutinins were very high with a titer of 1:1024. All of the three types of antibodies showed a reaction after incubation in 4°, 20°, and 38° C with no marked differences regarding their titers and time of appearance.

Thus it was demonstrated the relation between the occurrence of anti-erythrocyte antibodies and clinical symptoms with laboratory alterations in healthy dogs which underwent repeated transfusions of whole blood.

Additionally an entire concurrence has been found between the results of the cross match on glass slides as a practical screening test and the direct agglutination test in tubes.

In the second part of this study 13.141 dogs, which have been referred to the Veterinary Medical Clinic (Small Animal Internal Medicine) during a period of three years (01.09.1996 – 31.08.1999), were screened for the incidence of an anemia. Statistical analyses were performed regarding their sex, breed, and age. In 98 patients, which received one transfusion of whole blood during this period, physical examinations, blood and urine samples, and serum samples were evaluated in the same way like in the healthy dogs.

Most frequently hemorrhage was the indication for whole blood transfusion in the 98 patients (45,9%), followed by hemolysis (31,6%) and hyporegenerative anemia (22,4%). The mean age of the transfused dogs was 5,4 years, this was significantly lower than in all dogs with anemia (5,5 years) and in the average of all referred dogs (6,9 years). Male and neutered male dogs were the majority in the group of all patients (55,2%) and of all anemic patients (52,2%), whereas female and spayed dogs were more likely to get a whole blood transfusion with 55,1%. Dogs belonging to the breeds Bernese Mountain Dog, Pit Bull Terrier, Rottweiler, Bloodhound, Old English Sheepdog, Giant Schnauzer, Miniature-Schnauzer, and Maltese were significantly more susceptible to anemia, however Dachshund, Boxer, Great Dane, Poodle, and German Shepherd were less often affected by anemia.

None of the 98 patients, which were treated with a whole blood transfusion, showed distinct symptoms of a transfusion reaction, although it turned out to be very difficult to distinguish between the symptoms of the underlying diseases and symptoms of a possible transfusion reaction.

The blood parameters hematocrit (PCV), leucocyte count (WBC), and thrombocyte count (PLT) differed only partly between the three groups of dogs (hemorrhage, hemolysis, hypoplastic anemia) which received a transfusion, but a high significant effect of time could be demonstrated.

44,9% of the transfused patients performed anti-erythrocyte antibodies against the red blood cells of their donors in the hemolysis test and direct or indirect agglutination test, in 23,5% these antibodies were detectable even at day 0, i.e. before the dogs received the transfusion. The maximal titer of the hemolysins gained 1:2, of the direct and indirect hemagglutinins 1:64. The mean of the titers did not change during ten days post transfusion except of the hemolysins (incubation at 38° C) of dogs with hemolysis (group 2), which showed a low significant increase.

---

## 8 LITERATURVERZEICHNIS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. (2000a):

B Cell Activation and Antibody Production.

In: Abbas, A. K., Lichtman, A. H. und Pober, J. S.: Cellular and Molecular Immunology, W.B. Saunders Company, 182-207.

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. (2000b):

Immunologic Tolerance.

In: Abbas, A. K., Lichtman, A. H. und Pober, J. S.: Cellular and Molecular Immunology, W.B. Saunders Company, 208-231.

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. (2000c):

Transplantation Immunology.

In: Abbas, A. K., Lichtman, A. H. und Pober, J. S.: Cellular and Molecular Immunology, W.B. Saunders Company, 363-383.

ABRAMS-OGG, A.C.G. (2000):

Platelet and Granulocyte Transfusions.

In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology, Lippincott Williams & Wilkins, 844-848.

ABRAMS-OGG, A.C.G.; KRUTH, S.A.; CARTER, R.F.; VALLI, V.E.; KAMEL-REID, S.; DUBE', I.D. (1993):

Preparation and transfusion of canine platelet concentrates.

AJVR, 54, 635-642.

ALLYSON, K.; ABRAMS-OGG, A.C.G.; JOHNSTONE, I.B. (1997):

Room temperature storage and cryopreservation of canine platelet concentrates.

AJVR, 58, 1338-1347.

ANDREWS, G.A. (2000):

Red Blood Cell Antigens and Blood Groups in the Dog and Cat.

In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology, Lippincott Williams & Wilkins, 767-773.

ANDREWS, G.A.; CHAVEY, P.S.; SMITH, J.E. (1992):

Production, characterisation, and applications of a murine monoclonal antibody to dog erythrocyte antigen 1.1.

JAVMA, 201, 1549-1552.

- ARCHER, R.K.; FRANKS, D. (1961):  
Blood Transfusion in Veterinary Practice.  
The Veterinary Record, 73, 657-661.
- AUER, L.; BELL, K. (1981):  
The AB blood group system of cats.  
Animal Blood Groups and Biochemical Genetics, 12, 287-297.
- AUER, L.; BELL, K. (1983):  
Transfusion reactions in cats due to AB blood group incompatibility.  
Research in Veterinary Science, 35, 145-152.
- AUER, L.; BELL, K.; COATES, S. (1982):  
Blood transfusion reactions in the cat.  
JAVMA, 180, 729-730.
- BARKER, R.N. (2000):  
Anemia Associated with Immune Responses.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology,  
Lippincott Williams & Wilkins, 169-177.
- BARTH, G.; SAGER, M. (1991):  
Untersuchungen zum Aufbau einer regionalen Blutbank für Hunde.  
Kleintierpraxis, 36, 347-354.
- BLISS, J.Q.; JOHNS, D.G.; BURGESS, A.S.V. (1959):  
Transfusion Reactions due to Plasma Incompatibility in Dogs.  
Circulation Research, 7, 79-85.
- BOONE, L.I.; KNAUER, K.W.; RAPP, S.W.; STEWART, J.F.; MODIANO, J.F.  
(1998):  
Use of human recombinant erythropoietin and prednisone for treatment of  
myelodysplastic syndrome with erythroid predominance in a dog.  
JAVMA, 213, 999-1001.
- BORNHÄUSER, M.; KALNING, F.; SCHÄFER, J.; EHNINGER, G. (1997):  
Periphere Blutstammzellen.  
mta, 12, 316-320.
- BOWDLER, A.J.; BULL, R.W.; SLATING, R.; SWISHER, S.N. (1971):  
Tr: A Canine Red Cell Antigen Related to the A-antigen of Human Red Cells.  
Vox Sang., 20, 542-554.

- BROOKS, M. (2000):  
Transfusion of Plasma and Plasma Derivates.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology, Lippincott Williams & Wilkins, 838-843.
- BROWNLEE, L.; WARDROP, K.J.; SELTON, R.K.; MEYERS, K.M. (2000):  
Use of a Prestorage Leukoreduction Filter Effectively Removes Leukocytes from Canine Whole Blood While Preserving Red Blood Cell Viability.  
J Vet Intern Med, 14, 412-417.
- BULL, R.W. (1982):  
Antigens, graft rejections, and transfusions.  
JAVMA, 181, 1115-1119.
- BULL, R.W. (1989):  
Animal Blood Groups.  
In: Smith, J. und Westphal, R. G.: American Association of Blood Banks Technical Workshop on Veterinary Transfusion Medicine, American Association of Blood Banks, 1-26.
- BULL, R.W.; VRIESENDORP, H.M.; CECH, R.; GROSSE-WILDE, H.; BIJMA, A.M.; LADIGES, W.L.; KRUMBACHER, K.; DOXIADIS, I.; EJIMA, H.; TEMPLETON, J.; ALBERT, E.D.; STORB, R.; DEEG, H.J. (1987):  
Joint Report of the Third International Workshop on Canine Immunogenetics. Transplantation, 43, 154-161.
- BURKHARDT, E. (1984):  
Morphologische, immunologische und virologische Untersuchungen zur Charakterisierung aus Hühnerblut isolierter Lymphozyten und Monozyten.  
Vet. med. Habil., Gießen.
- BUX, J. (1996):  
Herstellung von Blutkomponenten.  
In: Mueller-Eckhardt, C.: Transfusionsmedizin, Springer, 229-244.
- BÜCHELER, J.; COTTER, S.M. (1992):  
Outpatient Blood Donor Program.  
Problems in Veterinary Medicine, 4, 572-581.
- BÜCHELER, J.; COTTER, S.M. (1994):  
Storage of feline and canine whole blood in CPDA-1 and determination of the posttransfusion viability.  
J Vet Intern Med, 8, 172.

- CALLAN, M.B. (2000a):  
Petechiae and Ecchymoses.  
In: Ettinger, S. J. und Feldman, E. C.: Textbook of Veterinary Internal Medicine,  
W.B. Saunders Company, 218-222.
- CALLAN, M.B. (2000b):  
Red Blood Cell Transfusions in the Dog and Cat.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology,  
Lippincott Williams & Wilkins, 833-837.
- CALLAN, M.B.; JONES, L.T.; GIGER, U. (1995):  
Hemolytic Transfusion Reactions in a Dog With an Alloantibody to a Common  
Antigen.  
J Vet Intern Med, 9, 277-279.
- CALLAN, M.B.; OAKLEY, D.A.; SHOFER, F.S.; GIGER, U. (1996):  
Canine Red Blood Cell Transfusion Practice.  
J Am Anim Hosp Assoc, 32, 303-311.
- CAPON, S.M.; SACHER, R.A. (1989):  
Hemolytic transfusion Reactions: A Review of Mechanisms, Sequelae, and  
Management.  
J Intensive Care Med, 4, 100-111.
- CASAL, M.L.; JEZYK, P.F.; GIGER, U. (1996):  
Transfer of colostral antibodies from queens to their kittens.  
AJVR, 57, 1653-1658.
- CHRISTIAN, J.A. (2000):  
Red Blood Cell Survival and Destruction.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology,  
Lippincott Williams & Wilkins, 117-124.
- COHEN, C.; FULLER, J.L. (1953):  
The Inheritance of Blood Types in the Dog.  
The Journal of Heredity, 44, 225-228.
- COLLING, D.T.; SAISON, R. (1980a):  
Canine blood groups. 1. Description of new erythrocyte specificities.  
Animal Blood Groups and Biochemical Genetics, 11, 1-12.
- COLLING, D.T.; SAISON, R. (1980b):  
Canine blood groups. 2. Description of a new allele in the Tr blood group system.  
Animal Blood Groups and Biochemical Genetics, 11, 13-20.

- COOMBS, R.R.A.; MOURANT, A.E.; RACE, R.R. (1945):  
A New Test for the Detection of Weak and "Incomplete" Rh Agglutinins.  
British Journal of Experimental Pathology, 26, 255-266.
- CORATO, A.; MAZZA, G.; HALE, A.S.; BARKER, R.N.; DAY, M.J. (1997):  
Biochemical characterization of canine blood group antigens:  
immunoprecipitation of DEA 1.2, 4 and 7 and identification of a dog erythrocyte  
membrane antigen homologous to human Rhesus.  
Veterinary Immunology and Immunopathology, 59, 213-223.
- COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. (1999):  
Red Cells and Bleeding Disorders.  
In: Cotran, R. S., Kumar, V. und Collins, T.: Pathologic Basis of Disease, W.B.  
Saunders Company, 601-643.
- COTTER, S.M. (2000):  
Non-regenerative Anemia.  
In: Ettinger, S. J. und Feldman, E. C.: Textbook of Veterinary Internal Medicine,  
W.C. Saunders Company, 1804-1816.
- COWGILL, L.D.; JAMES, K.M.; LEVY, J.K.; BROWNE, J.K.; MILLER, A.;  
LOBINGIER, R.T.; EGRIE, J.C. (1998):  
Use of recombinant human erythropoietin for management of anemia in dogs  
and cats with renal failure.  
JAVMA, 212, 521-528.
- DAHR, W. (1996):  
Blutgruppen von Erythrozyten.  
In: Mueller-Eckhardt, C.: Transfusionsmedizin, Springer, 137-162.
- DAVENPORT, R.D.; STRIETER, R.M.; KUNKEL, S.L. (1991):  
Red cell AB0 incompatibility and production of tumor necrosis factor-alpha.  
Br J Haematol, 78, 540-544.
- DAVENPORT, R.D.; STRIETER, R.M.; STANDIFORD, T.J.; KUNKEL, S.L. (1990):  
Interleukin-8 production in red blood cell incompatibility.  
Blood, 76, 2439-2442.
- DAY, M.J. (1996a):  
IgG subclasses of canine anti-erythrocyte, antinuclear and anti-thyroglobin  
autoantibodies.  
Research in Veterinary Science, 61, 129-135.

- DAY, M.J. (1996b):  
Serial monitoring of clinical, haematological and immunological parameters in canine autoimmune haemolytic anaemia.  
Journal of Small Animal Practice, 37, 523-534.
- DAY, M.J. (1999):  
Antigen specificity in canine autoimmune haemolytic anaemia.  
Veterinary Immunology and Immunopathology, 69, 215-224.
- DIETZ, O.; NAGEL, E. (1959):  
Gewinnung, Konservierung und Übertragung von Vollblut bei Pferd, Rind, Schwein und Hund.  
Monatshefte für Veterinärmedizin, 14, 649-659.
- DMS LABORATORIES (2000):  
RapidVet-H (Canine 1.1) Blood Group Determination Assay.  
Gebrauchsanweisung.
- DODDS, W.J. (1992):  
HEMOPET: A National Non-profit Animal Blood Bank Program.  
Canine Practice, 17, 12-16.
- DOHERR, W. (1972):  
Blutgruppenbestimmung und serologische Verträglichkeitstestung vor und nach verträglichen und unverträglichen Bluttransfusionen beim Hund.  
Vet. med. Diss., Leipzig.
- DRIVER, J. (1997):  
Statistische Untersuchungen zu Abgangsursachen bei Hunden anhand des Sektionsgutes des Institutes für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen aus den Jahren 1978-1992.  
Vet. med. Diss., Gießen.
- DUDOK DE WIT, C.; COENEGRACHT, N.A.C.J.; POLL, P.H.A.; LINDE V.D., J.D. (1967):  
The Practical Importance of Blood Groups in Dogs.  
Journal of Small Animal Practice, 8, 285-289.
- von DUNGERN, E.V.; HIRSCHFELD, L. (1910):  
Ueber Nachweis und Vererbung biochemischer Strukturen.  
Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, 4, 531-546.

- EIBERT, M.; LEWIS, D.C. (1997):  
Post Transfusion Viability of Stored Canine Red Blood Cells after Vacuum-Facilitated Collection.  
J Vet Intern Med, 11, 143.
- EJIMA, H.; KUROKAWA, K.; IKEMOTO, S. (1980):  
Experimental Studies on Blood Transfusion in Dogs  
II. Incompatibilities Based on Red Cell and Leukocyte Blood Groups.  
Bull.Nippon Vet.Anim.Sci.Univ., 29, 1-13.
- EPSTEIN, A.A.; OTTENBERG, R. (1909):  
A Method for Hemolysis and Agglutination Tests.  
Arch.Intern.Med., 3, 286-288.
- FELDMAN, B.F. (1999):  
In-House Canine and Feline Blood Typing.  
J Am Anim Hosp Assoc, 35, 455-456.
- FELDMAN, B.F. (2000):  
Blood Transfusion Guidelines.  
In: Bonagura, J. D.: Kirk's Current Veterinary Therapy, Small Animal Practice, W.B.Saunders Company, 400-403.
- FELDMAN, D.G.; BROOKS, M.B.; DODDS, W.J. (1995):  
Hemophilia B (factor IX deficiency) in a family of German Shepherd Dogs.  
JAVMA, 206, 1901-1905.
- FERNANDEZ, F.R.; GRINDEM, C.B. (2000):  
Reticulocyte Response.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology, Lippincott Williams & Wilkins, 110-116.
- FINEMAN, L.S. (1996):  
Diagnosing and treating canine idiopathic thrombocytopenic purpura.  
Veterinary Medicine, 91, 829-840.
- FREEMAN, M.J.; KIRBY, B.M.; PANCIERA, D.L.; HENIK, R.A.; ROSIN, E.; SULLIVAN, L.H. (1994):  
Hypotensive shock syndrome associated with acute *Babesia canis* infection in a dog.  
JAVMA, 204, 94-96.

- GEBHARDT, B. (1997):  
Thrombozyten- und Granulozytentransfusion - Bedeutung von HLA- und spezifischen Zellantigenen.  
mta, 12, 489-493.
- GIGER, U. (1998):  
Immunology of the Dog.  
In: Pastoret, P. P., Griebel, H. B. und Govaerts, A.: Handbook of Vertebrate Immunology, Academic Press, 261-288.
- GIGER, U. (2000a):  
Blood Typing and Crossmatching to Ensure Compatible Transfusions.  
In: Bonagura, J. D.: Kirk's Current Veterinary Therapy, Small Animal Practice, W.B.Saunders Company, 396-399.
- GIGER, U. (2000b):  
Regenerative Anemias Caused by Blood Loss or Hemolysis.  
In: Ettinger, S. J. und Feldman, E. C.: Textbook of Veterinary Internal Medicine, W.B. Saunders Company, 1784-1804.
- GIGER, U.; AKOL, K.G. (1990):  
Acute Hemolytic Transfusion Reaction in an Abyssinian Cat With Blood Type B.  
J Vet Intern Med, 4, 315-316.
- GIGER, U.; BÜCHELER, J. (1991):  
Transfusion of type-A and type-B blood to cats.  
JAVMA, 198, 411-418.
- GIGER, U.; GELENS, C.J.; CALLAN, M.B.; OAKLEY, D.A. (1995):  
An acute hemolytic transfusion reaction caused by dog erythrocyte antigen 1.1 incompatibility in a previously sensitized dog.  
JAVMA, 206, 1358-1362.
- GREENE, R.T. (1985):  
Blood Banking and Transfusion Therapy.  
Veterinary Technician, 6, 134-140.
- GRINDEM, C.B. (2000):  
Infectious and Immune-Mediated Thrombocytopenia.  
In: Bonagura, J. D.: Kirk's Current Veterinary Therapy, Small Animal Practice, W.B.Saunders Company, 438-442.

- GRINDEM, C.B.; BREITSCHWERDT, E.B.; PERKINS, P.C.; CULLINS, L.D.; THOMAS, T.J.; HEGARTY, B.C. (1999):  
Platelet-Associated Immunoglobulin (Antiplatelet Antibody) in Canine Rocky Mountain Spotted Fever and Ehrlichiosis.  
J Am Anim Hosp Assoc, 35, 56-61.
- GRIOT-WENK, M.E.; CALLAN, M.B.; CASAL, M.L.; CHISHOLM-CHAIT, A.; SPITALNIK, S.L.; PATTERSON, D.F.; GIGER, U. (1996):  
Blood type AB in the feline AB blood group system.  
AJVR, 57, 1438-1442.
- GRÜNBAUM, E.-G. (1969):  
Möglichkeiten und Grenzen der Bluttransfusion beim Hund.  
Vet. med. Habil., Leipzig.
- GRÜNBAUM, E.-G. (1993):  
Bluttransfusion und Infusionstherapie.  
In: Freudiger, U., Grünbaum, E.-G. und Schimke, E.: Klinik der Hundekrankheiten, Gustav Fischer Verlag, 175-189.
- GRÜNBAUM, E.-G.; GOTTER, J. (1973a):  
Die Bluttransfusion beim Hund  
1. Mitteilung: Der Einsatz von Dauerblutspendern zur Blutgewinnung.  
Arch.Exp.Vet.Med., 27, 825-838.
- GRÜNBAUM, E.-G.; GOTTER, J. (1973b):  
Die Bluttransfusion beim Hund  
2. Mitteilung: Die Konservierung von Hundeblood.  
Arch.Exp.Vet.Med., 27, 839-853.
- GRÜNBAUM, E.-G.; HAARER, M. (1993):  
Serologisch kontrollierte Bluttransfusion bei Hund und Katze.  
Der praktische Tierarzt, 8, 696-703.
- HAARER, M. (1992):  
Die klinische Bedeutung der Blutgruppen bei der Katze.  
Vet. med. Diss., Gießen.
- HAARER, M.; GRÜNBAUM, E.-G. (1993a):  
Blutgruppenserologische Untersuchungen bei Katzen in Deutschland.  
Kleintierpraxis, 38, 195-204.

- HAARER, M.; GRÜNBAUM, E.-G. (1993b):  
Zur Blutgruppendiagnostik bei der Katze.  
Tierärztl Prax, 21, 339-343.
- HAGMANN, M. (2000):  
A New Way to Keep Immune Cells in Check.  
Science, 288, 1945-1946.
- HALE, A.S. (1995):  
Canine Blood Groups and their Importance in Veterinary Transfusion Medicine.  
Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 25, 1323-1332.
- HALE, A.S.; GERLACH, J.A. (2000):  
Major Histocompatibility Complex Antigens.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology,  
Lippincott Williams & Wilkins, 789-794.
- HALL, D.E. (1970):  
A naturally occurring red-cell antigen-antibody system in Beagle dogs.  
Journal of Small Animal Practice, 11, 543-551.
- HAMILTON, A.S. (1949):  
Study of in vitro Methods for the Demonstration of Iso-Agglutination with the  
Bloods of Normal and of Ill Dogs.  
American Journal of Physiology, 154, 525-531.
- HARDAWAY, R.M.; MCKAY, D.G.; WAHLE, G.H.; TARCOCK, D.E.; EDELSTEIN,  
R. (1956):  
Pathologic Study of Intravascular Coagulation Following Incompatible Blood  
Transfusions in Dogs.  
American Journal of Surgery, 91, 24-31.
- HARRELL, K.; KRISTENSEN, A.; PARROW, J. (1997a):  
Canine Transfusion Reactions. Part I. Causes and Consequences.  
Comp.Cont.Ed.Pract.Vet, 19, 181-190.
- HARRELL, K.; KRISTENSEN, A.; PARROW, J. (1997b):  
Canine Transfusion Reactions. Part II. Prevention and Treatment.  
Comp.Cont.Ed.Pract.Vet, 19, 193-200.

- HARRINGER, W.; HODAKOWSKI, G.T.; SVIZZERO, T.; JACOBS, E.E., JR.; VLAHAKES, G.J. (1992):  
Acute effects of massive transfusion of a bovine hemoglobin blood substitute in a canine model of hemorrhagic shock.  
Eur J Cardio-thorac Surg, 6, 649-654.
- HÄNIES, R.; MISCHKE, R.; WIRTH, W. (1996):  
Plasmatransfusion beim Hund: Wirkung bei Hypoproteinämie infolge hämorrhagischer Gastroenteritis.  
Tierärztl.Umschau, 51, 350-356.
- HENSON, M.S.; KRISTENSEN, A.T.; ARMSTRONG, P.J.; PARROW, J. (1994):  
Feline blood component therapy: Retrospective study of 246 transfusions.  
J Vet Intern Med, 8, 169.
- HIRSCHBERGER, J.H. (1997):  
Der anämische Patient: Klinische Befunde und diagnostisches Vorgehen.  
Prakt.Tierarzt, coll. vet. XXVII, 4-8.
- HITZLER, W. (1997):  
Erythrozyten-Serologie und -Typisierung.  
Clin.Lab., 43, 551-554.
- HOEFER, H.L. (1992):  
Transfusions in Exotic Species.  
Problems in Veterinary Medicine, 4, 625-635.
- HOHENHAUS, A.E. (1992a):  
Canine Blood Transfusions.  
Problems in Veterinary Medicine, 4, 612-624.
- HOHENHAUS, A.E. (1992b):  
Management of the Inpatient Canine Blood Donor.  
Problems in Veterinary Medicine, 4, 565-571.
- HOHENHAUS, A.E. (2000a):  
Blood Banking and Transfusion Medicine.  
In: Ettinger, S. J. und Feldman, E. C.: Textbook of veterinary internal medicine,  
W.C. Saunders Company, 348-356.
- HOHENHAUS, A.E. (2000b):  
Transfusion Reactions.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology,  
Lippincott Williams & Wilkins, 864-868.

- HONGO, K. (1999):  
Immunological Study on ABO Partial Antigens of Animal Red Cells using Monoclonal Antibodies-Rectification of the ABO partial antigen structure theory  
Bull.Nippon Vet.Anim.Sci.Univ., 48, 136-138.
- HOWARD, A.; CALLAN, B.; SWEENEY, M.; GIGER, U. (1992):  
Transfusion practices and costs in dogs.  
JAVMA, 201, 1697-1701.
- HÖCKER, P. (1991):  
Supportive Therapie mit Blutkomponenten.  
WMW, 9, 209-212.
- HUGHES, G.S.; FRANCOM, S.F.; ANTAL, E.J.; ADAMS, W.J.; LOCKER, P.K.; YANCEY, E.P.; JACOBS, E.E., JR. (1996):  
Effects of a Novel Hemoglobin-Based Oxygen Carrier on Percent Oxygen Saturation as Determined With Arterial Blood Gas Analysis and Pulse Oximetry.  
Annals of Emergency Medicine, 27, 1-6.
- JACOB, I. (2000):  
Der Ceruletid-Test zur Diagnostik von Lebererkrankungen im Blutserum von Katzen.  
Vet. med. Diss., Gießen.
- JAIN, N.C. (1993):  
The Plasma Proteins, Dysproteinemias, and Immune Deficiency Disorders.  
In: Jain, N. C.: Essentials of Veterinary Hematology, Lea & Febiger, 349-380.
- JAKSCH, W.; GLAWISCHNIG, E. (1990):  
Klinische Propädeutik der inneren Krankheiten und Hautkrankheiten der Haus- und Heimtiere.  
Paul Parey.
- KAATSCH, H.-J.; SCHEWE, G. (1996):  
Rechtliche Grundlagen.  
In: Mueller-Eckhardt, C.: Transfusionsmedizin, Springer, 201-208.
- KAMEL, S.H.; EZZAT, E.A. (1968a):  
Evolution and Heredity of Blood Groups in Dogs.  
Zbl.Vet.Med., 16 (Reihe A), 717-719.
- KAMEL, S.H.; EZZAT, E.A. (1968b):  
Studies on Blood Transfusion in Dogs.  
Zbl.Vet.Med., 16 (Reihe A), 720-722.

- KAMEL, S.H.; EZZAT, E.A. (1968c):  
Study of the Frequency of Blood Group Antigen and their Combinations in Dogs.  
Zbl.Vet.Med., 16 (Reihe A), 712-716.
- KANSAS STATE UNIVERSITY (2000):  
A Kit for Blood Typing Dogs for DEA 1.1.  
Gebrauchsanweisung.
- KAUFMAN, P.M. (1992):  
Supplies for Blood Transfusions in Dogs and Cats.  
Problems in Veterinary Medicine, 4, 582-593.
- KERL, M.E.; HOHENHAUS, A.E. (1993):  
Packed red blood cell transfusions in dogs: 131 cases (1989).  
JAVMA, 202, 1495-1499.
- KIEFEL, V.; KROLL, H. (1997):  
Platelet Antibodies and Antigens.  
Clin.Lab., 43, 555-562.
- KILLEN, D.A.; GROGAN, E.L.; GOWER, R.E.; COLLINS, H.A. (1971):  
Response of canine plasma-ionized calcium and magnesium to the rapid infusion  
of acid-citrate-dextrose (ACD) solution.  
Surgery, 70, 736-743.
- KILLINGSWORTH, C.R. (1984):  
Use of blood and blood components for feline and canine patients.  
JAVMA, 185, 1452-1454.
- KLAGE, A.R.; GIGER, U.; SHOFER, F.S. (1993):  
Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 42 cases (1986-1990).  
JAVMA, 202, 783-788.
- KLEIN, A.; ADAMIK, A.; MISCHKE, R. (1999):  
Lagerungsbedingte Veränderungen im Thrombozytenkonzentrat des Hundes.  
Teil I: Zahl und In-vitro-Funktionsfähigkeit der Thrombozyten.  
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 112, 243-253.
- KLEIN, M.K.; DOW, S.W.; ROSYCHUK, R.A.W. (1989):  
Pulmonary thromboembolism associated with immune-mediated hemolytic  
anemia in dogs: Ten cases (1982-1987).  
JAVMA, 195, 246-250.

- KOCH, J.; NIEßEN, C. (1973):  
Blutgruppenbestimmungen beim Hund.  
Dtsch.tierärztl.Wschr., 80, 355-358.
- KOHN, B.; ENGELBRECHT, R.; LEIBOLD, W.; GIGER, U. (2000):  
Klinische Befunde, Diagnostik und Behandlungserfolge bei der primären und sekundären immunbedingten Thrombozytopenie beim Hund.  
Kleintierpraxis, 45, 893-907.
- KOHN, B.; REITEMEYER, S.; GIGER, U. (1998):  
Bestimmung der Blutgruppe DEA 1.1 und deren Bedeutung beim Hund.  
Kleintierpraxis, 43, 77-86.
- KOHN, B.; REITEMEYER, S.; GIGER, U.; BRUNNBERG, L. (2000):  
Etablierung einer Blutbank für Hunde an einer Universitäts-Kleintierklinik.  
Kleintierpraxis, 45, 331-349.
- KORDICK, D.L.; BREITSCHWERDT, E.B. (1997):  
Relapsing bacteremia after blood transmission of *Bartonella henselae* to cats.  
AJVR, 58, 492-497.
- KÖCK, S.R.; HIRSCHBERGER, J.H. (1999):  
Eine retrospektive Anämie-Kasuistik beim Hund.  
Tierärztl.Umschau, 54, 355-363.
- KRAFT, W.; DÜRR, U.M.; KLEE, W.; BOSTEDT, H.; HEINRITZI, K. (1995a):  
Harnapparat.  
In: Kraft, W. und Dürr, U.: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin,  
Schattauer, 153-175.
- KRAFT, W.; DÜRR, U.M.; KLEE, W.; BOSTEDT, H.; HEINRITZI, K. (1995b):  
Hämatologie.  
In: Kraft, W. und Dürr, U.: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin,  
Schattauer, 38-67.
- KRAFT, W.; DÜRR, U.M.; KLEE, W.; BOSTEDT, H.; HEINRITZI, K. (1995c):  
Leber.  
In: Kraft, W. und Dürr, U.: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin,  
Schattauer, 104-120.
- KRISTENSEN, A.T.; FELDMAN, B.F. (1995):  
General Principles of Small Animal Blood Component Administration.  
Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 26, 1277-1290.

- KUBANKEK, B.; WAGNER, F. (1996):  
Therapie mit Erythrozyten.  
In: Mueller-Eckhardt, C.: Transfusionsmedizin, Springer, 321-338.
- KUFFER-FRANK, M.; JUNG, H.; KRAFT, W. (1999):  
Einsatz des rekombinanten methionylierten Human-Granulozyten-Kolonie-  
stimulierenden Faktors (r-metHuG-CSF) bei Katzen mit schwerer Neutropenie.  
Tierärztl Prax, 27 (K), 136-143.
- KUHL, S.; MISCHKE, R.; LUND, C.; GÜNZEL-APEL, A.-R. (2000):  
Referenzwerte klinisch-chemischer Blutparameter bei Hundewelpen in den  
ersten acht Lebenswochen.  
Dtsch.tierärztl.Wschr., 107, 438-443.
- LANDSTEINER, K. (1900):  
Ueber Agglutinationserscheinungen normalen menschlichen Blutes.  
Wiener Klinische Wochenschrift, 14, 1132-1134.
- LANDSTEINER, K. (1931):  
Individual Differences in Human Blood.  
Science, 73, 403-409.
- LANDSTEINER, K.; WIENER, A.S. (1940):  
An Agglutinable Factor in Human Blood Recognized by Immune Sera for Rhesus  
Blood.  
Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 43, 223.
- LANGERMANS, J.A.M.; VAN VUREN-VAN DER HULST, M.E.B.; BLEEKER, W.K.  
(1996):  
Safety evaluation of a polymerized hemoglobin solution in a murine infection  
model.  
J Lab Clin Med, 127, 428-434.
- LEIDINGER, E.; LEIDINGER, J. (1997):  
Ein Fall von Feliner Neonataler Isoerythrolyse bei einem Britisch Kurzhaar-  
Welpen.  
Wien.tierärztl.Mschr., 84, 53-55.
- LESTER, S.J.; HUME, B.; PHIPPS, B. (1995):  
*Haemobartonella canis* infection following splenectomy and transfusion.  
Can Vet J, 36, 444-445.

- LEVEILLE-WEBSTER, C.R. (2000):  
Laboratory Diagnosis of Hepatobiliary Disease.  
In: Ettinger, S. J. und Feldman, E. C.: Textbook of Veterinary Internal Medicine,  
W.B. Saunders Company, 1277-1293.
- LUBAS, G. (1996):  
Bluttransfusion bei Hunden und Katzen.  
Waltham Focus, 6, 2-9.
- LUND, C.; KUHL, S.; MISCHKE, R.; GÜNZEL-APEL, A.-R. (2000):  
Referenzwerte des roten Blutbildes bei Hundewelpen der Rassen Beagle,  
Deutscher Schäferhund und Golden Retriever.  
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 113, 447-453.
- LUND, J.E. (2000):  
Toxicologic Effects on Blood and Bone Marrow.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology,  
Lippincott Williams & Wilkins, 44-50.
- MAHONY, O. (2000):  
Bleeding Disorders: Epistaxis and Hemoptysis.  
In: Ettinger, S. J. und Feldman, E. C.: Textbook of Veterinary Internal Medicine,  
W.B. Saunders Company, 213-218.
- MARGAN, U. (1996):  
Die Zukunft der Methoden zur bovinen Abstammungskontrolle.  
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 109, 1-5.
- MEINKOTH, J.H.; CLINKENBEARD, K.D. (2000):  
Normal Hematology of the Dog.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology,  
Lippincott Williams & Wilkins, 1057-1063.
- MELNICK, D.; BURACK, E.; COWGILL, G.R. (1935):  
Development of Incompatibilities in Dogs by Repeated Infusions of Red Blood  
Cells.  
Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 33, 616-621.
- MELNICK, D.; COWGILL, G.R. (1937):  
Differentiation of Blood Groups in Dogs Based on Antigenic Complexes Present  
in the Erythrocytes.  
Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 36, 697-700.

- MEYERS, K.M.; WARDROP, K.J.; DIP, M.S. (1989):  
Primary Hemostatic Disorders of Animals: Description, Comparative Aspects and Treatment of Select Diseases.  
In: Smith, J. und Westphal, R. G.: American Association of Blood Banks  
Technical Workshop on Veterinary Transfusion Medicine, American Association of Blood Banks, 1-17.
- MIDWEST ANIMAL BLOOD SERVICES (2000):  
Typing Procedure for Dog Erythrocyte Antigens (DEA).  
Gebrauchsanweisung.
- MILLIS, D.L.; HAWKINS, E.; JAGER, M.; BOYLE, C.R. (1995):  
Comparison of coagulation test results for blood samples obtained by means of direct venipuncture and through a jugular vein catheter in clinically normal dogs.  
JAVMA, 207, 1311-1314.
- MILLS, J.N. (1997):  
Compensated immune mediated haemolytic anaemia in a dog.  
Australian Veterinary Journal, 75, 24-26.
- MISCHKE, R.; HÄNIES, R.; DENIZ, A.; HART, S. (1996):  
Hämophilie B bei einem Mischlings-Rüden: Behandlung einer Blutungskrise mit frisch-gefrorenem Plasma.  
Dtsch.tierärztl.Wschr., 103, 3-6.
- MISCHKE, R.; LUND, C.; KUHL, S.; GÜNZEL-APEL, A.-R. (2000):  
Referenzwerte von Meßgrößen des Blutbildes bei Welpen der Rassen Beagle, Deutscher Schäferhund und Retriever zu verschiedenen Zeitpunkten während der ersten acht Lebenswochen.  
Proceedings der 9. Jahrestagung der Fachgruppe Innere Medizin und klinische Laboratoriumsdiagnostik, München, 06.-08.04 2000.
- MITCHELL, S.G.; HAWKER, R.J.; TURNER, V.S.; HESSLEWOOD, S.R.;  
HARDING, L.K. (1994):  
Effect of agitation on the quality of platelet concentrates.  
Vox Sang., 67, 160-165.
- MOLLISON, P.L.; ENGELFRIET, C.P.; CONTRERAS, M. (1987):  
Red Cell Antigens and Antibodies and Their Interactions.  
In: Mollison, P. L., Engelfriet, C. P. und Contreras, M.: Blood Transfusion in Clinical Medicine, Blackwell Scientific Publications, 195-267.
- MOONEY, S. (1992):  
Preparation of Blood Components.  
Problems in Veterinary Medicine, 4, 594-599.

- MOORE, D.J. (1976):  
The blood grouping systems of dogs.  
J.S.Afr.Vet.Assoc., 47, 282-284.
- MORITZ, A. (1995):  
Knochenmarkuntersuchung.  
In: Kraft, W. und Dürr, U.: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin,  
Schattauer, 68-83.
- MORITZ, A. (1999):  
Die diagnostische Aussage von Differentialblutbild und Knochenmarkzytologie.  
Tierärztl.Umschau, 54, 63-68.
- MORITZ, A.; WIDMANN, T.; HALE, A.S. (1998):  
Comparison of Current Typing Techniques for Evaluation of Dog Erythrocyte  
Antigen 1.1.  
J Vet Intern Med, 12, 226.
- MORITZ, A.; WIDMANN, T.; HALE, A.S. (1999):  
Vergleich der Blutgruppentypisierung mittels polyklonaler und monoklonaler  
Antikörper beim Hund.  
Proceedings der 45. Jahrestagung der FK-DVG, Gießen, 07.-10.10.1999.
- MUELLER-ECKHARDT, C.; GAEDICKE, G.; BARTMANN, P. (1996):  
Perinatale und pädiatrische Transfusionsmedizin.  
In: Mueller-Eckhardt, C.: Transfusionsmedizin, Springer, 455-486.
- NEUHOF, H. (1996):  
Kreislaufphysiologische Grundlagen.  
In: Mueller-Eckhardt, C.: Transfusionsmedizin, Springer, 41-46.
- NEUMANN, U.; KUNERT, C.; SPERSCHNEIDER, H. (1999):  
Der Einfluß einer rh-EPO-Therapie auf die In-vitro-Proliferation granulozytär-  
monozytär determinierter Stammzellen aus Knochenmark und peripherem Blut.  
Medizinische Klinik, 94, 133-136.
- NICHOLS, W.G.; BOECKH, M. (2000):  
Pathogen-Inactivated Blood Products and Granulocyte Transfusions.  
Proceedings of the 42<sup>nd</sup> Annual Meeting of the American Society of Hematology,  
San Francisco, 01.-05.12.2000.
- NOLTE, I. (1986a):  
Indikation, Technik und Risiken der Blutübertragung bei Hund und Katze.  
Prakt.Tierarzt, 2, 133-136.

NOLTE, I. (1986b):

Untersuchungen zur Lagerfähigkeit von Blutkonserven des Hundes unter besonderer Berücksichtigung der Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren.  
Vet. med. Habil., Gießen.

NOLTE, I. (1988):

Konservierung von Vollblut des Hundes für Transfusionszwecke in CPDA-1 Stabilisator beschicktem PVC-Beutel - Einfluß der Lagerung auf den Erhalt von Erythrozyten und Gesamteiweiß.  
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 101, 37-43.

NOVINGER, M.S.; SULLIVAN, P.S.; MCDONALD, T.P. (1996):

Determination of the lifespan of erythrocytes from Greyhounds, using an in vitro biotinylation technique.  
AJVR, 57, 739-742.

OEHLECKER, F. (1928):

Ist die Bluttransfusion völlig ungefährlich, wenn vorher eine Blutgruppenbestimmung gemacht worden ist?  
Medizinische Klinik, 24, 1421-1424.

OLDENBORG, P.-A.; ZHELEZNYAK, A.; FANG, Y.-F.; LAGENAUR, C.F.; GRESHAM, H.D.; LINDBERG, F.P. (2000):

Role of CD47 as a Marker of Self on Red Blood Cells.  
Science, 288, 2051-2054.

OTTE, E. (1956):

Zur Frage der Bluttransfusion bei den Haustieren.  
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr., 69, 369-377.

PALTRINIERI, S.; COMAZZI, S.; AGNES, F. (2000):

Haematological Parameters and Altered Erythrocyte Metabolism in Anaemic Dogs.  
J.Comp.Path., 122, 25-34.

PALTRINIERI, S.; SARTORELLI, P.; DE VECCHI, B.; AGNES, F. (1998):

Metabolic Findings in the Erythrocytes of Cardiopathic and Anaemic Dogs.  
J.Comp.Path., 118, 123-133.

PEDERSEN, N.C. (1999):

A review of immunologic diseases of the dog.  
Veterinary Immunology and Immunopathology, 69, 251-342.

- PICHLER, M.E.; TURNWALD, G.H. (1985):  
Blood Transfusion in the Dog and Cat. Part I. Physiology, Collection, Storage,  
and Indications for Whole Blood Therapy.  
The Compendium on Continuing Education, 7, 64-72.
- PRÜFER, A. (1995):  
Die autoimmunhämolytische Anämie des Hundes: Retrospektive Studie an 41  
Fällen.  
Kleintierpraxis, 40, 649-662.
- RAMSEY, G. (1994):  
The Pathophysiology and Organ-Specific Consequences of Severe Transfusion  
Reactions.  
New Horizons, 2, 575-581.
- RANDOLPH, J.F.; STOKOL, T.; SCARLETT, J.M.; MACLEOD, J.N. (1999):  
Comparison of biological activity and safety of recombinant canine erythropoietin  
with that of recombinant human erythropoietin in clinically normal dogs.  
AJVR, 60, 636-642.
- READ, M.S.; REDDICK, R.L.; BODE, A.P.; BELLINGER, D.A.; NICHOLS, T.C.;  
TAYLOR, K.; SMITH, S.V.; MCMAHON, D.K.; GRIGGS, T.R.; BRINKHOUS,  
K.M. (1995):  
Preservation of hemostatic and structural properties of rehydrated lyophilized  
platelets: Potential for long-term storage of dried platelets for transfusion.  
Proc.Natl.Acad.Sci., 92, 397-401.
- REITEMEYER, S.; KOHN, B.; BRUNNBERG, L.; GIGER, U. (1999):  
Auswertung von Blut- und Plasmatransfusionen beim Hund.  
Proceedings der 45. Jahrestagung der FK-DVG, Gießen, 07.-10.10.1999.
- REITEMEYER, S.; KOHN, B.; BRUNNBERG, L.; GIGER, U. (2000):  
Transfusionen von Vollblut und Erythrozytenkonzentrat beim Hund.  
Kleintierpraxis, 45, 669-684.
- RENTKO, V. (2000):  
Practical Use of a Blood Substitute.  
In: Bonagura, J. D.: Kirk`s Current Veterinary Therapy, Small Animal Practice,  
W.B. Saunders Company, 424-427.
- RENTKO, V.T. (1992):  
Red Blood Cell Substitutes.  
Problems in Veterinary Medicine, 4, 647-651.

- ROELCKE, D. (1996):  
Nichtinfektiöse unerwünschte Wirkungen.  
In: Mueller-Eckhardt, C.: Transfusionsmedizin, Springer, 525-548.
- ROGERS, K.S. (2000):  
Anemia.  
In: Ettinger, S. J. und Feldman, E. C.: Textbook of Veterinary Internal Medicine,  
W.B. Saunders Company, 198-203.
- RUBINSTEIN, P.; MORGADO, F.; BLUMENSTOCK, D.A.; FERREBEE, J.W.  
(1968):  
Isohemagglutinins and Histocompatibility in the Dog.  
Transplantation, 6, 961-969.
- SALAMA, A.; MUELLER-ECKHARDT, C. (1996):  
Nachweis von erythrozytären Antigenen und Antikörpern.  
In: Mueller-Eckhardt, C.: Transfusionsmedizin, Springer, 585-596.
- SCHAEFER, R. (1999):  
Differentialdiagnostik der Anämie.  
MMW, 141, 316-318.
- SCHARINGER, D. (1997):  
Thrombozytäre Antikörper.  
mta, 12, 407-411.
- SCHNEIDER, A. (2000):  
Principles of Blood Collection and Processing.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology,  
Lippincott Williams & Wilkins, 827-832.
- SCHULTZE, A.E. (2000):  
Interpretation of Canine Leukocyte Responses.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology,  
Lippincott Williams & Wilkins, 366-381.
- SCHWENDENWEIN, I. (1988):  
Die autoimmune hämolytische Anämie (AIHA) des Hundes - Ein Überblick über  
Klinik, Diagnostik, Pathogenese und Therapie an Hand von 8 Fällen.  
Wien.tierarztl.Mschr., 75, 121-127.

- SCOTT-MONCRIEFF, J.C.R.; REAGAN, W.J.; GLICKMAN, L.T.; DENICOLA, D.B.; HARRINGTON, D. (1995):  
Treatment of nonregenerative anemia with human  $\gamma$ -globulin in dogs.  
JAVMA, 206, 1895-1900.
- SCOTT, M.A. (2000a):  
Immune-Mediated Thrombocytopenia.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology, Lippincott Williams & Wilkins, 478-486.
- SCOTT, M.A. (2000b):  
The Hematologic Effects of Immunologic Diseases.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology, Lippincott Williams & Wilkins, 51-56.
- SMITH, C.A. (1991):  
Transfusion medicine: The challenge of practical use.  
JAVMA, 198, 747-752.
- SMITH, J.E.; ANDREWS, G.A.; LAYTON, C.E. (1989):  
Problems in Animal Transfusion: An Area of Growing Interest.  
In: Smith, J. und Westphal, R. G.: American Association of Blood Banks Technical Workshop on Veterinary Transfusion Medicine, American Association of Blood Banks, 1-12.
- STANGEL, W. (1996):  
Gewinnung, Konservierung, Lagerung von Transfusionsblut.  
In: Mueller-Eckhardt, C.: Transfusionsmedizin, Springer, 211-228.
- STOKOL, T.; BLUE, J.T. (1999):  
Pure red cell aplasia in cats: 9 cases (1989-1997).  
JAVMA, 214, 75-79.
- STOKOL, T.; PARRY, B.W. (1998):  
Efficacy of Fresh-Frozen Plasma and Cryoprecipitate in Dogs with von Willebrand's Disease or Hemophilia A.  
J Vet Intern Med, 12, 84-92.
- STONE, E.; BADNER, D.; COTTER, S.M. (1992):  
Trends in transfusion medicine in dogs at a veterinary school clinic: 315 cases (1986-1989).  
JAVMA, 200, 1000-1004.

- STONE, M.S.; JOHNSTONE, I.B.; BROOKS, M.; BOLLINGER, T.K.; COTTER, S.M. (1994):  
Lupus-Type "Anticoagulant" in a Dog With Hemolysis and Thrombosis.  
J Vet Intern Med, 8, 57-61.
- STORMONT, C.J. (1982):  
Blood groups in animals.  
JAVMA, 181, 1120-1124.
- SUTER, P.F. (1994):  
Anämien, hämorrhagische Diathesen.  
In: Niemand, H. G. und Suter, P. F.: Praktikum der Hundeklinik, Blackwell  
Wissenschafts-Verlag, 429-451.
- SUZUKI, Y.; STORMONT, C.; MORRIS, B.G.; SHIFRINE, M.; DOBRUCKI, R.  
(1975):  
New Antibodies in Dog Blood Groups.  
Transplant-Proc., 7, 365-367.
- SWISHER, S.N. (1954):  
Studies of the Mechanisms of Erythrocyte Destruction Initiated by Antibodies.  
Trans.Ass.Am.Phys., 67, 124-132.
- SWISHER, S.N.; IZZO, M.J.; YOUNG, L.E. (1953a):  
A Method of Quantitative Differential Agglutination of Dog Erythrocytes.  
J Lab Clin Med, 41, 936-945.
- SWISHER, S.N.; IZZO, M.J.; YOUNG, L.E. (1953b):  
Post-Transfusion Survival of Fresh and Stored Dog Erythrocytes Measured by  
Differential Agglutination.  
J Lab Clin Med, 41, 946-952.
- SWISHER, S.N.; YOUNG, L.E. (1961):  
The Blood Grouping Systems of Dogs.  
Physiol.Review, 41, 495-520.
- SWISHER, S.N.; YOUNG, L.E.; TRABOLD, N. (1962):  
*In vitro* and *in vivo* Studies of the Behavior of Canine Erythrocyte-Isoantibody  
Systems.  
Annals of the New York Academy of Science, 97, 15-25.
- SWITZER, J.W.; JAIN, N.C. (1981):  
Autoimmune Hemolytic Anemia in Dogs and Cats.  
Small Animal Practice, 11, 405-420.

- SYMONS, M.; BELL, K. (1991):  
Expansion of the canine A blood group system.  
*Animal Genetics*, 22, 227-235.
- SYMONS, M.; BELL, K. (1992a):  
Canine blood groups: description of 20 specificities.  
*Animal Genetics*, 23, 509-515.
- SYMONS, M.; BELL, K. (1992b):  
Canine plasma alkaline phosphatase polymorphism and its relationship with the canine Tr blood group system.  
*Animal Genetics*, 23, 315-324.
- TABOADA, J.; HARVEY, J.W.; LEVY, M.G.; BREITSCHWERDT, E.B. (1992):  
Seroprevalence of babesiosis in Greyhounds in Florida.  
*JAVMA*, 200, 47-50.
- TANGNER, C.H. (1982):  
Transfusion Therapy for the Dog and Cat.  
*Comp.Cont.Ed.Pract.Vet*, 4, 521-527.
- THOMAS, J.S. (2000):  
Overview of Plasma Proteins.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: *Schalm's Veterinary Hematology*, Lippincott Williams & Wilkins, 891-898.
- TIZARD, I.R. (2000a):  
Drugs and Other Agents That Affect the Immune System.  
In: Tizard, I. R.: *Veterinary Immunology*, W.B. Saunders Company, 426-433.
- TIZARD, I.R. (2000b):  
Innate Immunity: Macrophages.  
In: Tizard, I. R.: *Veterinary Immunology*, W.B. Saunders Company, 26-35.
- TIZARD, I.R. (2000c):  
Organ-Specific Autoimmune Diseases.  
In: Tizard, I. R.: *Veterinary Immunology*, W.B. Saunders Company, 369-385.
- TIZARD, I.R. (2000d):  
Red Cell Antigens and Type II Hypersensitivity.  
In: Tizard, I. R.: *Veterinary Immunology*, W.B. Saunders Company, 324-331.

- TIZARD, I.R. (2000e):  
Regulation of the Acquired Immune Response.  
In: Tizard, I. R.: Veterinary Immunology, W.B. Saunders Company, 180-190.
- TSAI, C.-H.; FANG, T.-Y.; HO, N.T.; HO, C. (2000):  
Novel Recombinant Hemoglobin, rHb ( $\beta$ N108Q), with Low Oxygen Affinity, High Cooperativity, and Stability against Autoxidation.  
Biochemistry, 39, 13719-13729.
- TURNWALD, G.H.; PICHLER, M.E. (1985):  
Blood Transfusion in Dogs and Cats. Part II. Administration, Adverse Effects, and Component Therapy.  
The Compendium on Continuing Education, 7, 115-126.
- TVEDTEN, H. (1999):  
Diagnosis of anemia in dogs and cats.  
Proceedings der 45. Jahrestagung der FK-DVG, Gießen, 07.-10.10.1999.
- TVEDTEN, H.; WEISS, D. (1999):  
Erythrocyte Disorders.  
In: Willard, M. D., Tvedten, H. und Turnwald, G. H.: Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods, W.B. Saunders Company, 31-51.
- TVEDTEN, H.; WEISS, D.J. (2000):  
Classification and Laboratory Evaluation of Anemia.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology, Lippincott Williams & Wilkins, 143-150.
- VANAMAN, L. (1984):  
Emergency procedures in the small animal hospital-Part II.  
Comp.Cont.Ed.Pract.Vet, 5, 429-436.
- VLAHAKES, G.J.; LEE, R.; JACOBS, E.E.; LARAIA, P.J.; AUSTEN, W.G. (1990):  
Hemodynamic effects and oxygen transport properties of a new blood substitute in a model of massive blood replacement.  
J Thorac Cardiovasc Surg, 100, 379-388.
- WARDROP, K.J. (2000):  
Clinical Blood Typing and Crossmatching.  
In: Feldman, B. F., Zinkl, J. G. und Jain, N. C.: Schalm's Veterinary Hematology, Lippincott Williams & Wilkins, 795-798.

- WARDROP, K.J.; LEWIS, D.; MARKS, S.; BUSS, M. (1997):  
Posttransfusion Purpura in a Dog with Hemophilia A.  
J Vet Intern Med, 11, 261-263.
- WARDROP, K.J.; OWEN, T.J.; MEYERS, K.M. (1994):  
Evaluation Of An Additive Solution For Preservation Of Canine Red Blood Cells.  
J Vet Intern Med, 8, 253-257.
- WARDROP, K.J.; TUCKER, R.L.; ANDERSON, E.P. (1998):  
Use of an in vitro biotinylation technique for determination of posttransfusion  
viability of stored canine packed red blood cells.  
AJVR, 59, 397-400.
- WARDROP, K.J.; TUCKER, R.L.; MUGNAI, K. (1997):  
Evaluation of Canine Red Blood Cells Stored in a Saline, Adenine, and Glucose  
Solution for 35 Days.  
J Vet Intern Med, 11, 5-8.
- WASCHKE, K.F.; ALBRECHT, D.M.; VAN ACKERN, K.; KUSCHINSKY, W.  
(1994):  
Autoradiographic determination of regional cerebral blood flow and metabolism in  
conscious rats after fluid resuscitation from haemorrhage with a haemoglobin-  
based oxygen carrier.  
British Journal of Anaesthesia, 73, 522-528.
- WEISBACH, V.; ECKSTEIN, R. (1996):  
Erythrozytäre Alloantikörper - Nachweis und klinische Bedeutung.  
mta, 11, 612-618.
- WEISS, E. (1999):  
Harnorgane.  
In: Dahme, E. und Weiss, E.: Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie  
der Haustiere, Enke, Stuttgart, 243-277.
- WESKAMP, M. (1994):  
Referenzbereiche in der Labordiagnostik des Hundes: Glucose, Harnstoff,  
Cholesterin, Triglyceride und Hämatologie.  
Vet. med. Diss., München.
- WITTEK, T. (1999):  
Isoerythrolysis neonatorum beim Schaflamm - Fallbericht.  
Prakt.Tierarzt, 80, 911-914.

- WRIGHT, A. (1936):  
Isohemolysins and Isoagglutinins Occurring in Dogs.  
Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 34, 440-443.
- YOUNG, L.E.; CHRISTIAN, R.M.; ERVIN, D.M.; DAVIS, R.W.; O'BRIAN, W.A.;  
SWISHER, S.N.; YUILE, C.L. (1951):  
Hemolytic Disease in Newborn Dogs.  
Blood, 6, 291-313.
- YOUNG, L.E.; ERVIN, D.M.; CHRISTIAN, R.M.; DAVIS, R.W. (1949):  
Hemolytic Disease in Newborn Dogs Following Isoimmunization of the Dam by  
Transfusions.  
Science, 109, 630-631.
- YOUNG, L.E.; O'BRIAN, W.A.; MILLER, G.; SWISHER, S.N.; ERVIN, D.M.;  
CHRISTIAN, R.M.; YUILE, C.L. (1951):  
Erythrocyte-Isoantibody Reactions in Dogs.  
The New York Academy of Sciences, 13, 209-213.
- YOUNG, L.E.; O'BRIAN, W.A.; SWISHER, S.N.; MILLER, G.; YUILE, C.L. (1952):  
Blood Groups in Dogs - Their Significance to the Veterinarian.  
Am J Vet Res, 13, 207-213.
- YUILE, C.L.; VAN ZANDT, T.F.; ERVIN, D.M.; YOUNG, L.E. (1949):  
Hemolytic Reactions Produced in Dogs by Transfusion of Incompatible Dog  
Blood and Plasma.  
Blood, 4, 1232-1239.

## 9 ANHANG

Tabelle 24: Titer<sup>\*)</sup> der antierythrozytären Antikörper bei Hund Nummer 5

Tag	Hämo-lyse 4° C	Hämo-lyse 20° C	Hämo-lyse 38° C	Direkte Aggluti- nation 4° C	Direkte Aggluti- nation 20° C	Direkte Aggluti- nation 38° C	Indirekte Aggluti- nation 4° C	Indirekte Aggluti- nation 20° C	Indirekte Aggluti- nation 38° C
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	1	1	8	4	4	16	16	16
42	0	1	1	4	4	4	16	16	16
43	1	1	1	1	2	2	32	32	32
45	1	2	2	4	4	4	32	32	32
47	2	2	2	8	4	4	256	256	256
49	2	2	2	4	4	8	512	512	512
51	2	2	2	4	4	2	1024	512	1024
52	1	2	2	4	4	8	1024	1024	1024
54	1	1	1	4	4	8	1024	1024	1024
56	1	1	2	8	4	16	1024	1024	1024
58	1	1	2	8	8	8	1024	1024	1024
60	1	1	1	8	4	8	512	1024	1024

\*) Die Angabe der Verdünnungsstufen entspricht dem Titer.

Tabelle 25: Titer<sup>\*)</sup> der antierythrozytären Antikörper bei Hund Nummer 9

Tag	Hämo-lyse 4° C	Hämo-lyse 20° C	Hämo-lyse 38° C	Direkte Aggluti- nation 4° C	Direkte Aggluti- nation 20° C	Direkte Aggluti- nation 38° C	Indirekte Aggluti- nation 4° C	Indirekte Aggluti- nation 20° C	Indirekte Aggluti- nation 38° C
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0
42	0	0	0	0	0	0	4	4	8
43	0	0	0	0	0	0	2	4	4
45	0	0	0	0	1	2	8	4	16
47	0	1	1	8	2	2	256	512	512
49	1	1	1	8	4	4	256	1024	1024
51	0	1	2	8	4	4	512	1024	512
52	2	2	2	4	4	8	512	1024	512
54	0	1	1	4	4	4	512	512	1024
56	1	1	2	8	4	4	512	512	256
58	1	1	2	2	4	4	512	512	512
60	1	2	2	4	4	8	256	512	512

<sup>\*)</sup> Die Angabe der Verdünnungsstufen entspricht dem Titer.

Tabelle 26: Einzeltierbefunde der mit Vollblut transfundierten Patienten (n=98) mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	1	2	3	4
Geschlecht	M	W	WK	M
Rasse	Saluki	Deutscher Schäferhund	Deutscher Schäferhund	Mischling
Alter (Jahre)	4,64	1,51	3,66	6,44
Anämiegruppe	1	1	1	1
Diagnose	AITP (ATA positiv)	Kumarinvergiftung	V.a. Kumarinvergiftung	DIC, Schock, ulzerative Gastritis
Anamnese	Meläna, Epistaxis, Hämatemesis	Apathie, Meläna, Epistaxis	Hämatom nach Trauma	Apathie, V.a. Hitzschlag oder Magendrehung
Klinische Befunde	Petechien, Hämatome	Schock, Dyspnoe, Hämatome, Fluktuation Abdomen	Apathie, Hämatom, Blutung aus Maul,	Schock, Petechien, Blutung aus OP-Wunde
Überlebenszeit	> 1,8 Jahre	> 1 Woche	> 2,0 Jahre	2 Tage
PCV (l/l)	0,472	0,113	0,196	0,375
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	18,14	13,98	23,38	10,6
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	7	62	73	38
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	5	6	7	8
Geschlecht	M	WK	M	M
Rasse	Mischling	Dackel	Labrador Retriever	Golden Retriever
Alter (Jahre)	0,64	12,62	8,27	8,21
Anämiegruppe	1	1	1	1
Diagnose	Kumarinvergiftung	Milzhämatom, Schock, Nebennieren- rindennekrose	Fibrosarkom Dünndarm	Malignes Hämangio- endothelium
Anamnese	Apathie, Husten, Blutung aus Nase und Maul	Apathie nach Trauma, Anorexie, PU/PD	Vomitus, Flatulenz, Meläna, Apathie, PU/PD	Rezidivierende Unterhaut- blutungen
Klinische Befunde	Stridor nasalis, Epistaxis, Herz und Lunge gedämpft	Apathie, Abdomen verspannt	Abdomen birnenförmig und verspannt, Splénomegalie	Ekchymosen, Hämatome, Abdomen birnen- förmig, Splénomegalie
Überlebenszeit	> 1,3 Jahre	2 Tage	> 1,5 Monate	1 Tag
PCV (l/l)	0.19	0,306	0,096	0,212
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	13,8	11,18	47,86	43,05
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	72	632	361	35
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	1	0	0
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	9	10	11	12
Geschlecht	M	M	M	WK
Rasse	Deutscher Schäferhund	Berner Sennenhund	Yorkshire Terrier	Deutscher Schäferhund
Alter (Jahre)	1,07	5,87	9,53	7,92
Anämiegruppe	1	1	1	1
Diagnose	DIC, Leukose	DIC, metaplastisches Lungenkarzinom	Lymphoplasma-zelluläre Gastroenteritis	AIHA, AITP, Magenulzera
Anamnese	Apathie, Anorexie, dunkler Urin	Blutung aus Penis und Konjunktiven, Husten	Vomitus, PU/PD,	Anorexie, PU/PD, Meläna, Fieber
Klinische Befunde	Ulkus Maulschleimhaut, Splenomegalie	Blutungen in Sklera, Konjunktiven und Unterhaut	Seitenlage, Petechien in Magenschleimhaut	Fieber, Magenulzera mit Gefäßarrosionen
Überlebenszeit	3 Tage	2 Tage	1 Monat	3 Tage
PCV (l/l)	0,1	0,463	0,061	0,132
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	57,4	29,24	20,77	17,54
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	117	31	730	18
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	2	0	2	1
Dir. Aggl. 20°	1	0	0	0
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	1	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	13	14	15	16
Geschlecht	W	M	W	M
Rasse	Cocker Spaniel	Pit Bull Terrier	Mischling	Landseer
Alter (Jahre)	4,33	0,61	0,29	9,32
Anämiegruppe	1	1	1	1
Diagnose	Thrombozytopenie unklarer Genese	V.a. Parvovirose	Parvovirose	DIC, Ganglionitis, Neuritis
Anamnese	Apathie, Inappetenz, roter Urin, Diarrhoe mit Blut	Apathie, Vomitus, Diarrhoe mit Blut, Anorexie	Vomitus von Blut, Diarrhoe	Schmerzen, Fieber, Anorexie, roter Urin
Klinische Befunde	Apathie, Abdomen verspannt	Verdickte Darmschlingen	Verdickte Darmschlingen	Schock, Husten Hepatomegalie, Pankreas- blutungen
Überlebenszeit	> 3 Monate	> 8 Tage	1 Tag	3 Tage
PCV (l/l)	0,166	0,43	0,496	0,351
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	21,3	2,9	1,09	24,9
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	97	484	220	73
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	1	0	0	0
Hämolyse 38°	1	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	17	18	19	20
Geschlecht	W	W	W	M
Rasse	Cocker Spaniel	Deutsch Drahthaar	Barsoi	Wolfspitz
Alter (Jahre)	8,31	7,99	12,1	8,79
Anämiegruppe	1	1	1	1
Diagnose	Thrombozytopenie unklarer Genese	Thrombozytopenie unklarer Genese, Mischsepsis, Pneumonie	Fibrosarkom Dünndarm, Fundus- und Duodenalulzera	AITP (ATA positiv)
Anamnese	Blutung aus Maul, Meläna	Vomitus von Blut, Krämpfe	Anorexie, Apathie	Blutung aus Maul, Unterhautblutung
Klinische Befunde	Zahnfachblutungen	Koma, Milzhämatom, Blutungen in Magen und Darm	Abmagerung, blasse Schleimhäute	Fieber, multiple Blutungen
Überlebenszeit	> 3,5 Jahre	1 Tag	6 Monate	> 11 Tage
PCV (l/l)	0,292	0,193	0,244	0,49
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	26,09	9,84	75,68	23,6
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	5	2	272	14
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	1	0	1
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	21	22	23	24
Geschlecht	W	WK	W	M
Rasse	Bluthund	Rottweiler	Mischling	Deutscher Schäferhund
Alter (Jahre)	6,21	9,23	0,31	3,6
Anämiegruppe	1	1	1	1
Diagnose	DIC, Sepsis	DIC, Lymphadenitis	Parvovirose	DIC, Trauma, Phlegmone
Anamnese	Meläna, Vomitus, Diarrhoe, PU/PD	Vomitus, OP wegen Pyometraverdacht	Diarrhoe, Vomitus, Inappetenz, Apathie	Lahmheit, Hämatom
Klinische Befunde	Untertemperatur, Ikterus, Abdomen birnenförmig, blutiger Kot	Schock, Abdomen verspannt	Fieber, verdickte Darmschlingen	Fieber, Hämatom, Petechien, Parese
Überlebenszeit	1 Tag	> 12 Tage	2 Tage	25 Tage
PCV (l/l)	0,36	0,19	0,43	0,224
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	21,93	28,18	0,92	22,19
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	30	173	293	104
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	1	0	0
Hämolyse 38°	0	2	0	0
Dir. Aggl. 4°	1	0	0	0
Dir. Aggl. 20°	0	1	0	0
Dir. Aggl. 38°	0	1	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	25	26	27	28
Geschlecht	W	M	WK	W
Rasse	Rottweiler	Mischling	Mischling	Mischling
Alter (Jahre)	0,64	7,29	10,33	10,19
Anämiegruppe	1	1	1	1
Diagnose	Parvovirose	Hämoperikard, Herzbasis- hämatom	Magentumor mit Perforation	Thrombozytopenie unklarer Genese, Mammatumoren
Anamnese	Vomitus, rötliche Diarrhoe, Fieber	Apathie, dicker Bauch, Tachypnoe	Vomitus und Diarrhoe mit frischem Blut	Fieber, Apathie, Hautblutungen
Klinische Befunde	Darm flüssigkeitsgefüllt	Herzgeräusch, blasse Schleimhäute	Apathie, Abdomen verspannt	Fieber, Tachykardie, Ekchymosen, Abdomen birnenförmig
Überlebenszeit	> 1 Woche	> 3,3 Jahre	4 Tage	2 Tage
PCV (l/l)	0,218	0,404	0,158	0,148
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	32,54	3,16	51,39	4,43
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	291	188	599	41
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	1	0	0
Hämolyse 38°	0	1	0	0
Dir. Aggl. 4°	1	1	0	0
Dir. Aggl. 20°	1	1	0	0
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	29	30	31	32
Geschlecht	WK	M	W	M
Rasse	Neufundländer	Mischling	Mischling	Magyar Vizsla
Alter (Jahre)	8,84	0,41	0,72	0,44
Anämiegruppe	1	1	1	1
Diagnose	Eitrig-erosive Ösophagitis, V.a. DIC	V.a. Parvovirose	Parvovirose	V.a. Parvovirose
Anamnese	Vomitus, V.a. paralytischer Ileus	Vomitus, Meläna, Anorexie	Vomitus, Diarrhoe	Blutige Diarrhoe, Vomitus, Inappetenz
Klinische Befunde	Fieber	Darmschlingen flüssigkeitsgefüllt	Darmschlingen fleischig, Abdomen verspannt	Fieber, Tachykardie
Überlebenszeit	11 Tage	> 2,4 Jahre	> 2,3 Jahre	> 2,9 Jahre
PCV (l/l)	0,296	0,337	0,531	0,55
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	22,83	0,81	0,59	1,13
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	153	140	74	310
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	1	0	0	0
Hämolyse 38°	2	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 20°	1	0	0	0
Dir. Aggl. 38°	1	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	33	34	35	36
Geschlecht	W	W	W	MK
Rasse	Mischling	Deutsch Kurzhaar	Berner Sennenhund	Mischling
Alter (Jahre)	0,45	8,04	6,73	0,57
Anämiegruppe	1	1	1	1
Diagnose	V.a. Parvovirose	Anaplastisches Mammakarzinom	Hämorrhagische Diathese unklarer Genese, V.a. Tumorse	Parvovirose
Anamnese	Vomitus, blutige Diarrhoe, Anorexie	Röcheln, Dyspnoe, Anorexie, PD	Apathie, PU/PD	Hematemesis, Meläna, Anorexie
Klinische Befunde	Abdomen verspannt, Darmschlingen fleischig	Lunge gedämpft, Tachykardie	Meläna, Ikterus, Tachykardie, Abdomen birnenförmig, Hepato-Splenomegalie	Lunge verschärft, Abdomen schmerzhaft
Überlebenszeit	> 2,8 Jahre	2 Tage	1 Woche	2 Tage
PCV (l/l)	0,42	0,21	0,182	0,475
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	3,1	41,1	17,49	0,19
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	334	112	102	23
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 20°	0	0	0	1
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	1
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	37	38	39	40
Geschlecht	W	W	M	WK
Rasse	Airedale Terrier	Leonberger	Labrador Retriever	Kleiner Münsterländer
Alter (Jahre)	8,22	7,93	0,28	10,75
Anämiegruppe	1	1	1	1
Diagnose	OP Herzschrittmacher, AV-Block II	Malignes Hämangio- endotheliom	Parvovirose	Milzruptur, Hämatom
Anamnese	Synkopen	Lahmheit, Blutung aus OP-Wunde	Meläna, Vomitus, Anorexie	Lahmheit, Dyspnoe
Klinische Befunde	Schwacher Puls, Tachykardie	Fieber, Schwäche, Tachykardie	Abdomen schmerzhaft, Darmschlingen verdickt	Tachykardie, Abdomen birnenförmig
Überlebenszeit	> 4 Monate	13 Tage	> 2,9 Jahre	2 Tage
PCV (l/l)	0,44	0,15	0,4	0,278
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	17,1	20,03	1,3	17,3
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	282	98	354	20
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	0	1	0
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	1	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	41	42	43	44
Geschlecht	W	MK	M	WK
Rasse	Mischling	Mischling	Golden Retriever	Zwergspitz
Alter (Jahre)	3,57	11,06	7,38	8,29
Anämiegruppe	1	1	1	1
Diagnose	Pneumonie, DIC, V.a. Leukose	Kumarinvergiftung	Epistaxis unklarer Genese	AITP
Anamnese	Apathie, Anorexie, PU/PD	Apathie, Anorexie	Epistaxis beidseits, PU/PD	Blutung in Haut
Klinische Befunde	Fieber, Ikterus, Tachykardie, Hepatomegalie, Blutung in Magen und Dünndarm	Schock, Hämaskos	Epistaxis, Splénomegalie, Erosionen der Nasenschleimhaut	Petechien, Ekchymosen, Leber schmerzhaft
Überlebenszeit	4 Tage	1,1 Jahr	1 Woche	> 1,3 Jahre
PCV (l/l)	0,101	0,262	0,193	0,329
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	16,87	31,87	4,75	23,27
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	27	195	158	15
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	1	0	0
Hämolyse 38°	0	1	0	0
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	2
Dir. Aggl. 20°	0	0	0	1
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	1
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	45	46	47	48
Geschlecht	M	W	W	MK
Rasse	Pit Bull Terrier	Jack Russell Terrier	Neufundländer	Mischling
Alter (Jahre)	0,41	2,94	3,35	8,05
Anämiegruppe	1	2	2	2
Diagnose	V.a. Parvovirose	AIHA	AIHA	AIHA
Anamnese	Vomitus, blutige Diarrhoe, Anorexie	Inappetenz, Apathie, roter Urin	Inappetenz, Apathie, Fieber	Apathie, Inappetenz, Fieber, Vomitus
Klinische Befunde	Tachykardie, Abdomen verspannt, Darmschlingen flüssigkeitsgefüllt	Blasse Schleimhäute	Fieber, Blasse Schleimhäute	Fieber, Hepato-Splenomegalie
Überlebenszeit	> 11 Tage	> 3,5 Jahre	> 2,5 Jahre	> 2,5 Jahre
PCV (l/l)	0,339	0,19	0,153	0,16
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	1,65	51,1	34,13	32,82
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	208	271	283	9
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	1
Hämolyse 38°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	0	2	1	0
Dir. Aggl. 20°	0	1	0	1
Dir. Aggl. 38°	0	1	0	1
Indir. Aggl. 4°	0	1	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	1	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	49	50	51	52
Geschlecht	W	W	W	M
Rasse	Beagle	Pit Bull Terrier	Bearded Collie	Mischling
Alter (Jahre)	1,12	4,97	4,0	1,46
Anämiegruppe	2	2	2	2
Diagnose	Ventrikelseptumdefekt	AIHA	AIHA	AIHA
Anamnese	Schläft viel, Herzgeräusch	Apathie, Inappetenz, Vomitus	Apathie	Anorexie, oranger Urin, Dyspnoe, Diarrhoe
Klinische Befunde	Herzgeräusch, Hämothorax	Blasse Schleimhäute, Tachykardie, Splenomegalie	Blasse Schleimhäute, Tachykardie	Ikterus, Tachykardie, Schock
Überlebenszeit	1 Tag	> 2,5 Jahre	> 3,2 Jahre	> 9 Tage
PCV (l/l)	0,308	0,11	0,13	0,1
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	7,19	9,01	13,7	43,6
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	256	150	74	123
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	1
Hämolyse 38°	0	0	1	1
Dir. Aggl. 4°	0	2	8	2
Dir. Aggl. 20°	0	2	8	2
Dir. Aggl. 38°	0	1	8	2
Indir. Aggl. 4°	0	1	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	53	54	55	56
Geschlecht	M	W	W	M
Rasse	American Cocker Spaniel	Deutsch Langhaar	Deutscher Schäferhund	Bluthund
Alter (Jahre)	4,27	8,31	1,13	5,71
Anämiegruppe	2	2	2	2
Diagnose	AIHA	Babesiose	Persistierender Ductus arteriosus, Sepsis	AIHA, Endo-, Myo- und Epikarditis
Anamnese	Inappetenz, Apathie, Vomitus, dunkelgelber Urin	Roter Urin, Fieber, Ikterus, Inappetenz	Herzgeräusch, Belastungsschwäche	Roter Urin, Fieber, Tachypnoe, Apathie
Klinische Befunde	Fieber, Ikterus, Tachykardie, Hepatomegalie	Fieber, Ikterus, Tachykardie	Maschinen- geräusch, Fieber	Ikterus, Tachykardie, Abdomen verspannt
Überlebenszeit	1 Tag	> 3,3 Jahre	2,3 Monate	6 Tage
PCV (l/l)	0,14	0,121	0,166	0,15
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	102,2	8,41	32,61	81,4
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	177	42	194	170
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	32	0	1	0
Dir. Aggl. 20°	32	0	1	0
Dir. Aggl. 38°	64	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	32	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	32	1	0	0
Indir. Aggl. 38°	64	2	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	57	58	59	60
Geschlecht	MK	WK	W	W
Rasse	Mischling	Mischling	Cocker Spaniel	Malteser
Alter (Jahre)	10,15	1,4	3,89	0,68
Anämiegruppe	2	2	2	2
Diagnose	Corynebacterium ureolyticum-Sepsis	Persistierender Ductus arteriosus	AIHA	AIHA, DIC, Sepsis
Anamnese	Gelber Kot, brauner Urin, Oligurie, Anorexie	Herzgeräusch	Anorexie, Apathie	Vomitus, Anorexie
Klinische Befunde	Ikterus, Tachykardie, Abdomen angespannt	Maschinen-geräusch, roter Urin	Fieber, Ikterus, Tachykardie, Tachypnoe	Tachykardie
Überlebenszeit	2 Tage	10 Tage	> 2,5 Jahre	20 Tage
PCV (l/l)	0,113	0,275	0,214	0,093
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	70,58	13,97	29,12	15,2
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	172	118	162	95
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	0	1	0
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	2
Dir. Aggl. 20°	0	0	1	1
Dir. Aggl. 38°	0	0	1	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	2
Indir. Aggl. 20°	1	0	0	2
Indir. Aggl. 38°	1	0	0	1

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	61	62	63	64
Geschlecht	W	W	W	WK
Rasse	Husky	Cocker Spaniel	Irish Setter	Mischling
Alter (Jahre)	4,47	2,17	6,75	3,86
Anämiegruppe	2	2	2	2
Diagnose	Vaskulitis	AIHA	AIHA, ulzerative Gastritis, Vaskulitis	AIHA
Anamnese	Vomitus, Apathie, roter Urin	Roter Urin, Inappetenz	Vomitus, Apathie, Oligurie	Apathie, Anorexie, Vomitus, Anurie
Klinische Befunde	Ikterus, Miosis, Abdomen schmerzhaft	Tachykardie, vergrößerte Lymphknoten	Ikterus, Tachykardie, Abdomen verspannt	Fieber, Ikterus, vergrößerte Lymphknoten, Abdomen verspannt
Überlebenszeit	2 Tage	> 1 Monat	4 Tage	3 Tage
PCV (l/l)	0,311	0,14	0,08	0,12
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	38,36	55,4	89,2	55
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	26	128	104	46
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	0	1	0	0
Dir. Aggl. 20°	0	1	0	0
Dir. Aggl. 38°	0	1	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	1	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	1	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	65	66	67	68
Geschlecht	W	M	M	M
Rasse	Zwergpinscher	Mittelschnauzer	Mischling	Pit Bull Terrier
Alter (Jahre)	7,54	5,55	5,23	6,54
Anämiegruppe	2	2	2	2
Diagnose	AIHA, Thrombozytopenie unklarer Genese, Sepsis	AIHA, Sepsis	Hämolyse unklarer Genese	AIHA
Anamnese	Anorexie, Oligurie, Vomitus, Apathie	Fieber, Vomitus, Inappetenz, roter Urin	Roter Urin, Vomitus	Apathie, PD, Inappetenz
Klinische Befunde	Ikterus, Hepato- Splenomegalie, Mammatumoren	Fieber, Abdomen verspannt, Tachykardie	Fieber, Ikterus, Lunge verschärft	Schwäche, Abdomen verspannt
Überlebenszeit	2 Wochen	17 Tage	> 1,1 Jahr	> 3 Jahre
PCV (l/l)	0,113	0,17	0,143	0,105
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	27,57	29,3	52,37	40,42
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	29	73	86	213
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	1	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	1	0	0	2
Dir. Aggl. 20°	0	1	0	4
Dir. Aggl. 38°	0	1	0	1
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	2
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	4
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	1

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	69	70	71	72
Geschlecht	M	M	M	M
Rasse	Deutscher Schäferhund	Riesenschnauzer	Deutscher Schäferhund	Mischling
Alter (Jahre)	3,39	6,59	2,56	10,76
Anämiegruppe	2	2	2	2
Diagnose	AIHA	AIHA	AIHA	Hämolyse unklarer Genese
Anamnese	Apathie, Anorexie	Fieber, Apathie, Dyspnoe, roter Urin	Apathie, Inappetenz	Vomitus, Diarrhoe, Apathie
Klinische Befunde	Fieber, Tachykardie, Lunge verschärft	Fieber, Ikterus, Tachykardie, Tachypnoe, Husten	Fieber, Splenomegalie	Abdomen verspannt, Splenomegalie
Überlebenszeit	> 2,8 Jahre	4 Tage	> 2,9 Jahre	2,2 Jahre
PCV (l/l)	0,133	0,15	0,124	0,21
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	26,21	14,32	34,18	24,8
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	150	82	136	232
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	0	0	1
Dir. Aggl. 4°	2	0	4	0
Dir. Aggl. 20°	2	0	4	0
Dir. Aggl. 38°	2	0	4	0
Indir. Aggl. 4°	2	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	2	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	2	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	73	74	75	76
Geschlecht	W	W	WK	W
Rasse	Mischling	Dackel	Collie	Dackel
Alter (Jahre)	7,95	2,64	9,92	1,4
Anämiegruppe	2	2	2	2
Diagnose	Babesiose	AIHA	V.a. AIHA	AIHA
Anamnese	Schwäche, Inappetenz, Oligurie	Inappetenz, Apathie, PD, Vomitus	Anorexie, dunkler Urin, Fieber	Vomitus, Diarrhoe, Fieber
Klinische Befunde	Ikterus, Splenomegalie	Tachykardie, Splenomegalie, Ikterus	Fieber, Ikterus, Tachykardie, Abdomen verspannt	Abdomen verspannt
Überlebenszeit	> 2,5 Jahre	1,3 Jahre	3 Tage	1,7 Jahre
PCV (l/l)	0,081	0,098	0,066	0,079
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	27,6	33,5	24,92	6,88
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	250	148	350	681
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	1	1	0	0
Dir. Aggl. 4°	1	0	0	1
Dir. Aggl. 20°	1	0	0	0
Dir. Aggl. 38°	4	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	1	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	1	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	77	78	79	80
Geschlecht	M	W	M	M
Rasse	Bobtail	Malteser	Berner Sennenhund	Bull Terrier
Alter (Jahre)	9,51	5,18	5,85	9,91
Anämiegruppe	3	3	3	3
Diagnose	Tumorose	Diabetes mellitus	Lymphatische Leukose	V.a. Tumorose
Anamnese	Knoten in Leiste, Apathie, Inappetenz, Diarrhoe	Inappetenz, PD/PU, Dyspnoe	Apathie, Inappetenz, Gewichtsverlust	Apathie, Inappetenz
Klinische Befunde	Tachykardie, Abdomen fluktuierend	Schock, Tachykardie, Tachypnoe	Tachykardie, Zubildung im Abdomen	Ikterus, Hepato-Splenomegalie, Hoden vergrößert
Überlebenszeit	2 Tage	> 19 Tage	> 5 Tage	1 Woche
PCV (l/l)	0,248	0,2	0,103	0,15
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	15,38	13,7	25,71	13,1
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	138	249	79	101
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	1	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 20°	0	0	0	1
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	81	82	83	84
Geschlecht	M	M	W	M
Rasse	American Cocker Spaniel	Labrador Retriever	Wachtel	Riesenschnauzer
Alter (Jahre)	2,02	0,61	1,14	8,5
Anämiegruppe	3	3	3	3
Diagnose	Extrahepatischer venöser Shunt	Intrahepatischer venöser Shunt	Knochenmarkhypoplasie unklarer Genese	Knochenmarkhypoplasie, Steroidhepatopathie
Anamnese	ZNS-Störungen, PU, Blasenstein	ZNS-Störungen, Vomitus	Inappetenz, Leistungsabfall	PU/PD, Vomitus, Anorexie, Fieber
Klinische Befunde	Blasse Schleimhäute, Unruhe	Kleine Leber	Fieber, Tachykardie	Tachykardie, blasse Schleimhäute
Überlebenszeit	9 Tage	1 Tag	> 2,5 Jahre	17 Tage
PCV (l/l)	0,258	0,299	0,12	0,081
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	9,64	22,34	44,7	10,82
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	98	395	200	167
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	1
Dir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	1
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	2
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	8
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	4

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	85	86	87	88
Geschlecht	W	M	M	W
Rasse	Mischling	Deutscher Jagdterrier	Pudel	Deutsche Dogge
Alter (Jahre)	5,34	7,51	2,8	7,49
Anämiegruppe	3	3	3	3
Diagnose	V.a. Tumorose	Sertolizelltumor, Kryptorchide	B-Zell-Leukose	Mammatumor, Trächtigkeit
Anamnese	Anorexie, Fieber, Dyspnoe, PU/PD	Inappetenz, Apathie, Blutung aus Maul	Husten, Fieber, Apathie, Inappetenz	Vomitus, Inappetenz
Klinische Befunde	Fieber, Tachykardie, Abdomen schmerzhaft	Schock, vergrößerte Lymphknoten, Zubildung im Abdomen	Fieber, Ikterus, Tachykardie, Abdomen schmerzhaft	Tachykardie, Tachypnoe, Husten, Abdomen verspannt
Überlebenszeit	4 Tage	6 Tage	3 Tage	1 Jahr
PCV (l/l)	0,075	0,079	0,207	0,199
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	7,53	1,15	1,93	14,88
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	467	7	10	486
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	1
Dir. Aggl. 20°	0	0	0	1
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	89	90	91	92
Geschlecht	M	M	W	W
Rasse	Deutscher Schäferhund	Mischling	Mischling	Mischling
Alter (Jahre)	4,75	3,78	3,66	7,9
Anämiegruppe	3	3	3	3
Diagnose	V.a. Leukose	Hepatitis, V.a. Leberfibrose	Knochenmarkhypoplasie, Pneumonie	Mammakarzinom, Pankreatitis
Anamnese	Vomitus, Diarrhoe, Fieber, PU/PD	Schwäche, PD,	Fieber, Anorexie, Vomitus	Vomitus, Fieber, blutige Diarrhoe
Klinische Befunde	Fieber, Ikterus, Tachykardie	Blasse Schleimhäute	Fieber, Hautknoten, vergrößerte Lymphknoten	Mammatumoren, Ekchymosen, Abdomenschmerzhaft
Überlebenszeit	3 Tage	5 Tage	11 Tage	2 Tage
PCV (l/l)	0,116	0,063	0,34	0,137
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	23,76	11,93	0,7	49,92
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	33	49	14	31
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	93	94	95	96
Geschlecht	M	WK	WK	W
Rasse	Entlebucher	Rottweiler	Mischling	Cocker Spaniel
Alter (Jahre)	6,12	7,95	12,84	10,85
Anämiegruppe	3	3	3	3
Diagnose	Systemische Amyloidose, dekompensierte Niereninsuffizienz	B-Zell-Leukose	Morbus Cushing, Thrombosen	Hepatopathie unklarer Genese
Anamnese	Apathie	Inappetenz, Apathie	Anfälle, Vomitus	Apathie
Klinische Befunde	Gingivitis	Vergrößerte Lymphknoten, Tachykardie, Splenomegalie	Alopezie, Hautatrophie	Tachykardie, Hepatomegalie
Überlebenszeit	4 Tage	16 Tage	4 Monate	1,5 Jahre
PCV (l/l)	0,193	0,161	0,322	0,27
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	2,1	1,85	16,15	25,81
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	49	93	284	424
Hämolyse 4°	0	0	0	0
Hämolyse 20°	0	0	0	0
Hämolyse 38°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Dir. Aggl. 38°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0	0	0

Fortsetzung Tabelle 26: Einzeltierbefunde mit Antikörpertiter

Patient-Nr.	97	98
Geschlecht	M	W
Rasse	Mischling	Berner Sennenhund
Alter (Jahre)	0,2	7,09
Anämiegruppe	3	3
Diagnose	Invagination, V.a. Protozoeninfektion	Maligne Histiozytose
Anamnese	Fieber, Apathie	Anorexie, PU/PD, Fieber, Husten
Klinische Befunde	Fieber, Lymphknoten vergrößert, Hepatomegalie	Fieber, Ikterus, Tachykardie, Splenomegalie, Mammatumor
Überlebenszeit	17 Tage	4 Tage
PCV (l/l)	0,143	0,207
WBC (10 <sup>9</sup> /l)	8,79	9,77
PLT (10 <sup>9</sup> /l)	37	12
Hämolyse 4°	0	0
Hämolyse 20°	0	0
Hämolyse 38°	0	0
Dir. Aggl. 4°	1	0
Dir. Aggl. 20°	1	0
Dir. Aggl. 38°	0	0
Indir. Aggl. 4°	0	0
Indir. Aggl. 20°	0	0
Indir. Aggl. 38°	0	0

## DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Herrn Prof. Dr. E.-G. Grünbaum danke ich für die Überlassung des interessanten Themas, die stete Unterstützung und die wertvollen Ratschläge bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn HDoz. Dr. A. Moritz für die Anregungen während dieser Studie, sein großes Interesse an deren Verlauf, die gute Zusammenarbeit, seine wertvolle fachliche Unterstützung und Beratung sowie fortwährende Hilfsbereitschaft bei der Lösung von Problemen.

Weiterhin möchte ich mich ganz besonders bei Frau I. Klein, Frau H. Schulte und Frau U. Weiß bedanken für ihre Freundlichkeit und unermüdliche Bereitschaft, die zahlreichen Blut- und Urinproben zu untersuchen.

In gleicher Weise gilt mein Dank allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der MVK I für die kollegiale und freundschaftliche Zusammenarbeit. In ganz besonderer Weise gilt das für den freundschaftlichen Beistand von Herrn Dr. M. Schneider, Frau Dr. A. Helmke und Herrn Dr. T. Spillmann.

Herrn Dr. K. Failing danke ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung und Herrn H. Heiter für die geduldige Aufbereitung der Daten.

Zusätzlich möchte ich Herrn R. Schwinge und Frau C. Schoemperlen für die hilfreichen Vorarbeiten meinen Dank aussprechen, ebenso Frau Dr. N. Prehn und Mrs. A. Hale, DVM, für deren Hilfe bei der Blutgruppentypisierung und Herrn DDr. U. Hetzel für die Unterstützung bei der Anfertigung der raster-elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Abschließend geht mein größter Dank an meine Familie und Christiane.